

Mein Weg zu den neuen Harnstoff-Einschluß-Verbindungen

Von Dr. M. F. BENGEN, Dir. a. D. der Staatlichen Chemischen Untersuchungsanstalt Frankfurt/M.

Beobachtungen bei der Entwicklung eines Nachweises der Dauererhitzung von Milch führten zur Erkenntnis, daß Harnstoff mit unverzweigten Kohlenwasserstoffen Additionsverbindungen zu bilden vermag, jedoch nicht mit verzweigten Kohlenwasserstoffen.

Schönbein an Liebig:

„Ich halte dafür, es sei für die Geschichte der Wissenschaft wünschenswert, daß der Entdecker neuer Tatsachen von nur einiger Tragweite seinen Fachgenossen den Weg bezeichne, auf welchem er seine Ergebnisse erhalten hat.“

Diese Worte Schönbeins regen mich an, in allen Einzelheiten zu schildern, wie es mir gelang, einer neuen Art von chemischen Verbindungen auf die Spur zu kommen, die unseren bisherigen Vorstellungen widerspricht und die an die Grundfragen der Chemie und Physik der zwischenmolekularen Kräfte und der Kristallstruktur führt. Es geschah das, indem sich im Laufe langerer Zeit ein glücklicher Zufall an den anderen reihte, und der Weg nahm seinen Anfang in einem ganz fernab liegenden Gebiete, nämlich dem der Chemie der Milch.

Als ich 1930 die Leitung der Staatlichen Chemischen Untersuchungsanstalt in Frankfurt am Main bekommen hatte, trat bald darauf das neue Milchgesetz in Kraft, wonach Milch, bis auf geringe Ausnahmen, nur in pasteurisiertem Zustand in den Handel kommen darf. Es gibt einmal die sog. Hoch- oder Kurzzeit-Erhitzung, die leicht nachzuweisen ist. Beim zweiten Verfahren wird die Milch in großen Wannen 30 min auf 65 Grad erhitzt. Ob und welche Veränderungen bei diesem immerhin doch nur milden Eingriff vor sich gehen, war damals nicht bekannt. Der Nachweis dieser sog. Dauererhitzung wurde eine schwierige Frage für den Lebensmittelchemiker.

Mir kam der Gedanke, ob sich nicht in der Milch etwa besonders wärmeempfindliche (thermolabile) Eiweißstoffe vorfinden möchten, die bei 65 Grad bereits gerinnen. Durch Zusatz der verschiedensten Chemikalien versuchte ich möglichst schonend aus der Milch ein Serum abzuscheiden, in dem sie nicht mehr enthalten waren, wenn die Milch auf 65 Grad erhitzt worden war, sie also geronnen waren, während sie im Serum der rohen unerhitzten Milch noch nachzuweisen sein müßten. Unter den zahlreichen Chemikalien, die ich der Milch zusetzte, hat sich als brauchbar das Ammoniumsulfat erwiesen. Das damit in einer ganz bestimmten Konzentration hergestellte Serum trübt sich beim Erhitzen auf 70 Grad, wenn die Milch noch nicht erhitzt war, weil sich dann die thermolabilen Eiweißstoffe geronnen abscheiden; bei erhitzter Milch dagegen bleibt es klar. Dieses Ammoniumsulfat-Serum hat sich seitdem allgemein eingebürgert.

Nun machte ich bei der Prüfung der verschiedenartigsten Chemikalien, darunter auch Tonerdebrei und kolloidalem Eisenhydroxyd, die auffallende Beobachtung, daß bei Zusatz von Harnstoff zur Milch sich kein Serum abschied. Vielmehr ging das ganze Kasein der Milch in Lösung und die Milch verwandelte sich in eine trübe gelbliche Flüssigkeit. Diese eiweißlösende Eigenschaft des Harnstoffs war damals neu, wird aber neuerdings in der Medizin zur Lösung des Eiters bei eiternden Wunden, ja sogar als Mittel zum Reinigen der Zähne angewandt. Da sich nun auf der durch Harnstoff gelösten Milch bei einem Stehen das Fett oben abschied, kam mir der Gedanke, daraus ein Verfahren zur quantitativen Fettbestimmung zu entwickeln. Die bisher bei dem allgemein üblichen Gerberschen Verfahren verwendete konzentrierte Schwefelsäure, die doch immerhin lästig ist, wäre so vielleicht zu ersetzen. In der Tat gelang es, ein solches Verfahren fast bis zur Brauchbarkeit auszuarbeiten. Es hatte nur den einen Nachteil, mit dessen Beseitigung es stand und fiel: Zwischen der gelösten Milch und dem im kalibrierten Ansatzrohr abgeschiedenen Fett zeigte sich eine etwa 2 mm breite weiße Schicht, die jede scharfe Ablesung unmöglich machte. Ich hielt diese Schicht für eine Emulsion. Da ich zufällig gelesen hatte, daß man in USA zur Beseitigung von Emulsionen mit Vor-

teil Octanol (Octylalkohol) benutze, setzte ich meiner Lösung etwas davon zu. Der Erfolg blieb aus, denn wie sich später herausstellte, war es keine Emulsion, sondern amorphes Calciumphosphat.

Aber hierbei kamen erstmals in der Geschichte der Chemie Harnstoff und Octanol zusammen: Zu meiner Verwunderung beobachtete ich, daß sich an der Trennungsschicht winzige kleine Kristalle abschieden. Ein Gegenversuch mit Octanol und reiner gesättigter wässriger Harnstoff-Lösung ließ überraschenderweise erkennen, daß sich die Kristalle auch hier in erheblicher Menge bildeten. Eine Stickstoffbestimmung ergab, daß eine Verbindung von Harnstoff und Octanol vorliegen mußte, deren Entstehung rätselhaft war.

Ein weiterer glücklicher Zufall gab mir das schöne Werk von Pfeiffer über die Molekельverbindungen in die Hände, in dem eine große Anzahl Verbindungen von, wie mir schien, ähnlicher Bauart beschrieben waren. Bei ihnen besteht vielfach ein Verhältnis von 1 zu 6 Molekülen Harnstoff. Da sich aus dem Stickstoff-Gehalt meiner Kristalle ein ähnliches Verhältnis berechnete, glaubte ich zunächst eine weitere solche Molekельverbindung vor mir zu haben.

Allmählich aber erwachte doch meine Neugierde wieder, und ich untersuchte auch andere, dem Octanol nahestehende Verbindungen, die mir durch die Freundlichkeit von Herrn Prof. K. Täufel, damals in Karlsruhe, jetzt in Potsdam-Rehbrücke, zugänglich waren (seltene höhere Alkohole, Aldehyde, Ketone, Säuren und Ester). Alle diese Verbindungen gaben in gleicher Weise wie der Octylalkohol mit Harnstoff augenblicklich kristallisierte Verbindungen. So stellte ich anfangs Harnstoff-Verbindungen her von:

| | |
|--------------------------|--------------------|
| Octanol, primär und sek. | Capronsäure |
| Cetylalkohol | Caprylsäure |
| n-Decylalkohol | Undecylensäure |
| | Ölsäure |
| Heptylaldehyd | Palmitinsäure |
| Nonylaldehyd | Stearinsäure |
| Deeylaldehyd | Pelargonsäureester |
| Undecylaldehyd | Oenantheester |

Es fällt sofort auf, daß diese Verbindungen eine gerade, nicht verzweigte Kohlenstoffkette von mehr als sechs Kohlenstoffatomen besitzen. Das tritt klar bei einem Vergleich von Buttersäure mit 4 C-Atomen und von Capronsäure mit 6 C-Atomen hervor: Beide Säuren geben zwar mit Harnstoff Verbindungen, aber während sich der buttersaure Harnstoff beim Verdünnen mit Wasser klar auflöst, zersetzt sich die Capronsäure-Harnstoff-Verbindung mit Wasser und gibt die Capronsäure in unverändertem Zustand wieder frei.

Diese Verbindungen entstehen spielend leicht, kristallisieren ausgezeichnet und haben das gemeinsam, daß sie sich, sobald man die Konzentration des Harnstoffs durch Zusatz von Wasser oder anderen Harnstoff-Lösern vermindert, augenblicklich wieder trennen, wobei der Harnstoff in Lösung geht, während die Komponente sich unverändert wieder abscheidet.

Da ich von den hohermolekularen Substanzen nur geringe Mengen zur Verfügung hatte, mußte ich sparsam damit umgehen, und ich habe deshalb die Versuche häufig, soweit die Stoffe flüssig waren, nur mit einem Tropfen auf einem hohlgeschliffenen Objektträger unter dem Mikroskop gemacht. Das führte zu sehr reizvollen Beobachtungen. Schob man z. B. in einen Tropfen Octanol einige kleine Kristallchen Harnstoff von der Seite hinein, so sah man schon nach wenigen Minuten an den verhältnismäßig derben Harnstoff-Kristallen lange feine Nadeln anschließen. Bald waren die Harnstoff-Kristalle mit unzähligen Nadelchen bewachsen, so daß sie den Anblick boten, wie ein mit Eisenfeilspänen bewachsener Magnetstab. So erkannte ich auch,

paß flüssige Stoffe auch mit trockenem Harnstoff ohne Lösungsmittel sich verbinden. Nicht minder reizvoll ist es auch, in einem Reagensglas eine konzentrierte wäßrige oder alkoholische Harnstoff-Lösung mit einigen Tropfen Octanol zu überschichten und zu beobachten, wie augenblicklich an der Berührungsfläche lange feine Nadeln des Additionsproduktes anschließen. Diese Versuchsanstellung brachte mich auf den Gedanken, die Überschichtung auch mit Kohlenwasserstoffen zu versuchen, wie Testbenzin, Petroleum, Paraffin, liquid, und dergleichen. Die Verbindung mit Paraffin kristallisiert in kleinen, sehr derben Nadeln, bei denen sich die zersetzenende Wirkung des Wassers besonders gut beobachten läßt. Bringt man unter dem Mikroskop einige Kristallchen in einen Tropfen Wasser, so sieht man, wie sie förmlich explodieren, so daß im Nu das ganze Gesichtsfeld von unzähligen winzigsten Fettröpfchen übersät ist.

Aber die Überraschungen gingen noch weiter. Bisher hatte ich nur Verbindungen mit einer geraden unverzweigten Kohlenstoffkette untersucht. Bei den Versuchen mit Testbenzin tauchte plötzlich der Gedanke auf, wie sich wohl Kohlenwasserstoffe mit einer oder mehreren Seitenketten verhalten würden. Dabei ergab sich ein grundlegender Unterschied. Es zeigte sich, daß reines iso-Octan mit Harnstoff überhaupt nicht reagiert. Dies verschiedene Verhalten schien mir für eine Trennung der beiden Arten von Kohlenwasserstoffen von Bedeutung zu sein,

doch überstieg die weitere Erforschung dieser auffallenden Erscheinung die Kräfte eines Einzelnen, zumal das meinem eigentlichen Arbeitsgebiet, der Lebensmittelchemie, fern lag.

Ich gewann für meine Patentanmeldung das Interesse von *Matthias Pier*, einem der bedeutendsten Forscher der Kohlenwasserstoffchemie. Infolgedessen übernahm die zur damaligen I.G.-Farbenindustrie gehörige Badische Anilin- & Soda-Fabrik die weitere Bearbeitung. Im Ammoniaklaboratorium dieses Werkes übernahm Dr. *Wilhelm Schlenk jr.*, unterstützt von den reichen Mitteln und Erfahrungen dieses Werkes, die weitere Arbeit. In fast zehnjähriger Forschung hat er dieses anfangs so rätselhafte Gebiet nach allen Richtungen hin durchgearbeitet und seine Ergebnisse in einigen umfassenden grundlegenden Arbeiten¹⁾ veröffentlicht. Eine kurze Ankündigung wurde von ihm und mir gemeinsam in der schweizerischen Zeitschrift „*Experientia*²⁾“ gebracht. Kristallstrukturuntersuchungen an den neuen Verbindungen nahm *C. Hermann* vor.

Aus diesen Darlegungen ersieht man, wie aus Beobachtungen auf einem ganz abseitigen Gebiete durch Glück und planmäßige Verfolgung schließlich ganz allgemeinwichtige Ergebnisse für die organische Chemie sich ergeben können.

Ein eing. am 27. November 1950 [A 335]

¹⁾ Liebigs Ann. Chem. 565, 204–240 [1949]; vgl. auch diese Ztschr. 62, 299 [1950]; ²⁾ *W. Schlenk jr.*, „Die neuen Harnstoff-Additionsverbindungen“.

²⁾ *Experientia* 5, 200 [1949].

Über die UltraviolettabSORPTION DER PROTEINE

Von Dr. H. DANNENBERG, Tübingen*). Aus dem Max-Planck-Institut für Biochemie, Tübingen

Ausgehend von der UV-Absorption der einzelnen Aminosäuren werden die Spektren der Proteine, Nukleinsäuren und Nukleoproteide beschrieben und die entspr. Analysenmöglichkeiten von Aminosäuren und -Gemischen gezeigt. Der zweite Teil der Arbeit behandelt die Wirkung der UV-Strahlung auf Aminosäuren und Proteine unter bes. Berücksichtigung der Denaturierung.

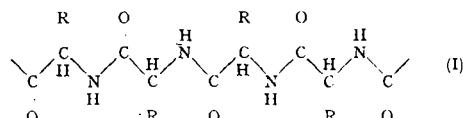
Einleitung

1909 fand erstmalig *Dhérel*¹⁾, daß Proteine ultraviolettes Licht absorbieren und daß das Spektrum von Proteinen im wesentlich durch eine Bande mit einem Maximum bei 280 m μ ausgezeichnet ist.

Eine Analyse von Absorptionsspektren wird stets von der Frage auszugehen haben: Worauf ist die Absorption zurückzuführen? Man weiß, daß Absorption im UV oder im Sichtbaren immer dann auftritt, wenn in einer Moleköl chromophore Gruppen vorhanden sind. Chromophore Gruppen sind gekennzeichnet durch π -Elektronen oder einsame Elektronenpaare. Die isolierten chromophoren Systeme verursachen eine Absorption im kurzwelligen Teil des UV unterhalb 220 m μ , die bei den meisten Untersuchungen nicht erfaßt wird. Die Vereinigung von zwei oder mehr chromophoren Gruppen führt zur Wechselwirkung der einzelnen Systeme. Die Anregungsenergie eines derartig „konjugierten“ Systems ist kleiner als die Anregungsenergie der isolierten chromophoren Gruppen, d. h. die Absorption des konjugierten Systems ist nach Rot verschoben. Derartig konjugierte Systeme können in langer Kette vorliegen wie z. B. bei den Polyenen, oder sie können in Ringsystemen auftreten, z. B. Benzol, Indol, Pyrimidin und Purin.

UV-Absorption der Aminosäuren

Wenn man das Absorptionsspektrum der Proteine deuten will, wird man zuerst überlegen müssen, auf welche chromophoren Gruppen oder Systeme die Absorption zurückzuführen ist. Eiweiß ist aufgebaut aus Aminosäuren, die peptidartig zu langen Ketten verknüpft sind (I). Die Vielzahl der Eiweißverbindungen ist bedingt durch die Art und Reihenfolge der Aminosäuren in den

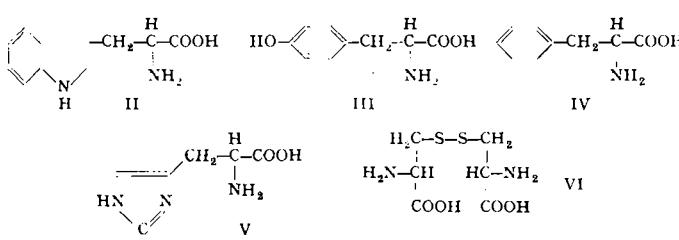


Polypeptidketten einerseits und durch die Knäuelung oder Faltung der Peptidketten andererseits. Die Polypeptidkette als solche sollte oberhalb 240 m μ keine Absorption aufweisen, da alle $-\text{CO}-\text{NH}$ -Gruppen (Peptidbindungen) durch CH_2 -Gruppen

* Nach einem Vortrag auf d. biophysik. Arbeitstagung Mosbach, am 20. Oktober 1949, mit Ergänzungen bei der Niederschrift.

¹⁾ Recherches spectrograph. Thèses de Fribourg 1909.

getrennt, also isoliert sind. Die Absorption der Peptidbindung entspricht etwa derjenigen des Acetamids, dessen Absorption durch eine steil ansteigende Bande unterhalb 220 m μ ausgezeichnet ist²⁾. Die Messungen an Peptiden bestätigen dieses^{3), 4, 5)}. Die Absorptionsbande des Dipeptids Glycyl-d,L-leucin (Absorption unterhalb 230 m μ) ist gegenüber derjenigen der Komponenten Glycin und Leucin zwar etwas nach Rot verschoben, zeigt aber keine neuen Banden^{6, 7)}. Die Absorption, die Proteine oberhalb 240 m μ zeigen, kann daher nur von den Resten R (I) der Aminosäuren herrühren. Untersucht man diese nun auf chromophore Systeme, so bleiben nur fünf Aminosäuren übrig, die oberhalb 240 m μ eine selektive Absorption aufweisen: Tryptophan (II)^{8–16)}, Tyrosin (III)^{3, 4, 8, 8a, 9, 9a, 11–15)}, Phenyl-



²⁾ H. Ley u. B. Arends, Z. physik. Chem. (B) 17, 177 [1932].

³⁾ P. A. Kober, J. biol. Chemistry 22, 433 [1915].

⁴⁾ Y. Shibata u. T. Asahina, Bull. chem. Soc. Japan 2, 324 [1928].

⁵⁾ M. A. Magill, R. E. Steiger u. A. J. Allen, Biochemic. J. 31, 188 [1937].

⁶⁾ E. Abderhalden u. R. Haas, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 155, 195 [1926]; 166, 78 [1927].

⁷⁾ Die Angaben von G. A. Anslow u. S. C. Nassar (J. opt. Soc. Amer. 31, 118 [1941] sowie H. Mohler (Das Absorptionsspektrum der chemischen Bindung, Jena, Gustav Fischer, 1943, Seite 68) bezüglich einer Eigenabsorption der Peptidbindung im Gebiet von etwa 280 m μ konnten bisher noch nicht bestätigt werden. Vgl. E. Schauenstein, J. O. Fixl u. O. Kratky, Mh. Chemie 80, 143 [1949].

⁸⁾ F. W. Ward, Biochemic. J. 17, 891 [1923].

⁹⁾ T. W. Goodwin u. R. A. Morton, ebenda 40, 628 [1946].

¹⁰⁾ W. Stenström u. M. Reinhard, J. biol. Chemistry 66, 819 [1925].

¹¹⁾ J. W. Sizer u. A. C. Peacock, ebenda 171, 769 [1947].

¹²⁾ F. C. Smith, Proc. Roy. Soc. London Ser. B 104, 198 [1929].

¹³⁾ J. Gröb u. M. Hanák, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 190, 169 [1930].

¹⁴⁾ W. F. Roß, J. biol. Chemistry 104, 531 [1934].

¹⁵⁾ S. Becker, Strahlentherapie 52, 531 [1935].

¹⁶⁾ C. B. Coulter, F. M. Stone u. E. A. Kabat, J. gen. Physiol. 19, 739 [1936].

¹⁷⁾ K. Feraud, M. S. Dunn u. J. Kaplan, J. biol. Chemistry 112, 323 [1935]; 114, 665 [1936].

¹⁸⁾ E. R. Holiday, Biochemic. J. 30, 1793 [1936].