

# Assoziation in Lösungen: viskosimetrische Untersuchung von Polypeptidlösungen in apolaren Lösungsmitteln\*.

Von

H. Tompa\*\*.

Courtaulds Limited, Research Laboratory, Maidenhead, Berks, England.

Mit 10 Abbildungen.

(Eingelangt am 12. April 1955.)

Die ungewöhnlich große Viskosität der Lösungen von Polypeptiden in Toluol, einem typischen apolaren Lösungsmittel, wird untersucht und auf Endassoziation der Moleküle zurückgeführt. Die Assoziation wird durch den Zusatz von starken Basen und Säuren zum größten Teil gelöst, dagegen von anderen polaren Zusatzmitteln schwach sauren oder basischen Charakters nur in geringerem Maße. Eine quantitative, auf eine Anzahl klar ausgesprochener Annahmen geprägte Behandlung wird gegeben und auf die experimentellen Daten angewendet; daraus werden angenäherte Werte der Assoziationskonstanten und der Molgewichte des Polypeptids berechnet. Die Natur der Assoziation wird diskutiert.

## 1. Einleitung.

Mehrfach wurde bereits beobachtet, daß die Viskosität von Polypeptidlösungen in apolaren Lösungsmitteln durch den Zusatz von gewissen polaren Substanzen bedeutend herabgesetzt wird. So z. B. wurde beobachtet<sup>1</sup>, daß der Zusatz von 2% Ameisensäure zu einer Lösung eines Leucin-Phenylalanin-Kopolymeren deren Viskosität beinahe auf  $\frac{1}{200}$  herabsetzt, und Breitenbach und Richter haben berichtet<sup>2</sup>, daß die Vis-

\* Seinem alten Lehrer, Herrn Prof. E. Abel, zu seinem 80. Geburtstag in Verehrung gewidmet.

\*\* Gegenwärtige Adresse: European Research Associates, S. A., 95 rue Gatti de Gamond, Brüssel.

<sup>1</sup> O. H. Bamford, W. E. Hanby und F. Happéy, Proc. Roy. Soc. London, Ser. A **206**, 407 (1951).

<sup>2</sup> J. W. Breitenbach und F. Richter, Makromol. Chem. **4**, 262 (1950).

kosität von Lösungen von Polyphenylalanin in Toluol durch den Zusatz von Alkoholen stark erniedrigt wird. Im Zuge einer kinetischen Untersuchung<sup>3</sup> an Lösungen von Polymeren und Kopolymeren von Asparaginsäuremethylester wurde beobachtet, daß die Viskosität ihrer Lösungen in Toluol durch den Zusatz kleiner Mengen von Aminen in einem ganz außergewöhnlichen Maße herabgesetzt wird.

Die Viskosität von Polypeptidlösungen in Benzol und Toluol ist abnormal hoch; dies ist wahrscheinlich eine Folge der Assoziation der Polymermoleküle zu größeren Komplexen und die Wirkung von Aminen und anderen polaren Zusatzmitteln kann dann ungezwungen als eine Auflösung der Komplexe erklärt werden. Eine solche Auflösung der Komplexe wird immer dann stattfinden, wenn die Affinität des Zusatzmittels für die assoziierende Gruppe des Polypeptidmoleküls größer ist als die der assoziierenden Gruppe eines anderen Polypeptidmoleküls, so daß die Assoziation der Polypeptidmoleküle untereinander im Wettbewerb steht mit der Assoziation von Polypeptidmolekülen mit Molekülen des Zusatzmittels. Es erschien uns interessant, dies weiter zu verfolgen, da die Hoffnung bestand, daß sich daraus ein Beitrag zu unserer Kenntnis der Kräfte zwischen Polypeptidmolekülen in Lösung gewinnen lassen würde. Sollten sich weiterhin Zusatzmittel finden lassen, die die Assoziation zwischen den Polypeptidmolekülen vollständig auflösen, dann könnte man erwarten, daß sich bei deren allmählicher Zugabe die Viskosität der Lösung erst auf den durch die einzelnen Polypeptidmoleküle bedingten Wert herabsetzen ließe und dann konstant bliebe; sobald dieser konstante Wert erreicht wäre, sollte sich in der Lösung eine bestimmte Mindestmenge an Zusatzmittelmolekülen auf je ein Polypeptidmolekül befinden, bei einfacher Endgruppenassoziation z. B. eines. Aus den bekannten Gewichtskonzentrationen könnte man das Molgewicht eines solchen Polypeptids errechnen. Dieser voraussichtliche Beitrag zur Methodik der Molgewichtsbestimmung von Polypeptiden erhöht den Wert einer solchen Untersuchung ganz bedeutend.

## 2. Experimenteller Teil.

A. Stoffe. Zwei Proben von Kopolymeren aus DL-Leucin und DL- $\beta$ -Asparaginsäuremethylester im Verhältnis 3 : 1, mit Kennzeichen Y 118 B bzw. 213 A, standen zur Verfügung und eine Probe von Poly-DL-phenylalanin, mit Kennzeichen 194 B. Die Viskositätszahlen, bei einer Konzentration von 0,5% in Dichloressigsäure, waren 0,068 bzw. 0,037 l/g für die Kopolymeren und etwa 0,19 l/g für das Polyphenylalanin; die letztere Zahl ließ sich wegen der langsamem Zersetzung der Dichloressigsäurelösungen nicht mit größerer Genauigkeit bestimmen. Die Kopolymeren lösten sich glatt in Toluol, das Polyphenylalanin löste sich jedoch erst nach einiger Zeit nach Kochen am Rückflußkühler; nach der Abkühlung ergab sich

<sup>3</sup> H. Tompa, Mh. Chem. 86 (1955), im Druck.

hierbei eine klare Lösung, aus der sich jedoch nach einigen Wochen beim Stehen Spuren eines Gels abschieden.

Das Toluol, das als Lösungsmittel diente, wurde vor Gebrauch destilliert. Äthylendiamin, Isopropylamin, Diisopropylamin, Dichloressigsäure, Trichloressigsäure, Trifluoressigsäure, Ameisensäure und Benzonitril, die als Zusatzmittel verwendet wurden, wurden ebenfalls vor Gebrauch destilliert, falls notwendig im Vakuum; Isopropylalkohol und n-Butylalkohol wurden ohne weitere Behandlung verwendet.

Der Gehalt der Lösungen an Amin wurde durch Titration mit 0,01 n Perchlorsäure in einem Lösungsmittel aus 4 Teilen Toluol und 1 Teil Eis-

essig bestimmt<sup>4</sup>; als Indikator diente eine 0,1%ige Lösung von Methylviolett in Eis-

essig. Die Säurelösungen wurden mit ge-

stellter Natriumhydroxydlösung in wäßri-

ger Lösung in Zweiphasensystemen titriert.

B. Viskosimeter. Viskositäten wurden in Viskosimetern nach *Ubbelohde* mit hängender Kugelfläche<sup>5</sup> gemessen; die Vorratsgefäß waren erweitert, so daß Lösungen im Viskosimeter verdünnt werden konnten<sup>6</sup>: es ist einer der Vorteile der *Ubbelohde*-Viskosimeter, daß die Messungen vom Volumen der Flüssigkeit im Viskosimeter unabhängig sind, sofern natürlich dieses ein gewisses Minimum übersteigt. In Verdünnungsexperimenten wurde Toluol in das Vorratsgefäß pipettiert, Zusatzmittel wurden in der Form von Lösungen in Toluol aus Mikrobüretten zugegeben. Nach jeder Zugabe wurde filtrierte Luft langsam durch das Vorratsgefäß geblasen, um den Inhalt durchzumischen. Wie festgestellt wurde, ergibt sich hieraus kein Verlust selbst des flüchtigsten Bestandteiles, des Isopropylamins. Wo

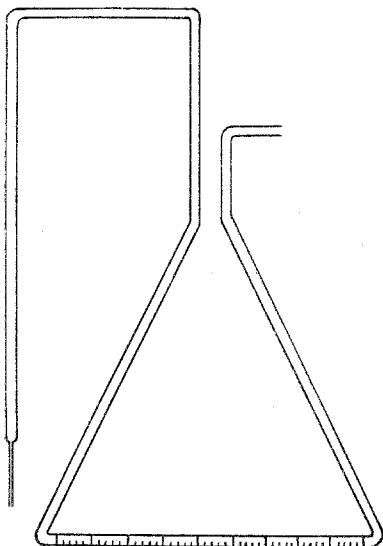


Abb. 1. Mikrobürette nach Schwarz.

notwendig, wurde die *Hagenbach*-Korrektur angebracht. Alle Viskositäten wurden bei 25° C gemessen.

C. Mikrobüretten. Hahnlose Mikrobüretten von 1 cm<sup>3</sup> Kapazität, im wesentlichen nach *Schwarz*<sup>7</sup>, wurden verwendet. Wie Abb. 1 zeigt, besteht der horizontale Teil der Bürette aus einer graduierten 1 cm<sup>3</sup>-Pipette; infolge des kleinen Innendurchmessers bildet sich in ihr trotz der horizontalen Lage ein sehr guter Meniskus aus. Die Spitze der Bürette befindet sich etwa 2 cm über dem Niveau des graduierten Teiles und ist in eine Kapillare von solchem Durchmesser ausgezogen, daß, wenn sie einmal mit Flüssigkeit gefüllt ist, die Kapillardepression in ihr größer ist als die Niveaudifferenz zwischen ihr und dem graduierten Teil. Dies hat zur Folge, daß die Flüssigkeit in ihr nicht hinaufläuft. Die Bürette wird gefüllt, indem man die Spitze

<sup>4</sup> *H. N. Wilson*, J. Soc. Chem. Ind. 67, 237 (1948).

<sup>5</sup> *W. Philippoff*, Viskosität der Kolloide, S. 59. Dresden: Th. Steinkopf. 1942.

<sup>6</sup> *W. E. Davis* und *J. H. Elliott*, J. Coll. Sci. 4, 313 (1949).

<sup>7</sup> *K. Schwarz*, Mikrochem. 13, 1 (1933); 18, 303 (1935).

in die zu verwendende Flüssigkeit eintaucht und am offenen Ende ansaugt; die Flüssigkeit wird durch sanftes Blasen in das freie Ende tropfenweise abgegeben. Wenn die gewünschte Menge Flüssigkeit abgegeben worden ist, wird mit dem Blasen aufgehört, ein etwaiger Flüssigkeitstropfen am Ende der Spitze fließt zurück, da die Spitze höher liegt als der horizontale Teil, bis der Meniskus die Kapillare erreicht; die in der Bürette verbleibende Flüssigkeitsmenge kann dann genau und mit sehr guter Reproduzierbarkeit abgelesen werden.

D. Bei der Messung wurden  $25 \text{ cm}^3$  in das Viskosimeter filtriert und die Viskosität gemessen. In Verdünnungsexperimenten wurde Toluol in das Viskosimeter pipettiert, nach guter Durchmischung wurde die Viskosität wieder gemessen und dies so oft wie nötig wiederholt. In Zusatzexperimenten

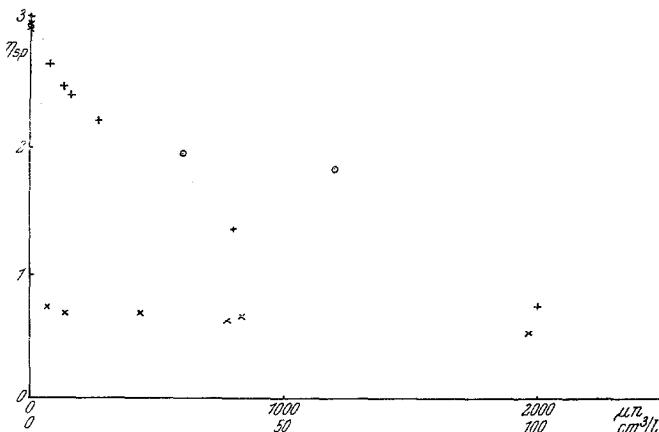


Abb. 2. Spezifische Viskositäten von Lösungen von 2 g/l des Kopolymeren Y 118 B in Toluol.  $\times$  bei Zusatz von Isopropylamin,  $+$  bei Zusatz von Benzonitril,  $\circ$  bei Zusatz von Äthylendiamin.

war es wünschenswert, das Gesamtvolumen so wenig wie möglich zu vergrößern, soweit dies mit der genauen Meßbarkeit der Menge des zugegebenen Zusatzmittels vereinbar war. Die Zusatzmittel wurden daher in Toluol zu solchen Konzentrationen aufgelöst, daß die erwünschte Gesamtmenge in  $1 \text{ cm}^3$  der entstandenen Lösung enthalten war (bei den Alkoholen und dem Benzonitril war das nicht notwendig). Diese Lösung wurde dann in Mengen von 0,05 bis  $0,2 \text{ cm}^3$  der Polypeptidlösung zugesetzt, nach jedem Zusatz die Lösung wie beschrieben durchgemischt und die Viskosität gemessen.

Die Meßresultate wurden für den Fall der Verdünnungsexperimente als Viskositätszahlen ( $\eta_{sp}/c$ ) gegen die Konzentration  $c$  in  $\text{g/l}$ , für den Fall der Zusatzexperimente als spezifische Viskosität gegen die Konzentration des Zusatzmittels aufgetragen, wobei in diesem Falle die letztere bei den Alkoholen und dem Benzonitril als  $\text{cm}^3/\text{l}$  und den Säuren und Aminen als „Mikronormalität“  $\mu n$ , das heißt in Einheiten von  $10^{-6}$  Äquivalenten pro Liter, ausgedrückt wurde.

### 3. Meßresultate.

Der Einfluß von Aminen auf die Viskosität von Polypeptidlösungen wurde zuerst bemerkt, als Äthylendiamin zu Lösungen des Kopolymeren Y 118 B hinzugefügt wurde; Abb. 2 zeigt die spezifische Viskosität einer

Lösung mit 2 g Polypeptid im Liter als Funktion der Äthylendiaminkonzentration. Die Abbildung zeigt außerdem die spezifische Viskosität der gleichen Lösung, nachdem verschiedene Mengen einer 1%igen bzw. 0,1%igen Isopropylaminlösung zugesetzt worden sind. Der Punkt mit der niedrigsten Isopropylaminkonzentration,  $70 \mu\text{n}$ , entspricht einer Lösung, in der ein Aminmolekül auf je 245 Aminosäurereste des Polypeptids kommt, und offensichtlich hat ein weiterer Zusatz des Amins wenig Einfluß außer dem einer bloßen Verdünnung. Mit anderen Worten, was immer der Einfluß der Aminmoleküle auf die Polypeptidmoleküle sein mag, dieser Einfluß ist beendet, bevor ein Aminmolekül auf

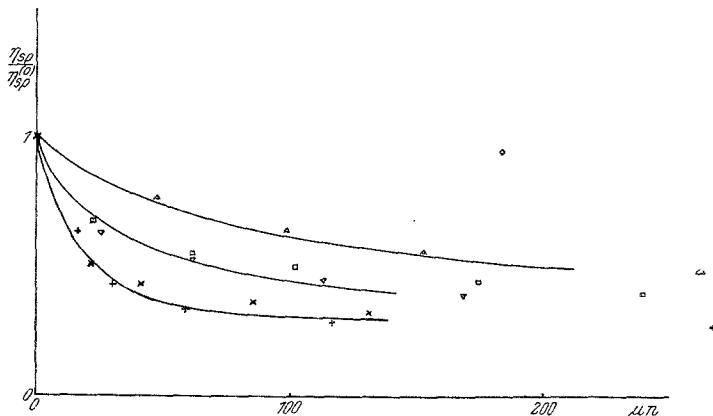


Abb. 3. Relative spezifische Viskositäten von Lösungen von 2 g/l des Kopolymeren 213 A in Toluol.  $\times$  bei Zusatz von Diisopropylamin,  $+$  bei Zusatz von Isopropylamin,  $\diamond$  bei Zusatz von Ameisen-  
säure,  $\Delta$  bei Zusatz von Dichloressigsäure,  $\nabla$  bei Zusatz von Trichloressigsäure,  $\square$  bei Zusatz von  
Trifluoressigsäure, — berechnete Kurve.

245 Aminosäurereste kommt. Dies ist kaum anders zu erklären, als daß sich der Einfluß auf die Enden des Polypeptidmoleküls bezieht, da sonst sehr schwer einzusehen ist, warum der Einfluß bei einem so niedrigen Wert des Verhältnisses Amin : Aminosäurerest aufhört. Hier nach wäre die hohe Viskosität der Lösung auf Endassoziation der Polypeptidmoleküle zurückzuführen, die durch die Aminmoleküle gelöst wird, da das Polypeptidmolekül das Aminmolekül einem anderen Polypeptidmolekül als Assoziationspartner vorzieht. Dies ist mit dem Polymerisationsgrad, der sich aus der Viskositätszahl in  $1/2\%$ iger Dichloressigsäurelösung zu einigen Hundert schätzen läßt, durchaus verträglich.

Äthylendiamin scheint für die Auflösung der Assoziation weniger wirksam zu sein als Isopropylamin; die Basizitäten in wäßriger Lösung unterscheiden sich um einen Faktor sechs, und obwohl diese Zahl nicht ohne weiteres auf Toluollösungen übertragbar ist, wird doch im allgemeinen die in Wasser stärkere Base auch in Toluol die stärkere sein.

Abb. 2 zeigt auch die Wirkung von Zusätzen von Benzonitril; die Konzentration ist in  $\text{cm}^3/\text{l}$  ausgedrückt, und da eine Lösung von etwa  $100 \text{ cm}^3/\text{l}$  mit Bezug auf Benzonitril normal ist, ist es klar, daß der Einfluß des Benzonitrils von einer ganz anderen Größenordnung ist, als der der Amine.

Die weiteren Versuche wurden mit dem Kopolymeren 213 A ausgeführt. Abb. 3 zeigt die spezifische Viskosität einer  $2 \text{ g/l}$  enthaltenden Lösung, relativ zu der der Anfangslösung, nachdem ihr verschiedene Mengen von Isopropylamin und Diisopropylamin — zweier starker Basen — und von Dichloressigsäure, Trichloressigsäure und Trifluoressigsäure —

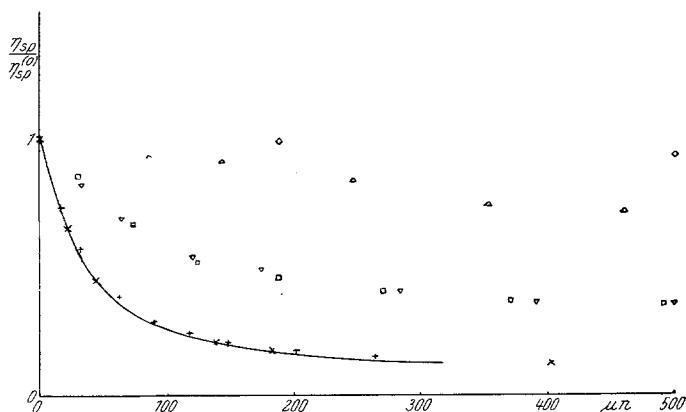


Abb. 4. Relative spezifische Viskosität von Lösungen von  $10 \text{ g/l}$  des Kopolymeren 213 A in Toluol.  
 x bei Zusatz von Diisopropylamin, + bei Zusatz von Isopropylamin, ◊ bei Zusatz von Ameisensäure,  
 △ bei Zusatz von Dichloressigsäure, ▽ bei Zusatz von Trichloressigsäure, □ bei Zusatz von Trifluoressigsäure, — berechnete Kurve.

Säuren zunehmender Azidität in wäßriger Lösung — zugesetzt worden waren; ein Punkt, der sich auf Ameisensäure bezieht, ist auch aufgetragen. Der Einfluß der beiden Amine ist am größten und der Einfluß der Säuren nimmt mit abnehmender Azidität ab; insbesondere die Ameisensäure hat wenig Einfluß im Vergleich mit den anderen Säuren, wiewohl die Erniedrigung der Viskosität von Polypeptidlösungen durch den Zusatz polarer Reagenzien, wie schon erwähnt<sup>1</sup>, gerade am Falle der Ameisensäure zuerst beobachtet worden ist.

Es wurde auch nach stärkeren Säuren als Trifluoressigsäure gesucht, die sich in Toluol lösen, aber es konnte keine gefunden werden; die Sulfonsäuren gehören bekanntlich zu den stärksten Säuren, aber keine der zur Verfügung stehenden löste sich in Toluol, und da nichts über die Löslichkeit anderer Sulfonsäuren in Toluol bekannt ist, wurden in dieser Richtung keine weiteren Versuche unternommen.

Abb. 4 zeigt das Ergebnis ähnlicher Versuche an einer Lösung mit 10 g Polypeptid im Liter; der Verlauf dieser Versuche ist denen der Abb. 3 durchaus analog. Die Anfangsviskositäten dieser Lösungen sind nicht so gut reproduzierbar, wie man es gerne sehen würde; dies ist, wenigstens zum Teil, sicher auf die große Empfindlichkeit dieser Lösungen gegenüber Spuren von Zusätzen zurückzuführen. Es wurde aber festgestellt, daß die geringe Menge Wasser, die sich in Toluol auflöst, auf die Viskositäten keinen Einfluß hat. Spuren von Gel setzten sich von

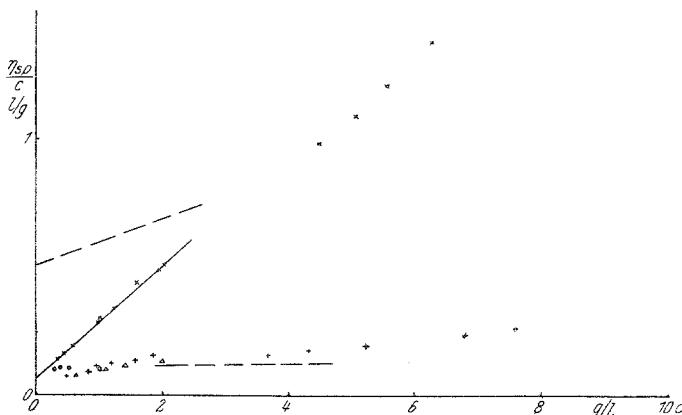


Abb. 5. Viskositätszahlen von Lösungen des Kopolymeren 213 A in Toluol.  $\times$  213 A in Toluol,  $+$  mit geringem Überschuß von Trifluoressigsäure,  $\Delta$  mit geringem Überschuß von Diisopropylamin,  $\circ$  mit tausendfachem Überschuß von Diisopropylamin, ----- nach der Formel von Schulz und Sing berechnete Linien, —— berechnete Kurve.

diesen Lösungen nach längerem Stehen ab, wiewohl viel weniger, als beim Polyphenylalanin; die dadurch zum Ausdruck gebrachte geringe Unstabilität der Lösung könnte auch für die schlechte Reproduzierbarkeit der Anfangsviskositäten verantwortlich sein.

Die Viskositätszahlen dieser beiden Lösungen sind sehr verschieden: sie sind 0,52 bzw. 2,3 l/g. Diese außergewöhnlich große Abhängigkeit der Viskositätszahl von der Konzentration erklärt sich ganz natürlich durch die Annahme einer Endassoziation der Polypeptidmoleküle. Um den Verlauf der ganzen Viskositätszahl-Konzentrationskurve aufzunehmen, wurden mehrere Verdünnungsversuche durchgeführt. Abb. 5 zeigt die Meßwerte; sie sind das Ergebnis dreier Versuchsreihen. Die innere Konsistenz jeder Reihe war zwar sehr gut, die Übereinstimmung zwischen den drei Reihen war jedoch nicht so gut. Die Abb. 5 zeigt außerdem die Ergebnisse von Messungen an Lösungen, denen ein geringer Überschuß an Trifluoressigsäure bzw. an Diisopropylamin zugesetzt und die dann mit Toluol verdünnt worden sind. Alle diese Meßreihen

lassen sich auf den gleichen Wert für die Konzentration Null extrapoliieren; er beträgt 0,052 l/g und dies muß als die Grenzviskositätszahl dieses Polymeren in Toluollösung betrachtet werden.

Um den Unterschied zwischen dem Verhalten dieser Lösung und dem einer Lösung eines Vinylpolymeren besser zum Ausdruck zu bringen, sind in Abb. 5 zwei Linien aufgetragen worden, die nach der Formel von Schulz und Sing<sup>8</sup> mit  $k = 0,28$  berechnet worden sind und die bekanntlich die Viskosität von Polystyrollösungen sehr gut wiedergeben. Ferner zeigt die Abbildung Daten, die bei der Verdünnung einer Lösung gewonnenen worden sind, der zuerst ein tausendfacher Überschuß an

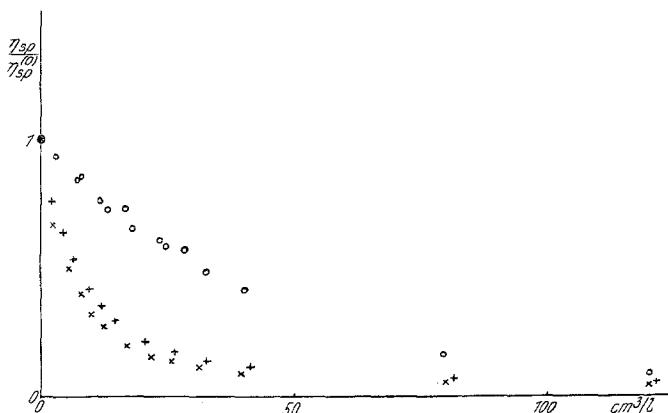


Abb. 6. Relative spezifische Viskositäten von Lösungen von 10 g/l des Kopolymeren 213 A in Toluol.  
x bei Zusatz von Isopropylalkohol, + bei Zusatz von n-Butylalkohol, O bei Zusatz von Benzonitril.

Diisopropylamin zugesetzt worden ist; Extrapolation dieser Werte auf die unendlich verdünnte Lösung ergibt nicht denselben Wert wie Extrapolation der früheren Werte. Entweder ist die zugesetzte Aminmenge groß genug, um das Lösungsmittel merklich zu modifizieren, oder das Amin hat einen Einfluß auf die Gestalt des Polypeptidmoleküls in der Lösung, indem es etwa Wasserstoffbrücken löst; jedenfalls zeigen diese Punkte, daß, wenn die letzten Spuren einer Assoziation verschwunden sind, die Viskositätszahl bis zu einer Konzentration von mindestens 1 g/l von der Konzentration unabhängig ist.

Als weitere Zusatzmittel wurden Benzonitril, Isopropylalkohol und n-Butylalkohol verwendet, polare Substanzen mit erheblichem Dipolmoment, aber ohne stark ausgeprägtem sauerem oder basischem Charakter. Abb. 6 zeigt die Versuchsergebnisse an einer Lösung mit 10 g des Kopolymeren 213 A im Liter. Die obigen Bemerkungen über den Einfluß

<sup>8</sup> G. V. Schulz und G. Sing, J. prakt. Chem. 161, 161 (1943).

des Benzonitrils auf Lösungen des Kopolymeren Y 118 B sind auch hier anwendbar; offensichtlich wirken die Alkohole stärker als das Nitril.

Sowohl Alkohole als auch Benzonitril sind Fällungsmittel für Polypeptide und es ist bekannt, daß der Zusatz eines Fällungsmittels die Viskosität einer Polymerlösung erniedrigt; dies hängt mit der stärkeren Zusammenknäuelung des Polymermoleküls beim Zusatz des Fällungsmittels zusammen, die ihrerseits dadurch verursacht wird, daß die Kontakte zwischen Polymeren und Lösungsmittel energetisch ungünstiger werden. Die hier beschriebene Erniedrigung der Viskosität ist jedoch viel zu groß, um dadurch erklärt werden zu können.

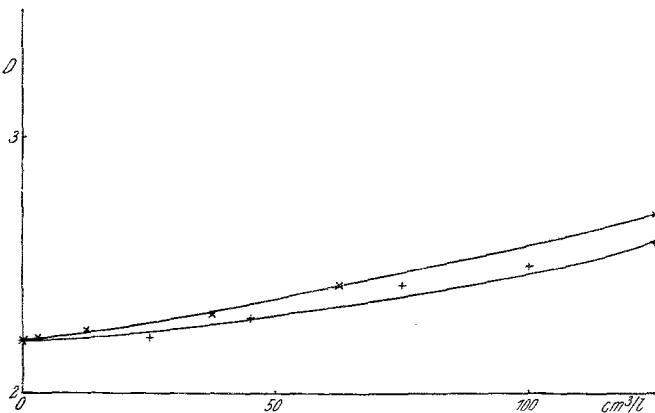


Abb. 7. Dielektrizitätskonstanten von Lösungen von  $\times$  Isopropylalkohol in Toluol, + n-Butylalkohol in Toluol.

Es könnte auch vermutet werden, daß die Wirkung der letztgenannten Substanzen darauf zurückzuführen ist, daß sie den Assoziationsgrad durch ihren Einfluß auf die Dielektrizitätskonstante verändern. Die Dielektrizitätskonstante von Lösungen der Alkohole in Toluol wurde daher nach einer angenäherten, aber für unsere Zwecke hinreichend genauen Methode gemessen: es wurde aus zwei Messingzylinern von 100 mm Länge und 60 bzw. 65 mm Durchmesser ein Zylinderkondensator gebaut, seine Kapazität sowohl in Luft als auch mit der zu messenden Flüssigkeit gefüllt, gemessen und daraus die Dielektrizitätskonstante gerechnet. Die erhaltenen Werte sind in der Abb. 7 aufgetragen und zeigen, daß die Änderungen der Dielektrizitätskonstante im verwendeten Konzentrationsbereiche sehr klein sind und für die beobachtete Erniedrigung der Viskosität kaum verantwortlich gemacht werden können. Es erscheint daher wahrscheinlich, daß die Wirkung der Alkohole und des Nitrils auf ihre schwach saure bzw. basische Natur zurückzuführen ist und daß ihre gegenüber den Aminen und Säuren viel geringere Wirksamkeit ein Maß ihrer viel schwächer basischen bzw. saueren Natur ist.

Ähnliche Versuche wurden an Lösungen von Polyphenylalanin 194 B in Toluol durchgeführt. Schon früher war erwähnt worden, daß dieses sich in kaltem Toluol nicht löste und daß aus den in heißem Toluol dar-

gestellten Lösungen sich bei längerem Stehen etwas Gel abscheidet und die Viskosität sich langsam erniedrigt. Angesichts seiner großen Viskositätszahl in  $1/2\%$ iger Dichloressigsäurelösung erschien es aber trotzdem der Mühe wert, dieses Polypeptid zu untersuchen. Infolge des langsamen Absinkens der Viskosität der Vorratslösungen können die verschiedenen Versuchsreihen nur relativ miteinander verglichen werden, aber die innere Konsistenz jeder einzelnen Versuchsreihe war sehr gut.

Die Ergebnisse von Zusatzexperimenten an einer Lösung mit 2 g/l

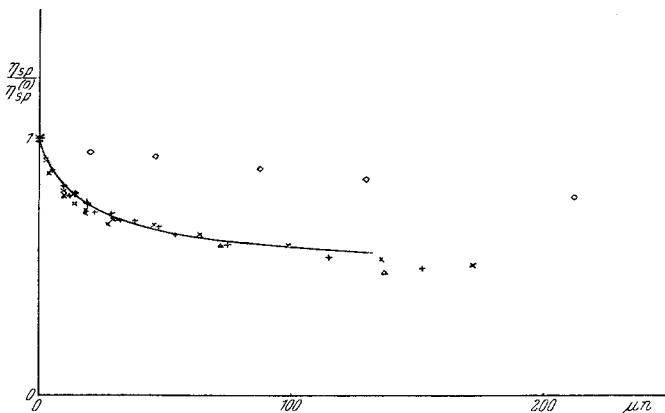


Abb. 8. Relative spezifische Viskositäten von Lösungen von 2 g/l Polyphenylalanin in Toluol.  $\times$  bei Zusatz von Diisopropylamin,  $+$  bei Zusatz von Isopropylamin,  $\diamond$  bei Zusatz von Ameisen-säure,  $\Delta$  bei Zusatz von Dichloressigsäure, — berechnete Kurve.

sind in Abb. 8 dargestellt; die Ergebnisse von ähnlichen Messungen an einer Lösung mit 3,125 l/g verlaufen ganz analog. Abb. 9 zeigt die Ergebnisse von Verdünnungsexperimenten an drei verschiedenen Lösungen. Der Einfluß von Zusatzmitteln ist hier weniger ausgeprägt als beim Kopolymeren, während die Konzentrationsabhängigkeit der Viskositätszahl viel größer ist. Auch ist die Viskositätszahl-Konzentrationslinie hier stark gekrümmkt, während sie beim Kopolymeren fast gerade war. Abb. 9 zeigt auch die Meßresultate für eine Lösung, der vor der Verdünnung ein geringer Überschuß an Diisopropylamin und für eine andere, der ein fast tausendfacher Überschuß zugesetzt worden war. Wiederum lassen sich die ersten Ergebnisse auf denselben Wert bei unendlicher Verdünnung extrapoliieren wie bei den reinen Polypeptidlösungen, nämlich 0,20 l/g, obwohl die Extrapolation etwas unsicher ist, während die letzteren Ergebnisse zu einer höheren Grenzviskositätszahl führen.

Die Grenzviskositätszahl von 0,20 l/g ist etwa viermal so groß wie die des Kopolymeren 213 A; das Verhältnis der Viskositätszahlen in Dichlor-essigsäure ist mindestens sieben in  $1/2\%$ iger Lösung. Die Konzentrations-

abhängigkeit der Viskositätszahl in Dichloressigsäure wurde sowohl für 213 A wie für 194 B aufgenommen; für das erstere ist sie sehr klein, während sie sich für das letztere wegen der langsamen Zersetzung des Polyphenylalanins in der Säure nur ungenau bestimmen lässt. In beiden Fällen gehorcht sie ungefähr der Formel von *Schulz* und *Sing*, zeigt also keine der ungewöhnlichen Erscheinungen, die sich in Toluollösung beobachten lassen.

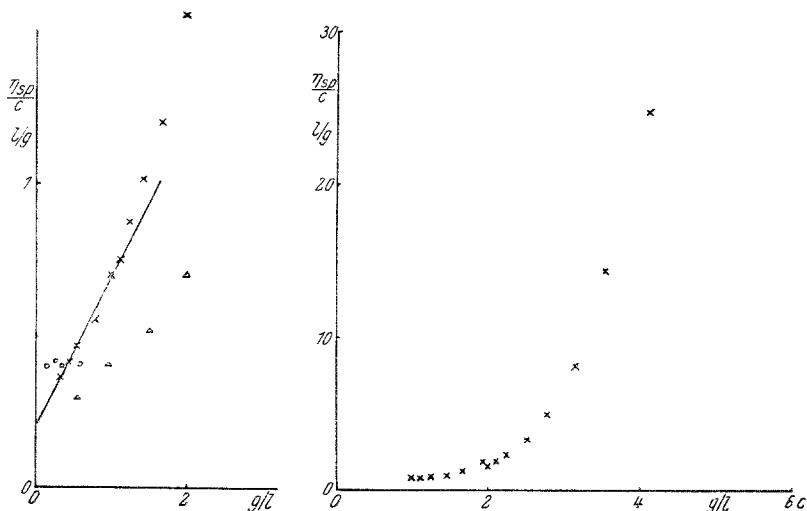


Abb. 9. Viskositätszahlen von Lösungen von Polyphenylalanin in Toluol in zwei verschiedenen Maßstäben.  $\times 194$  B in Toluol,  $\Delta$  mit geringem Überschuß von Diisopropylamin,  $\circ$  mit tausendfachem Überschuß von Diisopropylamin, — berechnete Kurve.

#### 4. Diskussion.

Der experimentelle Befund weist auf das Bestehen von Endassoziation hin. Es ist möglich, die Viskosität einer Lösung derart assoziierender Moleküle zu berechnen, wenn man die folgenden Annahmen macht: Die Assoziation gehorcht den üblichen Gesetzen von Assoziationsgleichgewichten und jeder assozierte Komplex trägt entsprechend seiner Kettenlänge zur Viskosität bei; eine etwaige Strukturviskosität wird vernachlässigt (dies kann ernste Fehler verursachen).

Das Polypeptid sei von einheitlicher Kettenlänge  $r$  und sein Volumenbruch sei  $\varphi$ . Ferner sei  $\varphi_i$  der Volumenbruch von Molekülen, die durch die Assoziation von  $i$  ursprünglichen Molekülen entstanden sind und daher die Kettenlänge  $i r$  haben; wir nennen solche Moleküle  $i$ -Komplexe und bezeichnen sie mit  $P_i$  und ihre Aktivität mit  $a_i$ . Wir nehmen an, daß Gleichgewichte von der Art

$$P_i + P_i = P_{i+i} \quad (1)$$

bestehen, und bezeichnen die Gleichgewichtskonstante, die wir als von der Kettenlänge unabhängig annehmen, mit  $K/e$ . Dann gilt

$$\frac{a_i \cdot a_j}{a_i \cdot a_j} = \frac{K}{e}. \quad (2)$$

Wir verwenden für  $a_i$  den sich aus der erweiterten Flory-Hugginsschen Theorie der Polymerlösungen ergebenden Ausdruck

$$\ln a_i = \ln \varphi_i + 1 - i \sum_{k=1}^{\infty} \frac{\varphi_k}{k} + i r \mu (1 - \varphi)^2. \quad (3)$$

Wir erhalten durch Einsetzen von (3) in (2)

$$\varphi_{i+j} = K \varphi_i \varphi_j \quad (4)$$

und insbesondere mit  $j = 1$

$$\varphi_{i+1} = K \varphi_1 \varphi_i, \quad (5)$$

woraus sich

$$\varphi_i = \varphi_1 (K \varphi_1)^{i-1} \quad (6)$$

ergibt. Wir erhalten  $\varphi_1$  aus

$$\sum_{i=1}^{\infty} \varphi_i = \varphi \quad (7)$$

zu

$$\varphi_1 = \frac{\varphi}{1 + K \varphi} \quad (8)$$

und daher ist

$$\varphi_i = \frac{1}{K} \left( \frac{K \varphi}{1 + K \varphi} \right)^i \quad (9)$$

Die so erhaltene Verteilung der Kettenlängen hat eine gewisse Ähnlichkeit mit der, die sich aus der Kinetik von Kondensationspolymerisationen oder, unter bestimmten Bedingungen, von Vinylpolymerisationen ergibt; doch unterscheidet sie sich von ihnen dadurch, daß bei den letzteren die Frequenzverteilung eine geometrische Reihe bildet, während es hier die Volumsverteilung (oder Gewichtsverteilung) tut. Bemerkenswerterweise wäre, wenn wir den Einfluß der Aktivitätskoeffizienten, die sich aus der Flory-Hugginsschen Theorie ergeben, vernachlässigt hätten, der Ausdruck für die Konzentration der  $i$ -Komplexe viel komplizierter geworden als nach Gl. (9).

Wir nehmen an, daß die Grenzviskositätszahl der  $i$ -Komplexe durch

$$[\eta]_i = Z i \quad (10)$$

gegeben sei, das heißt, wir nehmen die Gültigkeit des Staudingerschen Gesetzes an; wir nehmen ferner, wie üblich, an, daß die spezifische Vis-

<sup>9</sup> C. H. Bamford und M. J. S. Dewar, Proc. Roy. Soc. London, Ser. A 192, 329 (1948).

kosität einer Lösung eines heterogenen Polymergemisches der Summe der spezifischen Viskositäten der Komponenten gleich sei (vgl. z. B. <sup>9, 10</sup>). Dann erhalten wir

$$\frac{\eta_{sp}}{c} = \frac{\sum c_i [\eta]_i}{\sum c_i} = \frac{\sum \varphi_i [\eta]_i}{\sum \varphi_i}. \quad (11)$$

Einsetzen von  $[\eta]_i$  aus (10) und von  $\varphi_i$  aus (9) ergibt

$$\frac{\eta_{sp}}{c} = Z(1 + K\varphi). \quad (12)$$

Wenn wir dies als die Viskositätszahl der Polypeptidlösung betrachten, dann müssen wir eine lineare Abhängigkeit von  $\eta_{sp}$  von der Konzentration erwarten. In verdünnten Lösungen trifft dies auch für beide Polypeptide zu, aber Abweichungen treten beim Polyphenylalanin schon bei geringen Konzentrationen auf. Man muß daher die Konzentrationsabhängigkeit der Viskositätszahl berücksichtigen. Hierfür sind viele Gleichungen vorgeschlagen worden; die vielleicht am häufigsten benützte ist die von *Huggins* vorgeschlagene<sup>11</sup>

$$\frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] + k' [\eta]^2 c, \quad (13)$$

die eine lineare Abhängigkeit der Viskositätszahl von der Konzentration gibt. Mit Hilfe dieser Gleichung haben *Boyer* und *Spencer*<sup>10</sup> die folgende Gleichung für die Viskositätszahl einer Lösung eines heterogenen Polymergemisches abgeleitet:

$$\frac{\eta_{sp}}{c} = \frac{\sum \varphi_i [\eta]_i}{\sum \varphi_i} + k' \frac{\sum \varphi_i [\eta]_i^2}{\sum \varphi_i} c. \quad (14)$$

Dies ergibt für unseren Fall

$$\frac{\eta_{sp}}{c} = Z(1 + K\varphi) + k' Z^2 (1 + K\varphi) (1 + 2K\varphi) c. \quad (15)$$

Werte für  $Z$  ergeben sich für die beiden Polypeptide aus Abb. 5 bzw. 9; Werte für  $k'$  sollten aus den Linien für Lösungen mit überschüssigem Diisopropylamin erhalten werden, ergeben sich aber nicht sicher genug, insbesondere da die Neigung der Linien von der Diisopropylaminkonzentration abhängt. Werte für  $K$  lassen sich so wählen, daß die Übereinstimmung mit den experimentellen Daten möglichst gut wird, aber kein Wert für  $K$  gibt quantitative Übereinstimmung im ganzen Konzentrationsbereiche; es erscheint am ratsamsten,  $K$  so zu wählen, daß die Übereinstimmung im Bereich der verdünnten Lösungen so gut wie möglich wird, da die *Hugginssche* Gl. (13), wie jede andere vorgeschlagene Gleichung, rein empirischer Natur ist und man nicht erwarten kann, daß sie für konzentriertere Lösungen gültig ist.

<sup>10</sup> R. S. Spencer und R. F. Boyer, Polymer Bull. 1, 129 (1945).

<sup>11</sup> M. L. Huggins, J. Amer. Chem. Soc. 64, 2716 (1942).

Kurven, die mit  $K = 5600$  bzw.  $3300$  berechnet worden sind, sind in Abb. 5 und 9 voll ausgezogen; die vom zweiten Glied in Gl. (15) herührende Abweichung von der geraden Linie ist offenbar klein — wenn auch nicht vernachlässigbar — bis zu etwa  $c = 10 \text{ g/l}$  für das Kopolymere, macht sich aber für das Polyphenylalanin schon bei viel niedrigeren Konzentrationen bemerkbar.

Die Staudingersche Gl. (10) wurde in erster Linie wegen ihrer mathematischen Einfachheit verwendet; bei Verwendung der allgemeineren *Mark-Houwink'schen* Gleichung mit einem Exponenten, der kleiner als eins ist, ergeben sich Viskositätszahl-Konzentrationskurven, die auch ohne Berücksichtigung des zweiten Gliedes von Gl. (15) gekrümmmt sind, und der Beitrag dieses zweiten Gliedes macht sich schon bei viel geringeren Konzentrationen bemerkbar. Wir werden auch im folgenden Gl. (10) verwenden, aber dieser Punkt bedarf noch weiterer Aufklärung.

Die bei der Zugabe von Zusatzstoffen obwaltenden Verhältnisse lassen sich ähnlich behandeln. Wir betrachten außer Assoziationsgleichgewichten zwischen Polypeptidmolekülen auch Gleichgewichte zwischen Molekülen des Zusatzmittels  $R$ ,  $i$ -Komplexen  $P_i$  und einer Assoziation von  $R$  und  $P_i$ , die wir mit  $RP_i$  bezeichnen:

$$P_i + R = RP_i. \quad (16)$$

Wir bezeichnen den Volumsbruch dieser Komplexe  $RP_i$  mit  $\varrho_i$  und den der freien Moleküle  $R$  mit  $\varrho_0$ . Die Gleichgewichtskonstante für (16) sei  $\bar{K}/e$ ; wir schreiben den Molekülen  $R$  die Kettenlänge eins, denen der Komplexe  $RP_i$  die Kettenlänge  $i r + 1$  zu und nehmen an, daß die *Hugginssche* Wechselwirkungskonstante zwischen Polypeptidsegmenten bzw. Zusatzmittelmolekülen und den Lösungsmittelmolekülen unabhängig davon ist, in welchem Komplex sich die ersteren befinden. Dann ergibt sich, analog zur Ableitung von Gl. (4),

$$\varrho_i = \bar{K} \varrho_0 \varphi_i. \quad (17)$$

Für die Volumsbrüche  $\varphi_i$  gilt noch immer Gl. (6) und  $\varrho_0$  und  $\varphi_i$  lassen sich aus Gl. (18) und (19) berechnen:

$$\sum_{i=1}^{\infty} (\varphi_i + \varrho_i) = \varphi, \quad (18)$$

$$\varrho_0 + \sum_{i=1}^{\infty} \frac{\varrho_i}{i} = \varrho. \quad (19)$$

Gl. (19) bringt zum Ausdruck, daß die Gesamtmenge des Zusatzmittels in der Lösung gleich ist der anfangs zugegebenen  $\varrho$ , wobei  $\varrho$  als der Volumsbruch einer äquivalenten Menge  $RP$  ausgedrückt ist, so daß  $\varrho$  gleich  $\varphi$  ist, wenn Polypeptid und Zusatzmittel in äquivalenten Mengen vorhanden sind.

Wir nehmen an, daß die Grenzviskositätszahl sowohl von  $P_i$  als auch von  $R P_i$  durch Gl. (10) gegeben sei, und erhalten wie zuvor

$$[\eta] = \frac{Z}{1 - K \varphi_1}. \quad (20)$$

Wir bezeichnen  $[\eta]/Z$  mit  $\zeta$  und eliminieren  $\varrho_0$  aus Gl. (18) und (19) unter Zuhilfenahme von Gl. (6) und (17); aus der so erhaltenen Gleichung und Gl. (20) eliminieren wir  $\varphi_1$  und erhalten

$$\frac{\varrho/\varphi}{m \zeta + K r/\bar{K}} + \frac{1}{K \varphi} = \frac{1}{\zeta - 1}. \quad (21)$$

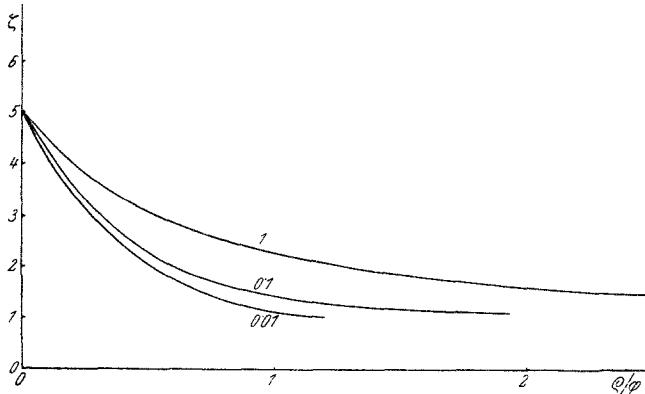


Abb. 10. Berechnete Kurven von  $\zeta$  gegen  $\rho/\varphi$  mit  $K = 2000$ ,  $\varphi = 0,002$  und den angegebenen Werten von  $K r/\bar{K}$ .

Um über den Verlauf der durch Gl. (21) gegebenen Beziehung einen Überblick zu bekommen, haben wir in Abb. 10  $\zeta$  gegen  $\rho/\varphi$  für  $K = 2000$ ,  $\varphi = 0,002$  und  $K r/\bar{K} = 0,01$ ,  $0,1$ , bzw.  $1$  aufgetragen. Der allgemeine Verlauf dieser Kurven ist ganz analog dem Verlaufe derer, die die Viskositätszahl in Abhängigkeit von der Zusatzmittelkonzentration wiedergeben. Für große Werte von  $\bar{K}$ , oder genauer: wenn  $K r/\bar{K}$  gegen  $\ln \zeta$  vernachlässigt werden kann, streben die berechneten Kurven einer Grenzlage zu, die sich von der für  $K r/\bar{K} = 0,01$  nur sehr wenig unterscheidet.

Es wäre mathematisch viel zu umständlich, die obige Behandlung auf den Fall der Konzentrationsabhängigkeit der Viskositätszahl der einfachen Polypeptidmoleküle auszudehnen, und es erscheint am besten, den Vergleich mit den experimentellen Daten auf den Gültigkeitsbereich der Gl. (12) zu beschränken. Wenn Gl. (21) auf Kurven wie die der Abb. 3 angewendet werden soll, ist  $\varphi$  gegeben und  $K$  von Verdünnungsexperimenten her bekannt;  $\zeta$  ist dann eine Funktion von  $\rho/\varphi$  und von

$K r/\bar{K}$ ; wenn aber  $\ln \zeta$  viel größer ist als  $K r/\bar{K}$ , nur von  $\varrho/\varphi$ . Es muß dann der entsprechende Maßstab für  $\varrho/\varphi$  so gewählt werden, daß die theoretischen und experimentellen Kurven übereinstimmen; da Polypeptid- und Zusatzmittel in äquimolekularen Mengen vorhanden sind, wenn  $\varrho/\varphi$  gleich eins ist und  $\varphi$  gegeben ist, läßt sich so die Kettenlänge des Polypeptids erhalten. Mit dem so erhaltenen Werte von  $r$  lassen sich bei geeigneter Wahl von  $\bar{K}$  auch Kurven an die anderen experimentellen Punkte anpassen.

Diese Überlegungen wurden auf die Kurven der Abb. 3 für das Kopolymer 213 A angewendet. Es ergibt sich jedoch, daß die Kurven für die Amine, die am stärksten wirksam sind, einem Grenzwerte zu streben, der größer ist als der aus Abb. 5 ablesbare.

Hierfür können zwei Gründe maßgebend sein. Entweder ist möglicherweise die Viskositätszahl der einfachen Polypeptidmoleküle doch konzentrationsabhängig, oder wir haben es hier mit zwei Arten von Assoziation zu tun, von denen nur die eine durch die hier verwendeten Zusatzmittel aufgelöst wird. Wenn z. B. Assoziation sowohl einerseits durch eine Säure-Basen-Reaktion als auch anderseits durch Wasserstoffbrückenbildung verursacht wird, würde durch die verwendeten Säuren und Basen nur die erstere gelöst werden. Die Gleichgewichtskonstante, die dieser Assoziation entspricht, könnte dann aus dem Verhältnis der Viskositätszahlen zu Anfang und am Ende berechnet werden, und ist natürlich kleiner als der Wert von  $K$ , der sich aus den Verdünnungsversuchen ergibt. Wir können in jedem Falle einen Wert von  $K$  verwenden, der die größere der beobachteten Grenzviskositäten ergibt; dann finden wir, daß die mit  $K r/\bar{K} = 0,1$  berechnete und in Abb. 3 voll ausgezogene Kurve sich den experimentellen Punkten für die Amine als Zusatzmittel sehr gut anpaßt. Der Wert von  $K r/\bar{K}$  ist allerdings nur sehr angenähert, da, solange er  $< 1$  ist, die Kurven gegenüber dem genauen Wert nicht empfindlich sind, wie es aus Abb. 10 klar wird. Wir erhalten so  $\varrho/\varphi = 1$  bei  $33 \times 10^{-6}$  Äquivalenten Amine pro Liter, so daß das Molgewicht des Polymeren sich zu 60000 und die Kettenlänge sich zu etwa 500 ergibt. Diese Zahl ist in guter Übereinstimmung mit Werten zwischen 55000 und 62000, die sich aus potentiometrischer Titration der Aminendgruppen des Polypeptids ergeben; hierzu wurde eine 5%ige Lösung in Metakresol + 10% Wasser mit 0,02 n HCl in n-Butylalkohol titriert. Allerdings müßte diese letztere Methode gründlicher untersucht werden, bevor man diese Zahlen als endgültig ansehen kann; doch ist die Übereinstimmung der gefundenen Molgewichte zufriedenstellend.

Kurven mit  $K r/\bar{K} = 3,5$  bzw. 42 sind auch in Abb. 3 eingezeichnet und passen sich, wie ersichtlich, den experimentellen Punkten gut an;

doch ist es zweifelhaft, ob diese Werte von  $K r/\bar{K}$  mehr als qualitative Bedeutung haben.

Das gleiche Verfahren wurde auch auf die in Abb. 4 wiedergegebenen Daten angewendet. Doch mit Rücksicht auf die höhere Polymerkonzentration und die zusätzlichen Annahmen über den Wert von  $K$  ist es nicht erstaunlich, daß keine vollständige Übereinstimmung mit den aus der Abb. 3 gewonnenen Zahlen erhalten werden kann: das Molgewicht ergibt sich zu 77000, die Kettenlänge zu etwa 650.

Mit Rücksicht auf die viel größere Konzentrationsabhängigkeit der Viskositätszahl der Polyphenylalaninlösungen müßten Versuche, um vergleichbare Genauigkeit zu bekommen, bei niedrigerer Konzentration gemacht werden, als für das Kopolymere. Jedoch nimmt die experimentelle Genauigkeit der Messungen der spezifischen Viskosität mit der Konzentration stark ab und die Versuche wurden deshalb ebenfalls bei 2 g/l ausgeführt. Die voll ausgezogene Kurve der Abb. 8 wurde mit  $K r/\bar{K} = 0,5$  errechnet und ergab  $\eta/\varphi = 1$  für  $1 \times 10^{-5}$  Äquivalente Amin pro Liter, entsprechend einem Molgewicht von 200000 und einer Kettenlänge von 1350. Diese Zahlen müssen als angenähert betrachtet werden, besonders mit Rücksicht auf die früher erwähnte Unbeständigkeit der Vorratslösung.

### 5. Die Natur der Assoziation.

Mit Hilfe der *Leuchs*-Reaktion hergestellte Polypeptide<sup>12</sup> enthalten, falls keine störenden Seitenreaktionen auftreten, an einem Ende des Moleküls eine Amingruppe, aber die andere Endgruppe hängt von der Art des Initiators ab. Die in dieser Untersuchung verwendeten Polypeptide waren ohne Zusatz von Initiatoren hergestellt worden, so daß angenommen werden muß, daß Wasser als Initiator diente, und daher die für Karbonsäuren charakteristische Karboxylgruppe die entsprechende Endgruppe des Polypeptidmoleküls ist. Es ist daher naheliegend, die Endassoziation der Polypeptidmoleküle auf eine Säure-Basen-Reaktion zurückzuführen. Dies würde auch erklären, warum gerade Amine und Säuren so wirksam sind, die Assoziation aufzuheben. Einige Versuche, die darauf abzielten, diesen Punkt aufzuklären, ergaben leider keine entscheidenden Ergebnisse.

Wenn die Aminendgruppe des Moleküls entfernt werden könnte, wäre Assoziation infolge einer Säure-Basen-Reaktion unmöglich. Proben, sowohl von 213 A als auch von 194 B, wurden acetyliert unter Bedingungen, die als besonders wirksam gelten; Lösungen dieser Substanzen zeigten eine verminderte Konzentrationsabhängigkeit der Viskositätszahl

<sup>12</sup> W. E. Hanby, S. G. Waley und J. Watson, J. Chem. Soc. London 1950, 3009.

und einen verringerten Einfluß von Diisopropylaminzusatz. Aber quantitative Schlüsse können daraus nicht gezogen werden, solange keine Methode zur genauen Bestimmung des Acetylierungsgrades zur Verfügung steht. Versuche, die verbleibenden Amingruppen nach der früher erwähnten Methode zu titrieren, ergaben für das Kopolymeren sehr ungenaue Resultate, die zwischen 50 und 80% Acetylierung schwankten; für das Polyphenylalanin fand sich kein entsprechendes Lösungsmittel.

Die saure Endgruppe kann durch Verwendung eines entsprechenden Initiators eliminiert werden, aber ein zu diesem Zweck mit Phenylalanid-dimethylamid initiiertes Polypeptid war in Toluol nicht löslich.

Weitere Versuche wurden zur Prüfung folgender Überlegung durchgeführt. Würde die Viskosität einer Lösung durch den Zusatz, z. B. eines Amins, herabgesetzt, so könnte ein darauf folgender Säurezusatz die Bildung, wenn auch nicht von Salzen, so doch von Säure-Aminkomplexen zur Folge haben, die durch die Beanspruchung von Aminmolekülen den Polypeptidmolekülen die Möglichkeit geben, neuerdings zu assoziieren, wodurch die Viskosität wieder erhöht werden sollte. Wenn jedoch einer Lösung des Kopolymeren Isopropylamin zugesetzt wurde, bis die endgültige Viskosität erreicht war, und dann Di- oder Trichloressigsäure, dann zeigte sich nicht nur keine Zunahme, sondern sogar eine geringe Abnahme der Viskosität. Weiterhin sollte man, wenn Diisopropylamin und Trichloressigsäure in äquivalenten Mengen zugleich als Lösungen in Toluol zugesetzt werden, erwarten, daß infolge von Komplexbildung zwischen der Säure und der Base die Mischung weniger wirksam sei, als die Säure oder die Base allein; es muß jedoch im Auge behalten werden, daß über den Zustand solcher Moleküle in aprotischen Lösungsmitteln mit geringer Dielektrizitätskonstanten, wie Toluol, sehr wenig bekannt ist. Eine Reihe solcher Versuche wurde durchgeführt und es ergab sich immer, daß die Wirkung des Gemisches der des Amins allein gleich ist. Es ergibt sich also keine Abnahme des Effektes durch die Säure, aber anderseits ist der Effekt kleiner, als wenn die Säure und das Amin unabhängig voneinander wirken würden. Es läßt sich daher nach keiner Richtung ein entscheidender Schluß ziehen.

Ferner muß in Betracht gezogen werden, daß Assoziation durch Wasserstoffbrückenbildung vorliegen kann. Es ist bekannt, daß bei Polypeptiden, die sich, wie hier, in der  $\alpha$ -Konfiguration befinden, einige der endständigen Wasserstoffbrücken nicht intramolekular gebildet werden können und ein gewisser Bruchteil der Substanz in der  $\beta$ -Konfiguration vorliegt<sup>1</sup>. Dies kann zu einer Endassoziation durch Wasserstoffbrückenbildung führen. Wenn es bestätigt werden könnte, daß Acetylierung fast alle Aminendgruppen beseitigt, dann könnte die Geringfügigkeit des Unterschiedes im Verhalten von acetylierten und nichtacetylierten

Polypeptiden auf das Vorhandensein von Endassoziation durch Wasserstoffbrücken zurückgeführt werden. Der Unterschied zwischen der Grenzviskositätszahl und dem endgültigen Werte der Viskositätszahl beim Zusatz von Amin könnte auch durch die gleiche Ursache bedingt sein. Die Aufklärung dieser Punkte bedarf weiterer experimenteller Arbeit.

Ich bin Herrn Dr. *C. H. Bamford* für aufschlußreiche Diskussionen und Anregungen, Frau Dr. *D. M. Yates*, Herrn *W. E. Hanby* und Herrn Dr. *F. J. Weymouth* für die präparative und andere organische Arbeit und Herrn Dr. *Ph. Groß* für den Hinweis auf die *Schwarzsche Mikrobürette* zu Dank verpflichtet. Die Viskositätsmessungen wurden von meiner Assistentin, Frl. *M. Downie*, ausgeführt, der auch hierfür gedankt sei.