

176. Die Herstellung von Hauptvalenzgelen durch Netzbildung aus Cellulosemolekeln in Lösung

von R. Signer und P. von Tavel.

(8. IX. 43.)

Die Bedeutung des Gelzustandes in den Zellen und Geweben des Tier- und Pflanzenreiches¹⁾ rechtfertigt es, diesem Verteilungszustand fester Substanz in flüssigen Medien auch in Zukunft noch weitere Beachtung zu schenken. Die in den zwei letzten Jahrzehnten gewonnenen Einblicke in die Konstitution hochmolekularer Verbindungen haben auch die Gelforschung stark belebt. So sind die Hauptvalenzgele mit ihren charakteristischen Eigenschaften, wie begrenzter Quellung, thermischer und chemischer Beständigkeit, geringer Lichtstreuung etc., heute ein fest umrissener Begriff²⁾, der gestattet, sie von anderen Geltypen abzugrenzen.

Mit den im folgenden kurz beschriebenen Versuchen³⁾ sollte geprüft werden, ob eine verdünnte Lösung von linearen Makromolekeln mit wenigen reaktionsfähigen Gruppen längs des fadenförmigen Teilchens zu einer typischen Hauptvalenzgallerte erstarrt, wenn man eine geringe Zahl reaktionsbereiter, bifunktionaler, kleiner Molekeln zusetzt, welche in der Lage sind, die Makromolekeln durch Brückenbildungen zu verknüpfen.

Stark methylierte Cellulose, die auf 100 Glucosereste noch etwa 70 freie Hydroxylgruppen besitzt, lässt sich bekanntlich in Chloroform dispergieren. Die Lösung enthält die isolierten Fadenmolekeln, wie man aus der Viskosität, der Strömungsdoppelbrechung und anderen Eigenschaften schliessen kann. Wenn man zu einer solchen Lösung mit 40 mg der Methylcellulose pro cm³ etwa 9 mg Oxalylchlorid pro cm³ nebst einer Spur tertiärer Base zur Bindung der Salzsäure zufügt, so erstarrt die Lösung bei Zimmertemperatur nach einigen Stunden zu einer klaren Gallerte. Die Beständigkeit dieses Gels bei höherer Temperatur, die Klarheit, die begrenzte Quellbarkeit in viel Chloroform, das Erhaltenbleiben des Gelzustandes in vielen „Lösungsmitteln“, die Zerstörung des Gels mit esterspaltenden

¹⁾ Vgl. z. B. A. Frey-Wyssling, Submikroskopische Morphologie des Protoplasma, S. 75 und 139, Berlin, Borntraeger, 1938, und P. Jordan, Die Verstärkertheorie der Organismen in ihrem gegenwärtigen Stand, Naturwiss. 26, 537 (1938).

²⁾ Über solche Gele, welche Fadenmolekeln mit Hauptvalenzen dreidimensional verknüpft enthalten, vgl. H. Staudinger, Organische Kolloidchemie, Bd. 93 der Sammlung „Die Wissenschaft“, S. 117, Verlag Vieweg, Braunschweig 1941; ferner: H. Staudinger und W. Heuer, Über ein unlösliches Polystyrol, B. 67, 1164 (1934).

³⁾ Eine ausführliche Darstellung findet sich in der Diss. P. von Tavel, Bern, 1939.

Agentien, und andere Eigenschaften zeigen, dass tatsächlich ein Hauptvalenzgel vorliegt.

Die Gelbildung hat man sich so vorzustellen, dass eine Oxalylchloridmolekel beim Zusammentreffen mit einer freien Hydroxylgruppe der Methylcellulosekette unter Esterbildung einseitig reagiert. Ihre zweite Säurechloridgruppe wird sich aus räumlichen Gründen nicht mit einem Hydroxyl derselben Methylcellulosemolekel umsetzen können, aber sie wird dank der auch bei Fadenmolekeln noch kräftigen Molekularbewegung bald mit einem Hydroxyl einer zweiten Makromolekel zusammentreffen. So bildet sich eine Oxalesterbrücke zwischen zwei Fadenmolekeln. Von weitem Hydroxylgruppen der einen und der andern Cellulosemolekel läuft die Brückenbildung zur dritten und zu weitem Molekeln und endlich durch die ganze Lösung hindurch. Das Fadenwerk der gelösten Makromolekeln verfestigt sich durch die an Zahl zunehmenden Esterbrücken zu einem Gel, dessen „Konstitution gewissermassen durch Synthese bewiesen ist“.

Üblicherweise verwendet man bei Veresterungen mit Säurechloriden zur Salzsäure-Bindung tertiäre Basen, wie Pyridin, Dimethylanilin und andere. Pyridin bildet mit Oxalchlorid ein chloroformunlösliches Additionsprodukt und kommt deshalb für den vorliegenden Fall nicht in Frage. Dimethylanilin hat einen anderen Nachteil. Es kondensiert sich unter Abgabe des Wasserstoffatoms in Para-Stellung mit dem Säurechlorid¹⁾. Den gewünschten Dienst tut das Dimethyl-p-toluidin. Zwar ist es dem Säurechlorid gegenüber auch nicht ganz indifferent. Aber es tritt nur eine lockere Anlagerung ein, in der das Oxalylchlorid seine zweifache Veresterungsfähigkeit bewahrt.

Bei der im Zuge der Reaktion fortschreitenden chemischen Netzbildung aus den Molekeln ist der Sol-Gel-Übergang mit einfachsten Mitteln scharf zu erkennen. Man neigt hiezu das Reaktionsgefäss von Zeit zu Zeit etwas und stellt dabei fest, dass die Zähigkeit der Lösung erst relativ langsam zunimmt und in einem recht kurzen Zeitintervall von noch endlichen Werten auf unendlich ansteigt. Man kann also für jedes derartige System eine Erstarrungszeit festlegen. Vom Moment der Erstarrung ab geht die Netzbildung ohne Zweifel noch weiter, was man an einer zunehmenden Verfestigung des Gels erkennt. Eine Synärese tritt auch beim Aufbewahren über lange Zeiträume höchstens spurweise ein.

Die Erstarrungszeiten, welche sich bei nicht zu verdünnten Lösungen gut reproduzieren lassen, geben ohne Zweifel einen gewissen Aufschluss über die Geschwindigkeit der Netzbildungsreaktion. Es war deshalb von Interesse, diese Grösse unter Variation der Konzentration der Reaktionspartner zu verfolgen. Es wurden

¹⁾ Vgl. H. Staudinger und H. Stockmann, B. 42, 3485 (1909).

hierüber 5 Versuchsreihen ausgeführt, bei denen immer die gleiche Methylcellulose mit dem durchschnittlichen Molekulargewicht von 21000 und mit 68 freien Hydroxylgruppen pro 100 Glucoseresste zur Anwendung kam. Als Lösungsmittel wurde stets Chloroform verwendet. Die Methylcellulosekonzentration betrug bei den ersten 4 Versuchsreihen 40 mg pro cm³ Lösungsmittel.

In der ersten Versuchsreihe wurde das Hilfsreagens, das die Salzsäure binden soll, variiert. Die Oxalylchloridmenge betrug bei allen Ansätzen 9,1 mg pro cm³ Lösungsmittel. Dies entspricht $\frac{1}{2}$ Mol auf 1 freie Hydroxylgruppe in der Methylcellulose. In 4 Ansätzen wurde die Dimethyl-p-toluidinmenge von 1 bis 8 Mole pro Hydroxylgruppe variiert. Über die beobachteten Erstarrungszeiten gibt Tabelle 1 Aufschluss.

Tabelle 1.

Erstarrungszeit in Abhängigkeit von der Basenmenge
(Säurechlorid: $\frac{1}{2}$ Mol pro OH).

Mole Base pro OH	Erstarrungszeit in Stunden
1	3
2	2,3
4	1,8
8	0,8

Mit steigender Basenmenge wird die Erstarrungszeit kürzer, die Gelbildungsgeschwindigkeit also grösser. Es lassen sich verschiedene Vermutungen über den Grund dieses Effektes aufstellen. Vielleicht ist die Veresterungsaktivität des Oxalylchlorids in der Anlagerungsverbindung an die Base grösser als die des freien Säurechlorids. Eventuell sorgt der Basenüberschuss für promptere Bindung der Salzsäure, wodurch die Veresterungsreaktion massenwirkungsmässig beschleunigt wird.

Interessanter ist die Variation der Menge Oxalylchlorid bei gleichbleibender Menge der Base (1 Mol pro Hydroxylgruppe). Es ist zu erwarten, dass mit einem grossen Überschuss des Säurechlorids rasch alle Hydroxylgruppen zu Oxalsäure-halbester-halbechlorid-Gruppen umgesetzt werden. Diese können offenbar nicht mehr weiter reagieren, und es sollen sich überhaupt keine Brücken bilden. Die Versuchsergebnisse entsprechen dieser Erwartung, wie aus Tabelle 2 zu ersehen ist. $\frac{1}{2}$ Mol Säurechlorid ist für die Brückennetzbildung theoretisch die günstigste Quantität. Die Erstarrungszeit ist demzufolge im Versuch kurz, nämlich 3 Stunden. Mit 1 Mol Oxalylchlorid schnellst sie bereits auf mehr als das Hundertfache und bei Weiteransteigen der Menge wird überhaupt keine Gelbildung mehr beobachtet.

Tabelle 2.

Erstarrungszeit in Abhängigkeit von der Säurechloridmenge
(Base: 1 Mol pro OH).

Mole Säurechlorid pro OH	Erstarrungszeit in Stunden
½	3
1	312
2	∞
4	∞

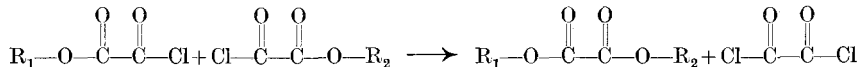
Einen neuen Gesichtspunkt über den Reaktionsmechanismus lieferte eine 3. Versuchsreihe, in der wie in der ersten bei konstanter Menge Oxalylchlorid zunehmende Basenmengen verwendet wurden. Der Unterschied gegenüber der ersten Versuchsreihe liegt in der durchwegs grösseren Menge Säurechlorid. Es wurde hier 1 Mol pro Hydroxyl im Gegensatz zu ½ Mol bei der ersten Versuchsreihe angewendet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 wiedergegeben.

Tabelle 3.

Erstarrungszeit in Abhängigkeit von der Basenmenge
(Säurechlorid: 1 Mol pro OH).

Mole Base pro OH	Erstarrungszeit in Stunden
1	312
2	280
3	47
4	30
8	17

Die Tatsache, dass die Erstarrungszeiten auch bei dieser grossen Menge Säurechlorid mit wachsender Konzentration der Base stark sinken, kann wohl nur so gedeutet werden, dass die Base noch eine weitere Reaktion begünstigt, nämlich den Umsatz zweier Oxalsäurehalbester-halfchlorid-Gruppen zu einer Dicarbonsäureganzesterbrücke unter Rückbildung einer Molekel Dicarbonsäurechlorid. Es ist die folgende Umsetzung



bei der R_1 und R_2 Glucosereste verschiedener Methylcellulosemolekeln bedeuten. Eine entsprechende Reaktion wurde beispielsweise am Oxalsäurebornyl-halfester-halfchlorid schon früher beobachtet¹⁾.

In einer 4. Versuchsreihe wurden das Säurechlorid und die Base variiert, aber so, dass ihr Mengenverhältnis bei allen Ansätzen konstant blieb. Vgl. Tabelle 4.

¹⁾ Vgl. *Abbot, Mc Kenzie und Ross, B. 71, 16 (1938).*

Tabelle 4.

Erstarrungszeit in Abhängigkeit der Basen- und Säurechloridmenge.

Mole Säurechlorid pro OH	Mole Base pro OH	Erstarrungszeit in Stunden
$\frac{1}{2}$	$1\frac{1}{2}$	3
1	3	47
2	6	26
4	12	4

Man sieht, dass vom ersten zum zweiten Ansatz die Erstarrungszeit steigt. Vom zweiten zum dritten und vom dritten zum vierten fällt sie wieder ab. Es ist offenkundig, dass sich die verschiedenen Einflüsse überlagern, die aus den vorherigen Versuchsreihen einzeln schon bekannt sind. Bei der raschen Zunahme der Erstarrungszeiten vom ersten zum zweiten Ansatz hat der aus der 2. Versuchsreihe bekannte Einfluss die Oberhand. Beim Wiederabfall der Erstarrungszeiten bei den folgenden Ansätzen erkennt man den Effekt der 3. Versuchsreihe.

Wer sich endlich einen Überblick über die simultane Auswirkung der zwei Variablen, der Säurechlorid- und der Basen-konzentration, verschaffen will, werfe einen Blick auf die Fig. 1. Es sind dort die Ergebnisse der Versuchsreihen vereinigt, und überdies wurde die Gestalt der „Erstarrungszeitenfläche“ festzulegen versucht, soweit dies aus der geringen Zahl von Versuchen möglich ist.

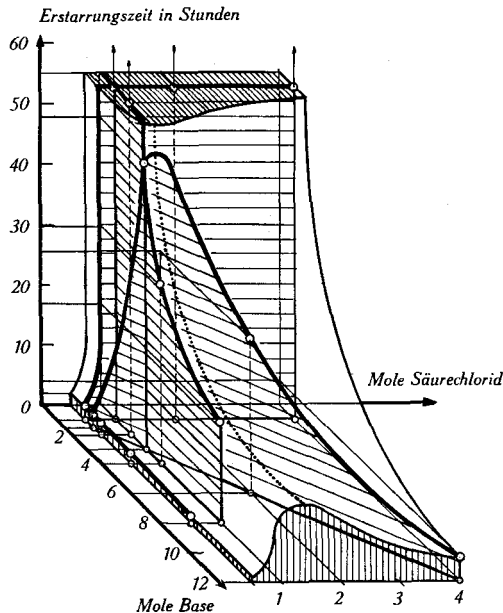


Fig. 1.

In einer 5. Versuchsreihe wurde endlich die Methylcellulosekonzentration verändert. An Säurechlorid verwendete man $\frac{1}{2}$ Mol pro Hydroxyl und an Base 2 Mol pro Hydroxyl. Die Erstarrungszeiten sind in Tabelle 5 eingetragen.

Tabelle 5.

Erstarrungszeit in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentration
(Säurechlorid: $\frac{1}{2}$ Mol pro OH; Base: 2 Mol pro OH).

mg Methylcellulose pro cm ³ CHCl ₃	Erstarrungszeit
40	2
25	10
20	19
15	25

Der Übergang Sol-Gel tritt also um so rascher ein, je geringer die Entfernung zwischen den Fadenmolekeln in der Lösung ist. Der Gelbildungsvorgang unterscheidet sich bei konzentrierten und verdünnten Lösungen etwas. Bis herunter zu ca. 20 mg Methylcellulose pro cm³ verfestigt sich die ganze Lösung gleichzeitig. Bei verdünnten Lösungen unter 15 mg tritt zuerst an der Oberfläche eine Gelschicht auf. Später erstarren je nach der Konzentration auch noch die tieferen Partien. Offenbar bilden sich zuerst unsichtbare Gelfetzen, die wegen der geringeren Dichte im Vergleich zum Lösungsmittel aufsteigen und an der Oberfläche durch weitere Esterbrücken zusammenwachsen.

Die Netzbildung aus gelösten Fadenmolekeln mit brückenbildenden Reagentien ist natürlich nicht auf das System Methylcellulose-Oxalylechlorid beschränkt. Mit Bernstein-, Glutar- und Sebacinsäurechlorid anstelle des Oxalylechlorids wurden ganz analoge Gelbildungen beobachtet. Auch partiell acetylierte Cellulose in Dioxan als Lösungsmittel verfestigte sich zu einem Hauptvalenzgel, wenn die bereits erwähnten Dicarbonsäurechloride oder auch Siliciumtetrachlorid zugefügt wurden.

Beim Entzug des Lösungsmittels und bei der Wiederquellung zeigen diese Systeme genau die Eigenschaften, die man bei isotropen Hauptvalenzgelen erwartet. Ein Gelklümpchen schrumpft bei sorgfältigem Trocknen in allen Raumrichtungen gleichmässig, so dass ein verkleinertes Abbild des ursprünglichen Teilchens entsteht. Beim Eintauchen in das „Lösungsmittel“ quillt es rasch, bis die alte Form und Grösse genau wiederhergestellt sind. In der ausführlichen Publikation finden sich photographische Aufnahmen von zylindrischen und halbkugelförmigen Gelstücken im gequollenen, im trockenen und im wiedergequollenen Zustand. Sie belegen die Formbeständigkeit und die Reproduzierbarkeit des Zustandes maximaler

Quellung. Hier seien nur folgende Zahlen angeführt. Ein in Chloroform hergestelltes Gelstück von 600 mg schrumpfte im Exsikkator auf ein formgleiches von 18 mg. Im Lösungsmittel quoll es wieder auf 595 mg, wobei die Gestalt mit der des ursprünglichen aber auch in allen Einzelheiten übereinstimmte.

Alle derartigen Versuche sind natürlich unter sorgfältigem Wasserausschluss vorzunehmen. Wie diese Forderung erfüllt wurde, ist in der ausführlichen Publikation¹⁾ beschrieben. Dort finden sich auch nähere Angaben über die Herstellung und die analytische Charakterisierung der Methylcellulose.

Chemisches Laboratorium der Universität Bern
Organische Abteilung.

177. Die Beeinflussung des Histidinstoffwechsels durch Vitaminmangel und verschiedene Ernährungsweise

von S. Edlbacher und G. Viollier.

(8. IX. 43.)

In einer früheren Mitteilung konnte gezeigt werden²⁾, dass in der Leber von B₁-avitaminotischen Ratten die Histidase- und Arginasespaltung um das zwei- bis dreifache der Norm erhöht ist. Die Unterschiede waren besonders nach einer durch längere Zeit dauernden B₁-Mangelperiode deutlich vorhanden und blieben selbst 8 Tage nach Zufütterung von Hefe oder Aneurinhydrochlorid bei solchen scheinbar geheilten Tieren erkennbar, so dass also bei Aneurin-Avitaminose eine tiefgreifende Umstellung im Stoffwechsel bestimmter Aminosäuren angenommen werden musste.

Nun ist es im Laufe der letzten Jahre gelungen, von der Histidase ein weiteres, scharf umrissenes und ausreichend charakterisiertes Enzym abzutrennen, welches den Imidazolring der Urocaninsäure (Imidazolyl-acrylsäure) unter Abspaltung von Ammoniak zu öffnen vermag und daher als Urocaninase bezeichnet wird. Die beiden Enzyme sind auf adsorptivem Wege voneinander getrennt und in bezug auf ihre Hemmbarkeit näher untersucht worden³⁾. Es lag daher nahe, auch das Verhalten der Urocaninsäurespaltung bei B₁-Avitaminose zu untersuchen. Wie in einer vorläufigen Mitteilung berichtet⁴⁾ wurde, fanden sich auch für die Urocaninsäurespaltung

¹⁾ Diss. P. von Tavel, Bern, 1939.

²⁾ Z. physiol. Ch. **265**, 72 (1940).

³⁾ Z. physiol. Ch. **276**, 108 (1942).

⁴⁾ Helv. physiol. et pharm. acta **1**, C 43 (1943).