

Farbe mit derjenigen des freien *p*-Aminoazobenzols folgt, daß es die *o*-Aminogruppe ist.

Das zweisäurige Salz hingegen, welches bei Salzbildung auch der zweiten Aminogruppe die Farbe des freien Azobenzols annehmen müßte, ist rot wie das einsäurige Aminoazobenzol; diese Farbvertiefung wird am einfachsten durch Salzbildung am Azostickstoff erklärt<sup>1)</sup>.

Die weitere Untersuchung der Azokörper in der durch diese Mitteilung angedeuteten Richtung, insbesondere deren spektrographisches Studium, ist in Angriff genommen.

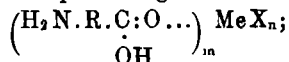
Lausanne, 6. Oktober 1915. Org. Laboratorium der Universität.

### 230. P. Pfeiffer: Über das Verhalten der Aminosäuren gegen Neutralsalze in wäßriger Lösung.

[Nach Versuchen von J. Würgler und Fr. Wittka.]

(Eingegangen am 16. Oktober 1915.)

In der letzten Arbeit über die Neutralsalz-Verbindungen der Aminosäuren und Polypeptide<sup>2)</sup> habe ich die Frage nach der Konstitution dieser Verbindungen erörtert. Es konnte gezeigt werden, daß wir es hier mit Molekülverbindungen zu tun haben, bei denen das Metallatom der Metallsalz-Komponente koordinativ an das Carbonylsauerstoffatom der Aminosäure-Komponente gebunden ist, gemäß der Formel:



hinzugefügt wurde, daß sich die negativen Reste X auch in ammoniumsalzartiger Bindung oder auch in zweiter Sphäre, wie bei den Metallammoniumsalzen, befinden können.

Im Folgenden soll die speziell für physiologische Vorgänge wichtige Frage behandelt werden, ob unsere Neutralsalz-Verbindungen nur im festen Zustand existieren, oder auch in wäßriger Lösung, im Gleichgewicht mit ihren Komponenten und Komplex-Ionen.

Zur Entscheidung dieser Frage haben wir die Löslichkeit der Aminosäuren bei Gegenwart von Neutralsalzen untersucht, außerdem auch Drehungsmessungen und Molekulargewichtsbestimmungen in salzhaltigen, wäßrigen Aminosäurelösungen durchgeführt. Alle drei Me-

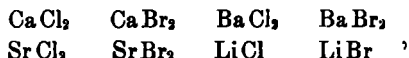
<sup>1)</sup> Es ist nicht wahrscheinlich, daß die Verhältnisse bei der Salzbildung der Azokörper überall gleich klar hervortreten werden, da vorauszusehen ist, daß in manchen Fällen in den Lösungen Gleichgewichte verschiedener Salze vorkommen werden.

<sup>2)</sup> P. Pfeiffer und Fr. Wittka, B. 48, 1289 [1915]; siehe auch P. Pfeiffer und J. v. Modelski, H. 81, 331 [1912]; 85, 1 [1913].

thoden haben nun das gleiche, von uns erwartete Resultat ergeben, daß in den salzhaltigen, wäßrigen Lösungen der Aminosäuren ein Teil der letzteren mit den Salzen und ihren Ionen zu Komplexen verbunden ist. Wir dürfen daher den Schluß ziehen, daß auch in salzhaltigen, wäßrigen Eiweißlösungen, vor allem auch im Blutserum und verwandten Medien, Neutralsalz-Verbindungen vorkommen. Es wird so die Tatsache, daß die Zell- und Gefäßflüssigkeiten der Organismen salzhaltig sind, von einer neuen Seite aus beleuchtet. Auch scheint es mir, daß man nach unseren Resultaten in der Deutung physikochemischer Messungen bei physiologischen Lösungen sehr vorsichtig sein muß.

Besonders eingehend wurde die Beeinflussung der Löslichkeit von Aminosäuren durch Neutralsalze studiert<sup>1)</sup>. Von Aminosäuren kamen Glykokoll, Leucin, Phenylalanin, Asparaginsäure und Glutaminsäure zur Verwendung, von Salzen die wichtigsten Alkali- und Erdalkalisalze. Die Versuche wurden so durchgeführt, daß wäßrige Salzlösungen von bekanntem Gehalt solange bei konstanter Temperatur mit einem Überschuß an Aminosäure geschüttelt wurden, bis Sättigung an letzterer herrschte; der Gehalt der Lösungen an Aminosäure wurde titrimetrisch nach der Formolmethode von Sørensen bestimmt<sup>2)</sup>.

Als für uns wichtigstes Resultat der Löslichkeitsbestimmungen sei hervorgehoben, daß in allen den Fällen, in denen feste Verbindungen zwischen Salz und Aminosäure existieren, starke Löslichkeitserhöhungen eintreten. v. Modelski und ich<sup>3)</sup> konnten die gut kristallisierten Glykokoll-Verbindungen der Salze:



darstellen; parallel damit ist Glykokoll in den wäßrigen Lösungen dieser Salze bedeutend löslicher als in reinem Wasser. Diese Tatsache ist nur unter der Voraussetzung verständlich, daß die Neutralsalz-Verbindungen der Aminosäuren nicht nur im festen Zustand bestehen, sondern auch — im Dissoziationsgleichgewicht — in wäßriger Lösung. Der Teil der Aminosäure, der in Lösung an ein Salz resp. dessen Ionen gebunden ist, kommt eben für das Lösungsgleichgewicht zwischen dem Bodenkörper und der gelösten Aminosäure nicht mehr in Betracht.

<sup>1)</sup> Versuche von J. Würigler.

<sup>2)</sup> Einzelheiten über die Ausführung der Versuche siehe Dissertation von J. Würigler, Zürich 1914.

<sup>3)</sup> l. c.

Selbstverständlich sind Löslichkeitserhöhungen auch dann beobachtet worden, wenn es bisher nicht gelingen wollte, die betreffenden Neutralsalzverbindungen in kristallisiertem Zustand zu fassen. Daß wir in einer Reihe von Fällen auch ganz erhebliche Löslichkeitserniedrigungen antreffen, ist vor kurzem bei anderer Gelegenheit erwähnt worden<sup>1)</sup>; diese kommen aber nach unserer bisherigen Erfahrung nie dann vor, wenn feste Verbindungen zwischen Salz und Aminosäure existieren.

Von den zahlreichen Löslichkeitsbestimmungen sollen im Folgenden nur solche mitgeteilt werden, die mit dem Thema der vorliegenden Arbeit im direkten Zusammenhang stehen.

#### a) Vergleich der Salze.

1 ccm Barylösung enthält 0.015207 g  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ ; Temperatur 20°; Löslichkeit des Glykokolls in reinem Wasser bei 20° 0.3925 g pro 2 ccm. Die angegebenen ccm Barytlauge sind mit 2.5 zu multiplizieren, um den Glykokollgehalt in 2 ccm Lösung zu erhalten (siehe Würigler, Dissertation).

Mole Salz in 10 ccm angewandter Lösung	ccm Barytlauge	Gramm Glykokoll in 2 ccm	Löslichkeitszunahme	
			in Grammen pro 2 ccm	in Prozenten
$\text{BaCl}_2$ 0.005	14.27	0.4751	0.0828	21.11
$\text{BaBr}_2$ 0.005	14.74	0.4908	0.0985	25.11
$\text{SrCl}_2$ 0.005	14.19	0.4724	0.0801	20.42
$\text{SrBr}_2$ 0.0049	14.66	0.4881	0.0958	24.42
$\text{CaCl}_2$ 0.0057	14.56	0.4848	0.0925	23.58
$\text{CaBr}_2$ 0.0051	15.00	0.4994	0.1071	27.30
$\text{LiCl}$ 0.0096	11.12 <sup>2)</sup>	0.4188	0.0265	6.75
$\text{LiBr}$ 0.0097	11.27 <sup>2)</sup>	0.4245	0.0322	8.21

#### b) Einfluß der Konzentration des Salzes.

1 ccm Barytlauge enthält 0.017214 g  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ ; Temperatur 20°; Löslichkeit des Glykokolls in reinem Wasser bei 20° 0.3925 g in 2 ccm.

Mole Salz in 10 ccm angewandter Lösung	ccm Barytlauge	Gramm Glykokoll in 2 ccm	Löslichkeitszunahme	
			in Grammen pro 2 ccm	in Prozenten
$\text{SrCl}_2$ 0.0025	14.57	0.4259	0.0336	8.56
$\text{SrCl}_2$ 0.005	15.94	0.4662	0.0739	18.79
$\text{SrCl}_2$ 0.01	17.79	0.5210	0.1285	32.76
$\text{SrCl}_2$ 0.02	35.2 ccm "/ <sub>10</sub> -NaOH	0.6602	0.2679	68.29

<sup>1)</sup> P. Pfeiffer und Fr. Wittka, B. 48, 1041 [1915].

<sup>2)</sup> Zu diesen Titrationen ist die Barytlauge der Versuche b) benutzt worden.

Für die Messung der Drehungswerte salzhaltiger Aminosäure-Lösungen<sup>1)</sup> brauchten wir aktives Alanin. *l*-Alanin wurde nach der Vorschrift von E. Fischer<sup>2)</sup> durch Spaltung der Benzoylverbindung des inaktiven Alanins mit Brucin dargestellt; *d*-Alanin wurde käuflich bezogen: das Präparat war durch Hydrolyse von Seide erhalten worden. Auf absolute Reinheit des *d*- und *l*-Alanins in optischem Sinne wurde entsprechend dem Zweck der vorliegenden Arbeit kein besonderer Wert gelegt. Von Neutralsalzen nahmen wir wasserfreies Chlorlithium und Chlorcalcium-hexahydrat.

Die abgewogene Menge Alanin wurde im 10 ccm-Kölbchen in Wasser gelöst; die Lösung wurde polarisiert, etwas eingedampft, mit der abgewogenen Menge Neutralsalz versetzt, auf 10 ccm aufgefüllt und wieder polarisiert. Dann wurde der Versuch in gleicher Art und Weise fortgesetzt, um die Wirkung größerer Salzmenge kennen zu lernen. Die wichtigsten Resultate unserer Versuche sind im Folgenden zusammengestellt:

a) Versuche mit *l*-Alanin.

ccm	<i>l</i> -Alanin in Grammen	LiCl in Molen pro Mol Alanin	$[\alpha]_D$	ccm	<i>l</i> -Alanin in Grammen	CaCl <sub>2</sub> in Molen pro Mol Alanin	$[\alpha]_D$
10	0.3588	—	— 2.51°	10	0.8000	—	— 2.50°
10	0.3588	5 Mole	— 3.93°	10	0.8000	1 Mol	— 2.75°
10	0.3588	10 „	— 4.46°	10	0.8000	5 Mole	— 13.13°
10	0.3588	20 „	— 9.76°	10	1.2142	2 „	— 3.12°
				10	1.2142	4 „	— 10.50°
				25	1.2142	4 „	— 4.10°
				25	1.2142	6 „	— 4.71°
				25	1.2142	8 „	— 13.73°

b) Versuche mit *d*-Alanin.

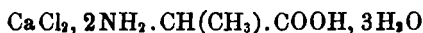
ccm	<i>d</i> -Alanin in Grammen	CaCl <sub>2</sub> in Molen pro Mol Alanin	$[\alpha]_D$	ccm	<i>d</i> -Alanin in Grammen	CaCl <sub>2</sub> in Molen pro Mol Alanin	$[\alpha]_D$
10	0.5000	—	+ 1.26°	10	1.000	—	+ 2.10°
„	„	1 Mol	+ 1.42°	„	„	1 Mol	+ 2.25°
„	„	2 Mole	+ 1.60°	„	„	2 Mole	+ 3.15°
„	„	3 „	+ 2.28°	„	„	3 „	+ 5.65°
„	„	4 „	+ 2.88°	„	„	4 „	+ 8.70°
„	„	5 „	+ 3.93°	„	„	5 „	+ 11.85°
„	„	6 „	+ 5.40°				
„	„	7 „	+ 7.10°				
„	„	8 „	+ 8.92°				

<sup>1)</sup> Versuche von Fr. Wittka.

<sup>2)</sup> B. 83, 3454 [1899].

Wie uns diese Tabellen zeigen, wird die spezifische Drehung des aktiven Alanins durch Neutralsalze erheblich beeinflusst. Diese Beeinflussung wächst mit der Zunahme der Salz- und Aminosäure-Konzentration der Lösung, so daß schließlich Drehungswerte erhalten werden, die fast den sechsfachen Betrag des ursprünglichen Wertes erreichen.

Die Salze stellen sich also in ihrer Wirkung auf die spezifische Drehung der Aminosäuren ganz den Mineralsäuren an die Seite. Die Wirkung der letzteren wird nun allgemein auf Salzbildung, also auf Addition von Säure zurückgeführt. Wir werden daher auf Grund unserer Versuche annehmen dürfen, daß die Drehungsänderungen aktiver Alaninlösungen durch die Salze  $\text{CaCl}_2$  und  $\text{LiCl}$  ebenfalls durch die Bildung von Molekülverbindungen bedingt werden, zumal v. Modelski und ich<sup>1)</sup> zeigen konnten, daß inaktives Alanin mit Chlorcalcium und Chlorthium die krystallisierten Verbindungen



gibt.

Bei den Molekulargewichtsbestimmungen<sup>2)</sup> salzhaltiger Aminosäurelösungen wurde zunächst die Gefrierpunktserniedrigung der Salzlösung festgestellt; dann wurde die Aminosäure hinzu gegeben und wiederum die Depression gemessen. Von Neutralsalzen kamen Lithium-, Natrium-, Kalium-, Strontium- und Bariumsalze zur Verwendung; als Aminosäure nahmen wir Glykokoll.

In allen von uns untersuchten Fällen ist die Gefrierpunktsdepression von Salz plus Glykokoll kleiner als die Summe der durch Salz und Glykokoll bedingten Einzelerniedrigungen. Je größer wir die Konzentration der Lösung an Salz und Glykokoll wählen, um so größer ist auch die Differenz beider Werte, selbst dann, wenn wir sie auf gleiche Glykokollmenge beziehen.

Auf Zusatz von Glykokoll zu den Lösungen der Neutralsalze verschwinden also Moleküle, so daß wir wiederum zu dem Resultat kommen, daß in den Neutralsalz-haltigen Lösungen der Aminosäuren Molekülverbindungen vorhanden sind.

<sup>1)</sup> l. c.

<sup>2)</sup> Versuche von J. Würgher.

a) Wirkung der Erdalkalisalze<sup>1)</sup>.

Gramm Wasser	Auf- gelöste Salzmenge in Molen	Gefrier- punkts- erniedri- gung	Zu- gesetztes Glykokoll in Molen	Gefrier- punkts- erniedri- gung $\Delta t_1$	Theoreti- sche Er- niedrigung $\Delta t_2$	$100 \frac{\Delta t_2 - \Delta t_1}{\Delta t_2}$
20.01	SrCl <sub>2</sub> , 6H <sub>2</sub> O 0.00125	0.318°	0.0025	0.211°	0.230°	8.3
20.01	SrCl <sub>2</sub> , 6H <sub>2</sub> O 0.0025	0.620°	0.005	0.387°	0.460°	15.9
20.05	SrCl <sub>2</sub> , 6H <sub>2</sub> O 0.005	1.111°	0.01	0.719°	0.918°	21.7
20.05	SrBr <sub>2</sub> 0.00125	0.304°	0.0025	0.208°	0.229°	9.2
20.02	SrBr <sub>2</sub> 0.0025	0.590°	0.005	0.382°	0.460°	17.0
20.04	SrBr <sub>2</sub> 0.005	1.165°	0.01	0.703°	0.918°	23.4
19.95	Sr(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 0.00125	0.315°	0.0025	0.205°	0.231°	11.3
20.02	Sr(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 0.0025	0.607°	0.005	0.362°	0.460°	21.3
20.06	Sr(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 0.005	1.086°	0.01	0.644°	0.917°	29.8

## b) Wirkung der Alkalisalze.

Gramm Wasser	Auf- gelöste Salzmenge in Molen	Gefrier- punkts- erniedri- gung	Zu- gesetztes Glykokoll in Molen	Gefrier- punkts- erniedri- gung $\Delta t_1$	Theoreti- sche Er- niedrigung $\Delta t_2$	$100 \frac{\Delta t_2 - \Delta t_1}{\Delta t_2}$
20.08	LiCl 0.0025	0.455°	0.0025	0.218°	0.229°	4.8
20.03	LiCl 0.005	0.918°	0.005	0.429°	0.459°	6.5
20.03	LiCl 0.01	1.860°	0.01	0.800°	0.919°	13.0
20.00	KJ 0.0025	0.451°	0.0025	0.219°	0.230°	4.8
20.00	KJ 0.005	0.881°	0.005	0.428°	0.460°	7.0
19.99	KJ 0.01	1.739°	0.01	0.782°	0.921°	15.1

Zürich, Chemisches Universitätslaboratorium, im September 1915.

<sup>1)</sup>  $\Delta t_1$  = Gefrierpunktserniedrigung, hervorgerufen durch das zugesetzte Glykokoll;  $\Delta t_2$  = für Glykokoll theoretisch berechnete Depression.