

nach Zugabe von Wasser beim Verdunsten der Lösung in gelben Prismen aus. Smp. 172—173° (korr.).

$C_{25}H_{22}O_{16}N_{10}S$	Ber. C 40,01	H 2,95	N 18,66%
	Gef. „ 40,29	„ 3,16	„ 18,71%

b) Freie Säure (Bromid-hydrobromid). 1,7 g des Methylesters werden mit 30 cm³ Wasser und 5 cm³ konzentrierter Bromwasserstoffsäure zwei Stunden lang auf dem Wasserbad erhitzt. Die Lösung wird im Vakuum zur Trockne gebracht, der Rückstand in einigen Tropfen Wasser gelöst und mit Eisessig versetzt. Die nach einiger Zeit ausgefallenen Nadeln werden in der gleichen Weise umkrystallisiert. Farblose Nadelchen vom Smp. 270—271° (korr.).

$C_{12}H_{16}O_2N_4SBr_2(+H_2O)$	Ber. C 31,43	H 3,96	Br 34,9%
	Gef. „ 31,38	„ 3,86	„ 34,14%

c) Säureamid (Bromid-hydrobromid). 1,5 g des Esters werden in 100 cm³ konzentriertem Ammoniak gelöst. Nach 3 Tagen wird die Lösung im Vakuum zur Trockne gebracht und mit 7,5 cm³ 1,25-n. Bromwasserstoffsäure und 10 cm³ Alkohol versetzt. Das Gemisch wird wieder zur Trockne gebracht, in einigen Tropfen Wasser gelöst und aus Methanol-Essigester umkrystallisiert. Farblose Prismen. Smp. 260—262° unter Zersetzung.

$C_{12}H_{17}ON_5SBr_2$	Ber. N 15,95	Gef. N 16,36%
-------------------------	--------------	---------------

Pikrat des Säureamids. Hergestellt auf die übliche Weise. Gelbe Nadeln vom Smp. 228—232° unter Zersetzung.

$C_{24}H_{21}O_{15}N_{11}S$	Ber. C 39,19	H 2,88	N 20,95%
	Gef. „ 39,44	„ 3,02	„ 21,25%

Basel, Wissenschaftliche Laboratorien der
F. Hoffmann-La Roche & Co. A.G.

116. Über das Gleichgewicht von Formaldehyd mit Glycin und Alanin

von Emil Baur.

(6. VIII. 41.)

Im Vorjahre teilte ich Messungen an Glycin-Formaldehyd-Lösungen mit¹⁾, die über den Methin-Komplex (*Schiff'sche Base*) orientieren sollten. Da sich nach *Sørensen* die Aminosäuren über den Methin-Komplex titrieren lassen, ging ich davon aus, dass der Komplex mindestens eine mittelstarke Säure sein müsse. Die Komplexbildung selbst und die elektrolytische Dissoziation des Komplexes — im Falle des Glycins: die Säure $CH_2:N \cdot CH_2 \cdot COOH$ — sollten

¹⁾ Helv. **23**, 233 (1940).

durch eine Kombination von Gefrierpunktmessungen und Dampfdruckmessungen des Formaldehyds herausgebracht werden. Dabei ergab sich der Methinkomplex als starke Säure. Herr *Wolfgang Pauli* sen. hat mich nun darauf aufmerksam gemacht, dass dies ganz unwahrscheinlich sei. In der Tat müssten dann auch die Leitfähigkeiten viel grösser sein, als sie tatsächlich gefunden werden. Die *Sørensen*-Titration geht auch mit schwacher Säurefunktion des Komplexes, wenn, wie eben die Vorschrift lautet, die Bildung des Salzes durch Titration auf p_H 9 erzwungen und die Komplexbildung zugleich durch hochkonzentrierten Formaldehyd (mit „Formol“) aufs äusserste befördert wird.

Die von mir durchgeführte Berechnungsart stützte sich auf Bestimmungen des Partialdruckes von Formaldehyd verdünnter Glycin-Formaldehyd-Lösungen. Diese sind bei ihrer Kleinheit (Grössenordnung 10^{-2} mm Hg) sehr schwierig und in der Tat nicht mit der nötigen Genauigkeit durchzuführen. Wir mussten, um den aufgetretenen Widerspruch entweder zu bestätigen oder zu beseitigen, die Dampfdruck-Methode durch ein besseres Verfahren ersetzen. Als solches bietet sich die Löslichkeitserhöhung, die weit bequemer zu handhaben ist, allerdings eingeschränkt auf ein durch die hohe Löslichkeit des Glycins beschränktes Gebiet. Nachfolgend werden diese Messungen am Glycin- und am Alanin-System mitgeteilt.

Nun erweisen p_H -Messungen an den gleichen Systemen, dass die elektrolytischen Dissoziationsgrade der Komplexe stets äusserst geringfügig bleiben. Man kann daher den ionisierten Anteil bei der Auswertung der Komplexkonstanten völlig vernachlässigen. Dies gilt auch für die Gefrierpunkte der verdünnteren Systeme. Es ist bei dieser Sachlage ein Leichtes, aus den beiderlei Messungen ohne weitere Korrektur die Komplexkonstanten zu berechnen. Hat man diese, so kann durch Heranziehung von Leitfähigkeit und p_H versucht werden, auch die elektrolytischen Dissoziations-Konstanten zu gewinnen. Hier sind wir indessen nicht ans Ziel gelangt, wie zu zeigen sein wird.

1. Gefrierpunkte an Lösungen von Glycin und Formaldehyd.

Da nach p_H -Messungen die Systeme keine höheren Ionen-Konzentrationen (H^+ und Komplexanion) als 10^{-4} Mol/L besitzen, so geht aus der gemessenen Gefrierpunktserniedrigung sofort die Konzentration des Komplexes hervor. Wir erhielten die Werte der folgenden Tabelle 1, worin bedeutet: Glyk = Glykokoll (= Glycin); Form = Formaldehyd; Meth = Methin = $CH_2:N \cdot CH_2 \cdot COOH$; K = Komplexkonstante.

Tabelle 1.
Gefrierpunkte nach *G. Vidor*.

Ausgangs- zusammensetzung	genom- mene Gesamt- Molarität	Molarität nach dem Gefrier- punkt	Form frei Mol/L	Glyk frei Mol/L	Meth ge- bildet Mol/L	$K = \frac{(\text{Meth})}{(\text{Glyk})(\text{Form})}$
1,0-m. Form + 1,0-m. Glyk . .	2,00	1,670	0,67	0,67	0,33	0,730
0,94-m. Form + 0,94-m. Glyk	1,894	1,530	0,583	0,583	0,364	1,070
0,413-m. Form + 0,810-m. Glyk	1,230	1,135	0,318	0,715	0,095	0,410
0,25-m. Form + 1,00-m. Glyk	1,250	1,140	0,140	0,890	0,110	0,890
1,00-m. Form + 0,25-m. Glyk	1,250	1,140	0,890	0,140	0,110	0,890
0,5-m. Form + 0,5-m. Glyk . .	1,00	0,915	0,415	0,415	0,085	0,495
Mittel $K = 0,747$						

2. Löslichkeiten von Glycin in Lösungen von Formaldehyd.

Temp. 25°. Die in der Spalte „Löslichkeit“ in Tabelle 2 aufgeführten Werte der *Sørensen*-Titration wird gewonnen mit dem von *Kolthoff*¹⁾ angegebenen Indikator, bestehend aus 1 Teil 0,1-proz. Thymolblau + 3 Teilen 0,1-proz. Phenolphthalein in 50-proz. Alkohol. 1 cm³ dieses Indikators wird zu 50 cm³ 38-proz. Formaldehydlösung (Formol) hinzugefügt. Davon je 2 cm³ zu 5 cm³ gesättigter Aminosäurelösung hinzugefügt und aus Mikrobürette mit 5 cm³ Inhalt mit 1,0-n. NaOH auf p_H 9 titriert. Der Indikator schlägt von Gelb nach Violett um. Zum Farbvergleich dient Boratpuffer von p_H 9. — Die Systeme mit Bodenkörper werden in verschlossenen Flachgefäßen im Thermostaten bis zur Erreichung des Sättigungsgleichgewichtes geschwenkt.

Tabelle 2.
Löslichkeiten von Glycin bei 25° nach *E. Koller*.

Form genommen Mol/L	Löslichkeit nach der <i>Sørensen</i> - Titration Mol/L	Meth Mol/L	Form frei Mol/L	Form × Glyk	$K = \frac{(\text{Meth})}{(\text{Form})(\text{Glyk})}$
0	2,60				
0,33	2,83	0,23	0,10	0,260	0,89
0,42	2,91	0,31	0,11	0,285	1,09
0,67	3,06	0,46	0,21	0,509	0,91
1,00	3,28	0,68	0,32	0,830	0,82
1,33	3,52	0,92	0,41	1,06	0,86
2,00	3,82	1,22	0,78	2,02	0,60
Mittel $K = 0,86$					

Die Komplexkonstante K nach Gefrierpunkt und Löslichkeit stimmt befriedigend. Das Generalmittel wäre $K = 0,805$. Wir werden weiter unten den Wert $K = 0,8$ zur Rechnung gebrauchen.

¹⁾ *Kolthoff*, Massanalyse, Bd. 2, S. 169 (1931).

3. Löslichkeiten von Alanin in Lösungen von Formaldehyd.

Verfahren wie unter 2. Tabelle 3 enthält die Messungen. Einrichtung wie Tabelle 2.

Tabelle 3.
Löslichkeiten von Alanin bei 25° nach F. Niggli.

Form genommen Mol/L	Löslichkeit nach der Sørensen- Titration Mol/L	Meth Mol/L	Form frei Mol/L	Form × Alanin	$K = \frac{(\text{Meth})}{(\text{Form})(\text{Alanin})}$
0	1,32				
0,35	1,37	0,05	0,30	0,396	0,127
0,70	1,42	0,10	0,60	0,790	0,127
1,00	1,46	0,14	0,86	1,135	0,123
1,39	1,51	0,19	1,20	1,585	0,120
1,75	1,55	0,23	1,52	2,01	0,115
2,13	1,58	0,26	1,87	2,47	0,106
2,56	1,60	0,28	2,28	2,88	0,098
				Mittel	$K = 0,12$

Das leichte Fallen der übrigens bemerkenswert guten Konstante ist wohl auf Aktivitätsbeeinflussung zurückzuführen.

4. Acidität von Glykokoll und Alanin mit Formaldehyd.

Es wird mit der Chinhydron-Elektrode das p_H der in Tabelle 4 verzeichneten Lösungen gemessen. Formaldehyd beeinträchtigt das C_H nach *Ruetschi*¹⁾ nicht.

Die Formaldehyd-Lösungen werden, um ihre Eigenacidität möglichst niedrig zu halten, durch Destillation aus Paraformaldehyd hergestellt und hierauf über Calciumcarbonat (zur Zurückhaltung von Ameisensäure) redestilliert. 0,5-m. Formaldehyd dieser Zubereitung hat p_H 5,5 ($C_H = 3 \times 10^{-6}$). In der Tabelle 4 werden die C_H -Werte der reinen Aminosäuren mit denjenigen der Formaldehyd-haltigen verglichen.

Tabelle 4.
 p_H nach H. Kreutzinger.

Zusammengesetzte Lösungen	C_H	reine Lösungen	C_H
1-m. Glyk + 1-m. Form	85×10^{-6}	1-m. Glyk	4×10^{-6}
0,5-m. Glyk + 0,5-m. Form . . .	33×10^{-6}	0,5-m. Glyk	5×10^{-6}
0,25-m. Glyk + 0,25-m. Form . .	15×10^{-6}	0,25-m. Glyk	5×10^{-6}
1-m. Alanin + 1-m. Form	13×10^{-6}	1-m. Alanin	3×10^{-6}
0,5-m. Alanin + 0,5-m. Form . .	9×10^{-6}	0,5-m. Alanin	4×10^{-6}
0,25-m. Alanin + 0,25-m. Form .	5×10^{-6}	0,25-m. Alanin	4×10^{-6}

¹⁾ Helv. **24**, 754 (1941).

Wie man sieht, hält sich der Aciditätszuwachs in sehr mässigen Grenzen. Die Säurestärke der Methinkomplexe ist also recht schwach. Beim Glycin wird in molarer Lösung die Acidität verzwanzigfacht; beim Alanin nur vervierfacht. Mit wachsender Verdünnung nimmt der Überschuss naturgemäss schnell ab. Beim Glycinkomplex wird wenigstens anfänglich die elektrolytische Dissoziation des Glycins so weit zurückgedrängt, dass man annähernd wohl setzen darf:

$$C_{\text{H}} \text{ gemessen} = C_{\text{Methinanion}}$$

Unter der weiteren Voraussetzung, dass dem Methinanion nichts weiteres begegnet (z. B. dass es sich nicht an ein Glycinzwitterion anhängt oder dgl.) kann man versuchen, die elektrolytische Dissoziationskonstante

$$K_{\text{Diss.}} = \frac{(\text{H}') (\text{Methinanion})}{(\text{Methin})}$$

auszurechnen, indem „(Methin)“ aus der Komplexkonstante für Glycin $K = 0,8$ (siehe oben) gewonnen wird.

Man erhält die Werte der Tabelle 5, leider keine Konstante unter $K_{\text{Diss.}}$. (H') nimmt mit der Verdünnung zu rasch ab. Der Grund liegt zweifellos in der Pufferwirkung der gleichzeitig anwesenden Aminosäure, welche (H') verschluckt. Immerhin ist die Grössenordnung festgelegt. $\text{CH}_2 : \text{N} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$ scheint noch etwas schwächer zu sein als Kohlensäure in erster Säurefunktion.

Tabelle 5.

Ausgangs- zusammensetzung	Methin gerechnet mit $K = 0,8$	$(\text{H}')^2$ potentio- metrisch	$K_{\text{Diss.}}$
1-m. Glyk+1-m. Form . . .	0,35	$0,72 \times 10^{-8}$	$2,08 \times 10^{-8}$
0,5-m. Glyk+ 0,5-m. Form .	0,12	$0,097 \times 10^{-8}$	$0,81 \times 10^{-8}$
0,25-m. Glyk+ 0,25-m. Form .	0,063	$0,023 \times 10^{-8}$	$0,36 \times 10^{-8}$

5. Leitfähigkeit von Glycin und Alanin mit Formaldehyd.

Auch aus der Leitfähigkeit kann man auf den Ionisationsgrad des Methinkomplexes schliessen. Tabelle 6 enthält die für den Glycin-Komplex zur Verfügung stehenden Daten. Bereitung der Formaldehyd-Lösungen wie oben. Spez. Leitfähigkeit in 1-m. Lösung = 20×10^{-6} rez. Ohm. Wasser doppelt destilliert über Bariumhydroxyd und Permanganat mit der spez. Leitfähigkeit = $1,4 \times 10^{-6}$ rez. Ohm. 1-m. Glycinlösung hatte die spez. Leitfähigkeit = 30×10^{-6} rez. Ohm. Alles bei 25°. Philoskop-Messbrücke der *Philips A.G.*

Tabelle 6 enthält die Ausgangszusammensetzung, die Konzentration des Komplexes nach Rechnung, die spez. Leitfähigkeit, woraus die Verdünnung v in cm^3 des Methins und deren molare Leitfähigkeit λ_v zu berechnen ist.

Tabelle 6.

Leitfähigkeit von Glycin-Formaldehyd-Lösungen bei 25° nach H. Rüf.

Ausgangs- zusammen- setzung		Methin gerechnet mit K = 0,8	spez. Leitfähigkeit rez. Ohm	Ver- dünnung des Methin v cm ³	λ_v Molare Leit- fähigkeit des Methin
Glyk	Form				
2-m.	2-m.	0,92-m.	2100×10^{-6}	1090	2,29
1-m.	1-m.	0,35-m.	750×10^{-6}	2860	2,14
0,5-m.	0,5-m.	0,12-m.	180×10^{-6}	8350	1,50
0,25-m.	0,25-m.	0,063-m.	50×10^{-6}	15900	0,80
					$\lambda_\infty = \text{etwa } 375$

Die Absicht, Dissoziationsgrade zu berechnen und hieraus K_{Diss} scheitert, da λ_v mit der Verdünnung nicht zu-, sondern abnimmt. Der Grund ist wieder in der Pufferung der freien Aminosäure zu suchen, wodurch die Grundlage der Rechnung, nämlich Gleichheit von C_{H^+} und $C_{\text{Methinanon}}$, zerstört wird. Grössenordnungsmässig besteht mit den p_{H} -Messungen etwa Übereinstimmung. In 1-m. Lösung ist die Leitfähigkeit des Systems 25mal grösser als diejenige des Glycins, während potentiometrisch ein Faktor 20 gefunden worden war. Die Dissoziationsgerade würden allerdings nach der Leitfähigkeit um mindestens eine Grössenordnung höher herauskommen. Was der Wahrheit näher kommt, muss dahingestellt bleiben.

6. Reaktionsgeschwindigkeit.

Wie ich in meiner eingangs angeführten Mitteilung erklärte, hat uns an der Methin-Bildung nichts anderes als deren Geschwindigkeit im Hin- und Gegensinn interessiert. Wider Erwarten stellt sich das Gleichgewicht von beiden Seiten her äusserst schnell ein. Bei 25° ist nach etwa 1 Minute die Reaktion sowohl beim Glycin als auch beim Alanin schon abgelaufen. Hierdurch wird eine Untersuchung über etwaige Einseitigkeit der Gleichgewichtseinstellung vereitelt. Da jedoch der Ablauf für die Praxis der *Sørensen*-Titration, vielleicht auch gelegentlich für physiologische Fragen, und vor allem für die systematische Stellung schneller Nüchternen-Reaktionen von Belang sein könnte, so gebe ich auf Figg. 1 und 2 einige Kurven wieder, die den Reaktionsverlauf bei 25° für Glycin und Alanin nach der Leitfähigkeit darstellen.

Auf Fig. 1 (Glycin) gehen die Zeitkurven wegen des kleinen Masstabes nahe vom Nullpunkt aus; auf Fig. 2 (Alanin) stehen am Zeitnullpunkt die Leitfähigkeiten des Alanins, die zuvor an reinen Alanin-Lösungen gemessen worden waren. Sie sind etwa viermal grösser als die entsprechenden des Glycins. Der Rückgang der Leitfähigkeit bei der Verdünnung auf das Doppelte ist im Alanin-System geringfügig, da die Komplex-Konzentrationen im Messbereich über-

haupt niedrig liegen. Der Zerfall des Komplexes wird durch Verdünnen schon fertiger Komplex-Lösungen in Gang gesetzt. Die zugehörigen Kurven sieht man auf der rechten Seite der Figg. 1 und 2.

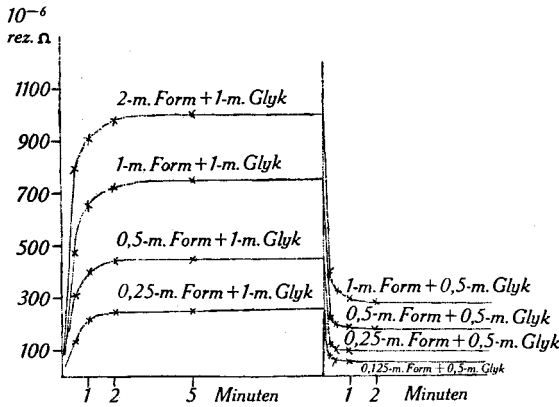


Fig. 1.

Leitfähigkeiten im Glycin-System nach H. Rüf.

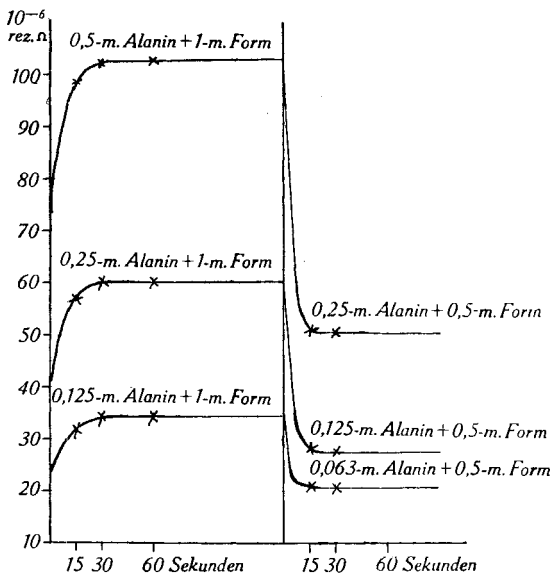


Fig. 2.

Leitfähigkeiten im Alanin-System nach H. Baum.

Beim Glycin war Gleichgewicht nach 2 Minuten erreicht; beim Alanin schon nach $\frac{1}{2}$ Minute. Eine irgend augenfällige Dissymmetrie ist nicht kenntlich.

7. Literatur.

Ich stelle eine Auswahl von Belegstellen zusammen, um Vergleiche zu erleichtern. Es würde zu weit führen und vielleicht zu wenig fördern, die wechselnden Absichten der verschiedenen Autoren abzuwägen.

Julius Svehla, B. **56**, 331 (1923). Über das Gleichgewicht zwischen Aminosäuren und wässrigen Formaldehyd-Lösungen.

H. Ensslin, Diss. Zürich E.T.H. Nr. 465 (1926). Über Aldehyd-Aminoverbindungen.

Henri Francis Holden und *Mavis Freeman*, C. **1932**, I, 376. Über die Reaktionsgeschwindigkeit von Formaldehyd mit Aminosäuren.

Tetuo Tomiyana. J. Biol. Chem. **111**, 51 (1935). Gleichgewichtskonstante der Reaktion Formaldehyd-Aminosäure mit potentiometrischer Titration.

Augustus Wadsworth und *Mary C. Pangborn*, J. Biol. Chem. **116**, 423 (1936). Über die Reaktion von Aminosäuren mit Formaldehyd.

Milton Levy und *David E. Silbermann*, J. Biol. Chem. **118**, 723 (1937). Über die Reaktion von Aminosäuren mit Formaldehyd und Betrachtungen über die Formol-Titration.

Ada Bolaffi, Biochim. therap. sperim. **22**, 107 (1935). Milano. Betrachtungen über die Reaktion der Aldehyde mit Aminosäuren.

Zürich, Physikalisch-chem. Laboratorium der
Eidg. Techn. Hochschule.

**117. Über Ionenkonzentrationsgradienten und ihre
biochemische Bedeutung¹⁾**

I. Mitteilung
von **F. Almasy**.
(9. VIII. 41.)

A.

Das Gleichgewicht zwischen zwei Phasen, welche durch eine Membran (Grenzfläche) getrennt sind, die für einige, aber nicht für alle im System vorhandenen Ionen- oder Molekelarten durchlässig ist, wird als Membrangleichgewicht bezeichnet. *F. G. Donnan*²⁾

¹⁾ Vgl. des Autors Kurzreferat auf der 121. Jahresversamml. der Schweiz. Naturforsch. Ges., Basel 1941, das den Inhalt der I. und der II. Mitteilung zusammenfasst.

²⁾ *Donnan, E. G.*, Z. El. Ch. **17**, 572 (1911).