

Au débit choisi, relativement élevé, les rendements calorimétriques ne diffèrent pas sensiblement d'un régime à l'autre. Cependant le régime à fr.l. donne lieu à une plus forte concentration en ozone: de 12% supérieure env., et nécessite une tension moindre; c'est ce que montre d'ailleurs la courbe $I = f(E)$.

RÉSUMÉ.

En se fondant sur les oscillogrammes, sur les résultats des mesures calorimétriques et sur le tracé des courbes caractéristiques $I = f(E)$, on a pu apprécier l'influence exercée par le changement de dimensions ou de type d'effluveur utilisé. On a comparé les effets produits par deux régimes de marche de l'effluveur, caractérisés, sur les oscillogrammes de la courbe $i = f(t)$, l'un par des franges longues, l'autre par des franges courtes.

A tension égale, le changement d'effluveur se manifeste par une variation d'amplitude de la courbe $i = f(t)$; à intensité égale, il se produit diverses combinaisons d'harmoniques qui changent d'un effluveur à l'autre. La caractéristique $I = f(E)$ dépend à la fois de la capacité totale de l'effluveur, de l'épaisseur de la couche gazeuse et de la capacité du verre.

Le régime des franges longues est plus favorable que celui des franges courtes au jaillissement de l'effluve; il s'en distingue par un seuil inférieur (de 600 V dans nos essais) et par une intensité plus grande pour une même tension. Cependant, dans nos essais, le rendement, mesuré calorimétriquement, de production de l'ozone a été sensiblement le même dans les deux régimes.

Nous sommes reconnaissants à l'«*Aluminium Fonds*», Neuhausen, dont les subventions ont grandement facilité l'exécution de ce travail.

Laboratoires de Chimie technique, théorique et
d'Electrochimie de l'Université de Genève.

54. Coenzym A.

Modellversuche zur biologischen Acylierungsreaktion.

Über die Reaktionsfähigkeit von Thiolcarbonsäuren und ihren Estern

von R. Schwyzer.

(24. I. 53.)

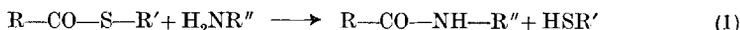
A. Die wichtige Erkenntnis, dass die Zelle für verschiedene Acylierungsreaktionen sich der S-Acylderivate des Coenzym A bedient¹⁾, hat das Interesse an der altbekannten acylübertragenden Wirkung der Thiolcarbonsäuren und ihrer Ester erneut wachgerufen. In der Tab.I findet sich eine Zusammenstellung der wichtigsten Arbeiten auf diesem Gebiete.

¹⁾ F. Lynen & E. Reichert, *Angew. Ch.* **63**, 47 (1951); F. Lynen, E. Reichert & L. Rueff, *A.* **574**, 1 (1951).

Tabelle I.

Thiolcarbonsäure-derivat	Reaktionen	Bemerkungen	Literatur
CH ₃ COSH	Aminolyse mit versch. aromat. Aminen	ohne Lösungsmittel	<i>Br. Pawlewski, B. 31, 661 (1898); 35, 110 (1902).</i>
CH ₃ COSH	Alkoholyse	in wasserfreien Alkoholen	<i>F. B. Stewart & P. V. McKinney, Am. Soc. 53, 1482 (1931).</i>
$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{CO} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{N} \quad \text{S} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C} \\ \\ \text{SH} \end{array}$	Aminolyse mit Aminen und Aminosäureestern	in wasserarmen Lösungsmitteln	<i>A. H. Cook & A. L. Levy, Soc. 1950, 637, 642, 646 und 651.</i>
Alkylxanthate $\begin{array}{c} \text{ROC-S-R}' \\ \\ \text{S} \end{array}$	Aminolyse mit Aminosäuren zu Thiourethanen: RO·CS·NH·CHR''COOH	in alkalischer Lösung	<i>P. Aubert & F. B. Knott, Nature 166, 1039 (1950).</i>
$\begin{array}{c} \text{S} \\ \\ \text{RC-S-CH}_2\text{COOH} \end{array}$	Aminolyse mit Aminen, Aminosäuren und Peptiden	in neutraler bis alkalischer Lösung	<i>A. Kjaer, Acta Chem. Scand. 6, 327 (1952), vgl. 4, 1347 (1950).</i>
S-Acetyl-coenzym A	Aminolyse mit NH ₃ und NH ₂ OH (nicht-enzymatisch)	in wässriger Lösung	<i>F. Lynen, E. Reichert & L. Rueff, A. 574, 1 (1951); T. C. Chou & F. Lipmann, J. Biol. Chem. 196, 89 (1952).</i>
$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{S} \\ \\ \text{CH}_3-\text{CO} \end{array}$	Aminolyse mit Anilin, Alkoholyse mit Cholin	—	<i>R. Kuhn & G. Quadbeck, B. 84, 844 (1951).</i>
S-Acetyl-cysteamin-Derivate	Aminolyse mit NH ₃ und NH ₂ OH.	—	<i>J. Baddiley & E. M. Thain, Soc. 1951, 3425.</i>
S-Acyl-cysteamin-Derivate	Aminolyse-Versuche	Benzoylrest wird langsamer übertragen als der Acetylrest	<i>Th. Wieland & E. Bokelmann, A. 576, 20 (1952).</i>
(+)-S-Benzoyl- und (+)-S-Acetyl-pantethein	Aminolyse mit NH ₃ und NH ₂ OH Alkoholyse mit CH ₃ OH	—	<i>R. Schwyzer, Helv. 35, 1903 (1952).</i>
Thiolcarbonsäurephenylester	Aminolyse mit Aminen und Aminosäuren	Aminolyse verläuft schneller als Alkoholyse und Hydrolyse	<i>Th. Wieland und Mitarb., A. 573, 99 (1951); 576, 104 (1952); Angew. Ch. 63, 146 (1951).</i>
Thiolcarbonsäuren, Thiolaminocarbonsäure-Derivate	Aminolyse durch Aminosäuren und Aminosäureestern	in organischem, z. T. wässrigem Medium	<i>M. W. Cronyn & J. Jiu, sowie J. C. Sheehan & D. A. Johnson, Am. Soc. 74, 4726 (1952).</i>

Die vorliegende Untersuchung zeigt, dass Thiolcarbonsäuren und ihre Ester in mehrfacher Hinsicht *in vitro* als Modellsubstanzen für die biologische Acylierung gelten können. Sie vermögen, in erster, grober Annäherung an die Verhältnisse in der Zelle¹⁾, in verdünnter, wässriger Lösung bei 20–40° (unter sogenannten „zellmöglichen Bedingungen“²⁾) in spezifischer Weise mit Aminen zu reagieren:



Die Ausbeuten an Säureamid sind (ausser von der Konstitution des Thiolcarbonsäurederivates), ähnlich wie bei enzymatischen Reaktionen, sehr stark vom pH des Reaktionsmediums abhängig. Sie können in gewissen Fällen bis zu 96% betragen.

B. 1. Als Beispiele für die Reaktion nach Gleichung (1) wurden Umsetzungen von Anilin, p-Aminobenzoesäure und Benzylamin mit den in der Tabelle II zusammengestellten Thiolcarbonsäuren und ihren Derivaten untersucht.

Das Thiolcarbonsäurederivat ($1 \cdot 10^{-3}$ Mole) wurde jeweils in Dimethylformamid (2 ml) gelöst, mit Citrat-Phosphat-Borat-Puffer³⁾ (4 ml) und Amin ($1 \cdot 10^{-3}$ Mole) versetzt und die Lösung mit 1-n. HCl oder NaOH auf das gewünschte pH gestellt. Mit Wasser wurde nun soweit verdünnt, bis die Amin-Konzentration bei jeder Versuchsreihe gleich viel (0,5–1,0-proz.) betrug. Nach 15–20 Std. bei 30–40° wurde aufgearbeitet. Während dieser Zeit hatten sich die pH-Werte nicht oder nur um wenige 1/10-Einheiten verändert. Auskristallisiertes Reaktionsprodukt wurde abgetrennt und mit Wasser gewaschen; es fiel in allen Fällen in sehr reinem Zustande an und wies bereits den richtigen Smp. auf. Gelöstes Reaktionsprodukt wurde mit Essigester ausgezogen und nach dem Waschen isoliert und umkristallisiert.

Die Gewichte der Reaktionsprodukte wurden als Prozente der theoretischen Ausbeute in Abhängigkeit vom pH der Reaktionslösung aufgetragen (Fig. 1, 2 und 4). Fig. 3 zeigt den Einfluss der Änderung der Konstitutionen von RCOS— und von R' (Gleichung (1); Tabelle II) auf die maximalen Ausbeuten an Säureanilid.

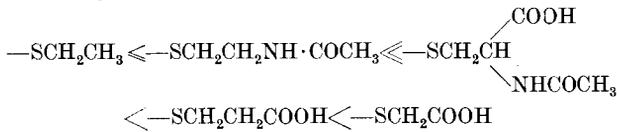
2. Fig. 1, 2 und 3 zeigen deutlich die Abhängigkeit der Anilidausbeuten von der Konstitution der Mercaptokomponente —SR' (Tab. II) der Thiolcarbonsäurederivate. Phenylester, Äthylester und β -Acylamino-äthylester reagieren unter den gewählten Bedingungen nicht oder nur in sehr geringem Masse, währenddem die Carboxyalkylester (Ie, f, g, IIf, g und IIIg) das entsprechende Anilid in z. T. guten Aus-

¹⁾ Die Versuchsanordnung spiegelt die Verhältnisse in der Zelle nur bezüglich Temperatur und Wassergehalt wider, nicht aber bezüglich pH und Konzentration. Diese beiden statistischen Grössen verlieren an der Enzymoberfläche ihre Bedeutung, indem die Verhältnisse im molekularen Maßstabe extrem verschoten sein können. Es wird aber immerhin bewiesen, dass zwischen den beiden Reaktionspartnern — Thiolcarbonsäurederivat und Amin — eine besondere Affinität herrscht (vgl. dazu auch *Th. Wieland, W. Schäfer & E. Bokelmann, A. 573, 99 (1951)*).

²⁾ *C. Schöpf, A. 497, 1 (1932); Angew. Ch. 50, 779, 797 (1937); Chimia 2, 206 (1948)*.

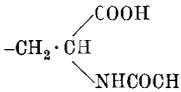
³⁾ *T. Theorell & E. Stenhagen, Bioch. Z. 299, 416 (1938)*.

beuten liefern. Geordnet nach zunehmender Reaktionsfähigkeit ergibt sich die Reihenfolge:

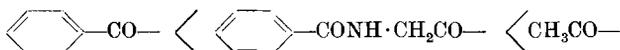


Die freie Thiosäure nimmt eine wechselnde, mittlere Stellung ein.

Tabelle II.
Thiolcarbonsäurederivate
RCO—S—R'

RCO—S— R'	I CH ₃ CO—S—	II  —CO—S—	III  —CO—S—
a H	Ia Thiolessigsäure	IIa Thiolbenzoesäure	IIIa Thiolhippursäure
b 	—	IIb Thiolbenzoesäure- phenylester	—
c —CH ₂ CH ₃	Ic Thiolessigsäure- äthylester	IIc Thiolbenzoesäure- äthylester	—
d —CH ₂ CH ₂ NHR'''	Id R''' = Acetyl, Thiolessigsäure- β-acetamino- äthylester	II d R''' = Pantothenyl, (+)S-Benzoyl- pantethein	—
e 	Ie Thiolessigsäure- β-carboxy-β- acetaminoäthylester	—	—
f —CH ₂ ·CH ₂ ·COOH	If Thiolessigsäure-β- carboxyäthylester	II f Thiolbenzoesäure-β- carboxyäthylester	—
g —CH ₂ COOH	Ig Thiolessigsäure- carboxymethylester	IIg Thiolbenzoesäure- carboxymethylester	IIIg Thiolhippursäure- carboxymethylester

Ebenfalls aus den Fig. 1, 2 und 3 ist der konstitutionelle Einfluss der Säureester RCO— (Tab. II) ersichtlich, wobei sich bezüglich Reaktionsfähigkeit folgende Anordnung ergibt:



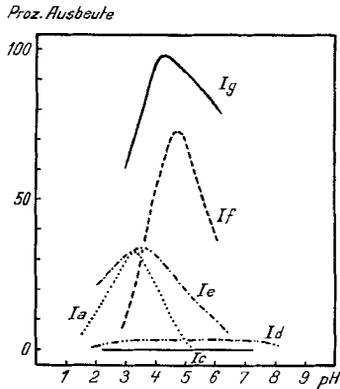


Fig. 1.

Abhängigkeit der Ausbeute vom pH bei den Reaktionen von Anilin in 1-proz. wässriger Lösung mit äquivalenten Mengen von:

1. Thiolessigsäure (Ia).
2. Thiolessigsäure-äthylester (Ib).
3. Thiolessigsäure- β -acetamino-äthylester (Ic).
4. Thiolessigsäure- β -acetamino- β -carboxyäthylester (Id).
5. Thiolessigsäure- β -carboxyäthylester (If) und
6. Thiolessigsäure-carboxymethylester (Ig).

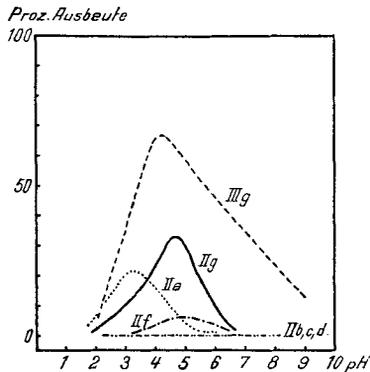


Fig. 2.

Abhängigkeit der Ausbeute vom pH bei den Reaktionen von Anilin in 1-proz. wässriger Lösung mit äquivalenten Mengen von:

1. Thiolbenzoesäure (IIa).
2. Thiolbenzoesäure-phenylester (IIb).
3. Thiolbenzoesäure-äthylester (IIc).
4. (+)-S-Benzoyl-pantethein (IIc).
5. Thiolbenzoesäure- β -carboxyäthylester (IIe).
6. Thiolbenzoesäure-carboxymethylester (IIe) und
7. Thiolhippursäure-carboxymethylester (IIg).

Die maximalen Ausbeuten an Benzanilid betragen bestenfalls etwa 30% der Acetanilidausbeuten. Dieser Befund bestätigt Beobach-

tungen an den Acylderivaten des Pantetheins¹), wonach das Benzoylderivat wesentlich stabiler ist als das Acetylderivat, und steht im Einklang mit Experimenten von *Th. Wieland & E. Bokelmann*²).

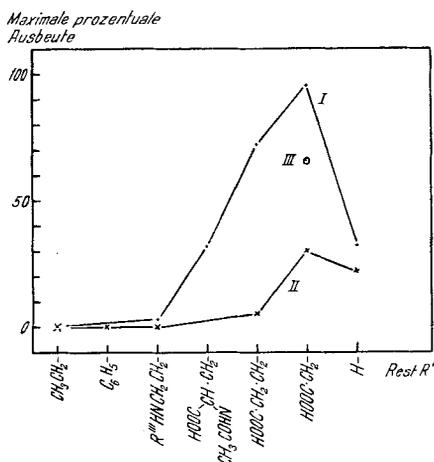


Fig. 3.

Maximale, prozentuale Ausbeuten in Abhängigkeit von der Konstitution des Restes R' (Tab. II) bei der Übertragung der Acetyl-(I), Benzoyl-(II) und Hippuryl-(III)-Reste auf Anilin in 1-proz. wässriger Lösung.

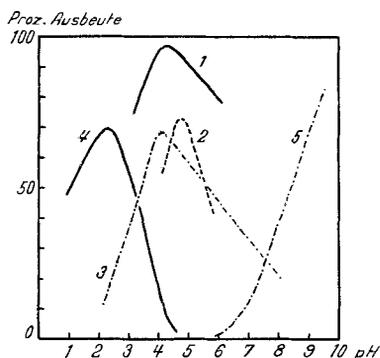


Fig. 4.

Abhängigkeit der Ausbeute vom pH bei den Reaktionen in verdünnt wässriger Lösung von:

1. Anilin mit Thioessigsäure-carboxymethylester (I_g) (Kurve 1).
Anilin mit Thioessigsäure- β -carboxyäthylester (II_g) (Kurve 2).
2. Anilin mit Thiolhippursäure-carboxymethylester (III_g) (Kurve 3).
3. p-Aminobenzoesäure mit Thioessigsäure-carboxymethylester (I_g) (Kurve 4).
4. Benzylamin mit Thiolhippursäure-carboxymethylester (III_g) (Kurve 5).

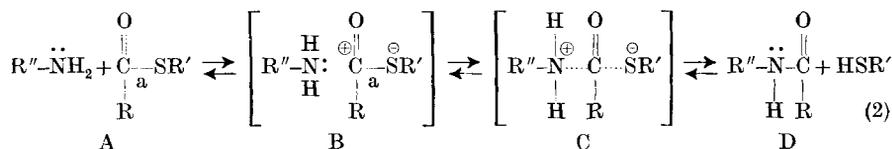
¹) *R. Schwyzer*, *Helv.* **35**, 1903 (1952).

²) *Th. Wieland & E. Bokelmann*, *A.* **576**, 20 (1952).

Alle verfolgten Reaktionen sind stark pH-abhängig, wobei die Ausbeute ein deutliches Maximum durchläuft. Die pH-Werte der Maxima sind von Fall zu Fall verschieden. Sie sind einerseits abhängig von der Natur des Amins, andererseits von der Konstitution der Mercaptokomponente —SR' des Thiolessigsäurederivates. Anilin lässt sich bei pH-Werten zwischen 3 und 5, p-Aminobenzoessäure unterhalb pH 3 und Benzylamin oberhalb pH 8 mit bester Ausbeute acylieren (Fig. 1, 2 und 4). Thiolessigsäure und Thiolbenzoessäure acylieren Anilin am besten bei pH = ca. 3,3, die entsprechenden Carboxy-methylester bei etwa 4,2 und die β -Carboxyäthylester bei etwa 4,6.

C. 1. Die Ausbeuten an Säureamid sind abhängig von den relativen Geschwindigkeiten der Aminolyse und der Hydrolyse der verwendeten Thiolessigsäurederivate, sowie von der allerdings nur unbedeutenden Hydrolyse des entstandenen Amids. Die relative Bedeutung der Hydrolyse und der Aminolyse des Thiolcarbonsäurederivates kann aus den Versuchsergebnissen abgeschätzt werden. Bei gleich schnellem Verlaufe der beiden Reaktionen sollten die Amidausbeuten unter $\frac{1}{4}$ % liegen, wenn berücksichtigt wird, dass das Molverhältnis Amin/H₂O zu Beginn höchstens 1/400 beträgt und sich während der Reaktion noch wesentlich verkleinert. Eine Ausbeute von 50 % verlangt demnach eine mittlere Geschwindigkeit der Aminolyse, welche mindestens das 400fache der Hydrolysegeschwindigkeit beträgt. Bei wenig veränderter Hydrolysegeschwindigkeit (in einem kleinen pH-Bereiche) sind die Ausbeuten wesentlich von den Aminolysegeschwindigkeiten abhängig.

2. Alle erwähnten Einflüsse von Konstitution und pH auf die Ausbeute lassen sich ungezwungen erklären, wenn die Aminolyse der Thiolessigsäurederivate als bimolekulare, nucleophile Substitution (S_N2) aufgefasst wird. Ein solcher Mechanismus wurde bereits für die Hydrolyse der Thiolessigsäureester¹⁾ und für andere Acylierungsreaktionen²⁾ bewiesen:



Nähert sich eine Aminmolekel R—NH₂ der Molekel A, so wird die ursprünglich nur schwach polarisierte C—S-Bindung a³⁾ (kleiner I_S-Effekt⁴⁾) unter Ausbildung eines Dipols

¹⁾ J. R. Schaeffgen, Am. Soc. **70**, 1308 (1948); H. Böhme & H. Schran, B. **82**, 453 (1949).

²⁾ D. E. Koshland, jr., Am. Soc. **74**, 2286 (1952).

³⁾ Entsprechend der H-Ionenkonzentration kann die C=O-Bindung mehr oder weniger polarisiert sein und dadurch den nucleophilen Angriff beeinflussen.

⁴⁾ A. E. Remick, Electronic Interpretations of Organic Chemistry, 2nd ed., 1949, New York, London, Seite 49.

deformiert (B), entsprechend ihrer leichten Polarisierbarkeit (grosser I_D -Effekt¹⁾; in der Gleichung bedeuten \oplus und \ominus kleine positive und negative Ladungen). Bei weiterer Annäherung entsteht unter Aufnahme der Aktivierungsenergie das Zwischenprodukt C, welches schnell nach D oder A zerfällt; dabei wird in bevorzugtem Masse das thermodynamisch stabilere Säureamid D gebildet.

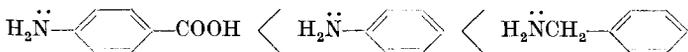
3. Die Bedeutung des Restes $—SR'$ (vgl. Abschnitt B2) ist nun ohne weiteres verständlich: Einflüsse, welche die Polarisierung der C—S-Bindung a vergrössern, werden den nucleophilen Angriff durch das Amin erleichtern, z.B. die Substitution von Wasserstoff durch Carboxyl in den Estern der Thiolcarbonsäuren. Dadurch erklärt sich die grosse Reaktionsfähigkeit der Carboxymethylester (I g, II g und III g). Wird der induktive Effekt der Carboxylgruppe auf die C—S-Bindung a vermindert durch Einschleichen einer weiteren $—CH_2$ -Gruppe (wie bei den β -Carboxyäthylestern I f und II f), so sinkt die Reaktionsfähigkeit und nimmt noch weiter ab, sobald durch Substitution von H durch $CH_3CONH—$ in der β -Stellung der $—I$ -Effekt der Carboxylgruppe noch weiter vermindert wird.

Diese Annahmen werden bestätigt durch die experimentell festgelegte Reihenfolge der Reaktionsfähigkeit (Abschnitt B2).

Es ist ferner zu erwarten, dass die Carboxylanionen der Carboxyalkylester, ebenso wie die Anionen der Thiolcarbonsäuren selbst, weniger reaktionsfähig sein werden als die undissoziierten Säuren (Verminderung des $—I$ -Effektes; bei den Thiolcarbonsäureanionen Auftreten eines $+I$ -Effektes²⁾). Die Folgerungen, welche sich hieraus ergeben, sind ebenfalls experimentell bestätigt worden (vgl. Abschnitt C5).

Die Konstitution des Restes R der Acylgruppe (Tab. II) wirkt sich gleichfalls auf die elektrophilen Eigenschaften des Carbonyl-C-Atoms aus. Damit erklären sich die durchwegs niedrigen Ausbeuten der Benzoylierung verglichen mit der Acetylierung und der Übertragung des Hippursäurerestes. Durch den Einfluss der Phenylgruppe ($+I$) wird der $\overset{\oplus}{C}_a \overset{\ominus}{S}$ -Dipol (Gleichung (2) B) abgeschwächt und damit die Aktivierungsenergie für die Bildung des Zwischenproduktes C (Gleichung (2)) erhöht.

4. Die Basizitäten (nucleophile Eigenschaften) der verwendeten Amine sind für die Reaktionsfähigkeit nach Gleichung (2) von grosser Bedeutung. Wir werden eine Zunahme in nachstehender Reihenfolge erwarten:



5. Wir können nun ohne weiteres voraussagen, in welcher Weise das pH die Reaktion zwischen Aminen und Thiolcarbonsäuren und ihren Carboxyalkylestern beeinflussen wird. Einerseits sind die undissoziierten Säuren (im folgenden mit SH bezeichnet) besonders reaktionsfähig und werden schneller reagieren als die entsprechenden Anionen (S^-). Andererseits sind die Amine nur in der nucleophilen Form

¹⁾ A. E. Remick, l. c., S. 51 und 102.

²⁾ A. E. Remick, l. c., S. 49.

R''—NH₂ (mit A: bezeichnet) reaktionsfähig, währenddem die Ammoniumsalze (AH⁺) nicht reagieren. Verläuft die Umsetzung nach dem angenommenen bimolekularen Mechanismus, so wird die Ausbeute proportional dem Produkte aus den Konzentrationen der beiden reaktionsfähigen Formen sein:

$$\text{Ausbeute} \sim [\text{SH}] \cdot [\text{A}].$$

Wie zu erwarten, wird die Ausbeute ein Maximum bei einem pH durchlaufen (pH^{Max}), welches durch das arithmetische Mittel der pK-Werte von SH und A: gegeben ist (Fig. 5):

$$\text{pH}^{\text{Max}} = \frac{\text{pK}^{\text{SH}} + \text{pK}^{\text{A}}}{2}.$$

Oberhalb und unterhalb des pH^{Max} werden, infolge der Abnahme der Konzentrationen von SH und von A:, die Ausbeuten geringer werden (vgl. auch Fig. 5). Der symmetrische Kurvenverlauf wird durch Nebenreaktionen modifiziert: zunehmende Hydrolyse des Thiolcarbonsäureesters mit steigendem pH verschiebt pH^{Max} nach kleineren Werten, merkliche Reaktion von A: mit S⁻ verschiebt das Maximum nach höheren pH-Werten. Entsprechend wird die Symmetrie der Ausbeutekurve gestört. In Tab. III sind die beobachteten und die berechneten pH^{Max}-Werte für einige Reaktionen von Thiolcarbonsäure-carboxyalkylestern zusammengestellt.

Tabelle III.

Beziehung zwischen pK-Werten der Reaktionsteilnehmer und dem pH des Ausbeutemaximums (pH^{Max}).

Reaktionsteilnehmer	pK	Anilin pK = 4,7		p-Aminobenzoesäure-äthylester pK = 2,9	
		pH ^{Max} ber.	pH ^{Max} gef.	pH ^{Max} ber.	pH ^{Max} gef.
Thiolessigsäure-carboxymethylester I _g	3,3	4,0	ca. 4,2	3,1	ca. 2,5
Thiolhippursäure-carboxymethylester III _g	3,3	4,0	ca. 4,2	—	—
Thiolessigsäure-β-carboxyäthylester I _f	4,2	4,45	ca. 4,6	—	—

Für die Reaktionen mit Anilin besteht eine recht gute Übereinstimmung dieser Werte. Die Abweichungen (und besonders auch der flachere Verlauf des „alkalischen“ Astes der Ausbeutekurven in Fig. 4) deuten auf eine merkliche Reaktion des Anilins mit den Esteranionen S⁻ hin. Eine grössere Abweichung (diesmal mit umgekehrtem Vorzeichen) zeigt das pH^{Max} der Reaktion mit p-Aminobenzoesäure. Wie beobachtet wurde, nimmt die Hydrolysebeständigkeit der Thiolcar-

bonsäureester im pH-Gebiete unter 3 stark zu, was die Erscheinung teilweise erklären dürfte. Auch ist der pK-Wert, welcher für p-Aminobenzoessäure angenommen wurde, nur angenähert richtig, da er gleich demjenigen des p-Amino-benzoessäure-äthylesters¹⁾ gesetzt wurde.

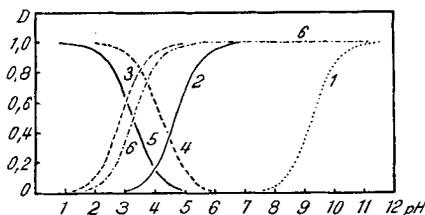


Fig. 5.

Verhältnis D der Konzentration reaktionsfähiger Moleküle zur analytischen Konzentration in Abhängigkeit vom pH:

1. Benzylamin $D = [A:] / ([A:] + [AH^+])$ (Kurve 1).
2. Anilin $D = [A:] / ([A:] + [AH^+])$ (Kurve 2).
3. p-Aminobenzoessäure $D = [A:] / ([A:] + [AH^+])$ (Kurve 3).
4. Thiolessigsäure- β -carboxyäthylester $D = [SH] / ([SH] + [S^-])$ (Kurve 4).
5. Thiolessig- und Thiolhippursäure-carboxymethylester $D = [SH] / ([SH] + [S^-])$ (Kurve 5).
6. Thiolessig- und Thiolhippursäure-carboxymethylester $D = [S^-] / ([SH] + [S^-])$ (Kurve 6).
(Über die Bedeutung von A , AH^+ , SH und S^- siehe Text.)

Während also Anilin und p-Aminobenzoessäure, wie aus dem Kurvenverlauf hervorgeht, nur in geringem Masse mit den Anionen S^- sich umsetzen, ist das viel stärker basische Benzylamin dazu wohl befähigt. Im pH-Gebiete, wo seine nucleophile Form A : (pK = 9,3²⁾) in merklicher Menge vorliegt (oberhalb pH ca. 7), sind die Thioisäure-carboxyalkylester nur als Anionen S^- vorhanden. Die Ausbeute an Benzylamid wird also parallel der Konzentration an freiem Benzylamin zunehmen (vgl. Fig. 5). Bis pH = 9 wurde auch tatsächlich nur eine Zunahme und kein Maximum der Ausbeute festgestellt (Fig. 4), was mit der Erwartung übereinstimmt.

D. Diese Überlegungen erklären einerseits die Tatsache der nicht-enzymatischen Reaktionen des Acetyl-coenzyms A mit Ammoniak und Hydroxylamin³⁾, andererseits die Notwendigkeit der Teilnahme eines Enzyms bei der biologischen Acetylierung von aromatischen Aminen⁴⁾.

Bei den beschriebenen Versuchen aktivieren intramolekulare, konstitutionelle Einflüsse das Thiolcarbonsäurederivat. In einer späteren Mitteilung soll über eine Steigerung der spezifischen Reaktionsfähigkeit durch extramolekulare Einflüsse berichtet werden. Dadurch wird die Analogie dieser „Acylierungsreaktion unter zellnahen Bedingungen“ zu der enzymatischen Reaktion noch vertieft.

¹⁾ J. M. Kollhoff, Bioch. Z. **162**, 301 (1925).

²⁾ W. H. Carothers, C. F. Bickford & G. J. Hurwitz, Am. Soc. **49**, 2908 (1927).

³⁾ Vgl. Tabelle I.

⁴⁾ F. Lipmann, J. Biol. Chem. **160**, 173 (1945); T. C. Chou & F. Lipmann, J. Biol. Chem. **196**, 89 (1952).

SUMMARY.

The reaction between amines and thiolcarboxylic acids and their esters in dilute aqueous solution serves as a model for the biological acylation with coenzyme A. Constitutional influences and the influence of pH on the yields of acid amides are discussed in terms of a hypothesis concerning the mechanism of the reaction.

Forschungslaboratorien der *CIBA Aktiengesellschaft*, Basel,
Pharmazeutische Abteilung.

55. Zur Theorie elektrophoretischer Trennverfahren auf porösen Trägern

von **Rolf Weber**.

(12. XII. 52.)

A. Einleitung.

In einer letzten Mitteilung über Papierionophorese¹⁾ wurde darauf hingewiesen, dass beim Arbeiten mit einer diskontinuierlichen Technik wie z. B. mit der beschriebenen, die wandernden Substanzflecken dann Kometenform annehmen, wenn die Beweglichkeit des Stoffes im elektrischen Feld von der lokalen Konzentration abhängt. Dies ist besonders dann der Fall, wenn die Substanz merklich an die Unterlage adsorbiert wird. Dieser Effekt kann selbstverständlich Trennungen und Beweglichkeitsmessungen beeinträchtigen. Es soll u. a. in der vorliegenden Mitteilung von der theoretischen Seite her gezeigt werden, dass sich bei kontinuierlichen Elektrophoreseverfahren, bei welchen der Trägerkörper senkrecht zum elektrischen Feld von der Pufferlösung durchströmt wird und das zu trennende Gemisch an einem Punkt stetig einfließt, die Adsorption keinen störenden Einfluss hat. Praktische, auf diesem Prinzip beruhende Anordnungen wurden beschrieben von *Grassmann & Hannig*. Bei der einen Ausführungsform²⁾ erfolgt die Trennung in einem flachen, mit Glaspulver oder ähnlichem Material gefüllten Kasten. Eine andere Form³⁾ verwendet ein frei zwischen zwei langen, parallelen Elektroden ausgespanntes Filterpapier als Träger. Unabhängig davon beschrieb auch *Strain*⁴⁾ eine prinzipiell ähnliche Vorrichtung, die er „Electromigration plus Chromatography“ nennt. Zur Not lässt sich das Ausbleiben störender Adsorptionseffekte bei solchen kontinuierlichen

¹⁾ Helv. **34**, 2031 (1951).

²⁾ Z. angew. Ch. **62**, 170 (1950).

³⁾ Naturwiss. **37**, 397 (1950).

⁴⁾ Analytical Chemistry **23**, 816 (1951). *Strain's* Anordnung wäre derjenigen der erstgenannten Autoren adäquat, wenn nicht ein praktisch sehr wichtiges Detail dabei fehlte, nämlich die ständige Spülung der Elektroden zur Entfernung der Elektrolysenendprodukte.