

52 Tage bei 37° aufbewahrt. Die zum Animpfen benutzten Bakterien stellen ein Gemisch verschiedener Fäulnisbakterien dar, unter denen eine besondere Form nicht vorherrscht.

Die Aufarbeitung der infizierten Versuche geschah wie oben. Der nach dem Einengen der Acetonlösung verbliebene Rückstand wurde aus Aceton umkristallisiert. Sowohl Testosteron als auch Androstendion waren zu 25% in *epi*-Ätiocholandiold umgewandelt. Der Rest war aus den im allgemeinen Teil angegebenen Gründen unverändert geblieben. Die Lösungen hatten am Ende des Versuches ein p_H von 7 bzw. 7.6.

Bei der Aufarbeitung der sterilen Kontrollen erhielten wir das Ausgangsmaterial (Androstendion bzw. Testosteron) quantitativ zurück. Das p_H der Kontrollen betrug 6.35.

346. Eugen Bamann und Marianne Meisenheimer: Umwandlung von Metaphosphat in Orthophosphat unter dem Einfluß von Metalloxyden und Hydroxyden (III. Mitteil. über „phosphatatische“ Wirkungen von Hydrogelen).

[Aus d. Pharmazeut. Abteil. d. Chem. Instituts d. Universität Tübingen.]

(Eingegangen am 3. September 1938.)

Eine Reihe von Metallhydroxyden, insbesondere Hydroxyde der seltenen Erden, besitzen die Fähigkeit, die Spaltung von Estern der Phosphorsäure zu katalysieren. Diese Beobachtung sowie das Ausmaß der Ester-spaltung und einige dabei erkannte Gesetzmäßigkeiten haben wir in den beiden vorausgehenden Mitteilungen beschrieben¹⁾.

Das Bild eines Phosphatase-Modells wäre noch vollständiger, wenn sich die „phosphatatische“ Wirkung auch auf die Metaphosphorsäure erstrecken würde. Bekanntlich bildet die tierische und pflanzliche Zelle Enzyme, die die Überführung von anorganischem Metaphosphat in Orthophosphat bewirken.

Diese Umwandlung der Metaphosphorsäure geht nun in der Tat, wie wir in dieser Abhandlung zeigen werden, auch unter dem katalytischen Einfluß einer größeren Anzahl von Hydroxyden und Oxyden vor sich.

1) Versuchsanordnung.

Die Versuchsansätze von 10 ccm enthielten 0.051 g $(NaPO_3)_3 + 6H_2O$ ²⁾ (entspr. 26.4 mg P_2O_5), 1 ccm 2.5-n-Ammoniak-Ammoniumchloridpuffer³⁾ vom p_H 9.2. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser auf 9 ccm ergänzt und im Thermostaten auf 37°

¹⁾ B. 71, 1711, 1980 [1938].

²⁾ Das Natriumtrimetaphosphat-Präparat erhielten wir in freundlicher Weise von den Chemischen Werken, vorm. H. u. E. Albert, A.-G., Amöneburg bei Wiesbaden-Biebrich, wofür wir auch an dieser Stelle unseren verbindlichsten Dank aussprechen.

³⁾ C. Oppenheimer u. L. Pincussen, „Die Methodik der Fermente“, Gg. Thieme, Leipzig 1929, S. 615.

vorgewärmt. Unter leichtem Umschwenken des Gefäßes ließen wir dann 1 ccm der Metallsalzlösung einfließen bzw. gaben im Falle der Oxyde diese zum Reaktionsgemisch, wonach eine Ergänzung des Volumens mit Wasser auf 10 ccm erfolgte. In den Versuchen mit Kupfer- und Cadmiumhydroxyd wurde der Ammoniak-Ammoniumchloridpuffer durch den Veronal-Natriumacetatpuffer⁴⁾ (7.5 ccm $\frac{1}{7}$ -m. Stammlösung, p_H 9.6) ersetzt, in den Versuchen mit Magnesiumhydroxyd stellten wir die alkalische Reaktion nicht mit Hilfe von Puffer, sondern von NaOH-Lösung her. Die Wasserstoffionenkonzentration, die sich in den einzelnen Ansätzen einstellte, entsprach einem p_H von 7.1 bis 9.5; die Versuchstemperatur betrug 37°. Im Laufe der Versuche haben wir eine Peptisierung der Gele, wie sie im Falle der Glycerinphosphorsäurespaltung eintritt, nicht beobachten können. Zur Bestimmung der Orthophosphorsäure verfahren wir nach den Angaben der I. Abhandlung dieser Untersuchungsreihe.

2) Umwandlung der Metaphosphorsäure in Abwesenheit eines zusätzlichen Katalysators.

In Abwesenheit eines zusätzlichen Katalysators geht die Überführung der Metaphosphorsäure in Orthophosphorsäure im sauren Medium verhältnismäßig rasch, im alkalischen dagegen langsam vor sich. •

Diese „Selbst-Umwandlung“ haben wir unter drei Bedingungen festgelegt: In $\frac{1}{2}$ -n. Salzsäure, in $\frac{1}{2}$ -n. Natriumhydroxydlösung und in dem bei den Versuchen zur Anwendung kommenden alkalischen Puffergemisch. Wie die Zusammenstellung in Tafel 1 ersehen läßt, ist die „Selbst-Umwandlung“ im Falle der natronalkalischen Lösung innerhalb von 24 Stdn. sehr gering, im Falle der Pufferlösung praktisch ohne Bedeutung.

Tafel 1. Selbstumwandlung von Metaphosphat in saurem und alkalischem Medium.

Vers.-Zeit (Stdn.)	$\frac{1}{2}$ -n. HCl $p_H < 3$; $t = 37^\circ$	$\frac{1}{2}$ -n. NaOH $p_H > 12$; $t = 37^\circ$	Ammoniak-Ammonchlorid- puffer $p_H = 8.9$; $t = 37^\circ$
	Umsatz in Prozenten		
1	4	nicht meßbar	nicht meßbar
24	75	1	etwa 0.3

Aus der raschen Orthophosphorsäure-Bildung in saurem Medium ergibt sich die Notwendigkeit, in einem Parallelversuch die während der Farbentwicklung (bei der Aufarbeitung der Analysenprobe) vor sich gehende Umwandlung jeweils zu messen.

3) Die Versuchsergebnisse.

Über die Ergebnisse unterrichtet Tafel 2.

Zunächst sind es zwei Tatsachen, die man bei Überprüfung der Ergebnisse bemerken wird: Erstens, die Anzahl der überhaupt wirksamen Hydroxyde und Oxyde ist sehr beträchtlich, und zweitens, die Zahl der besonders wirksamen Hydroxyde ist verhältnismäßig groß; dabei weisen diese sehr wirksamen Hydroxyde etwa gleiche Aktivität auf.

⁴⁾ L. Michaelis, Biochem. Ztschr. **234**, 139 [1931].

Tafel 2. Überführung von Metaphosphat in Orthophosphat unter dem katalytischen Einfluß von Metalloxyden und Hydroxyden.

(Vers.-Anordnung s. Abschn. 1.)

Katalysator (sowie Ausgangsverbindung):	pH im Vers. Ans.	Umwandlung in % nach (Stunden)									
		1	2	5	17	19	24	29	48	72	144
Lanthanhydroxyd (0.1 g LaCl ₃ + 7H ₂ O)	8.1	14	17	—	—	—	43	—	—	53	58
Cerhydroxyd (0.15 g Ce(NO ₃) ₃ · 2NH ₄ NO ₃ + 4H ₂ O)	8.1	14.5	19.5	—	—	—	55	—	—	59	68
Praseodymhydroxyd (0.206 g 2Pr(NO ₃) ₃ · 3Mg(NO ₃) ₂ + 24H ₂ O)	8.1	14	18.5	—	—	—	59	—	—	69	74
Neodymhydroxyd (0.118 g Nd(NO ₃) ₃ + 6H ₂ O)	8.1	15	20.5	—	—	—	59.5	—	—	64	68
Samariumhydroxyd (0.12 g Sm(NO ₃) ₃ + 6H ₂ O)	8.1	14	18	—	—	—	57	—	—	66	70
Yttriumhydroxyd (0.082 g YCl ₃ + 6H ₂ O)	8.2	12	16.5	—	—	—	55	—	—	57	65
Aluminiumhydroxyd (0.1 g AlCl ₃ + 6H ₂ O)	8.6	0.8	1.5	—	—	5.5	—	—	—	12	—
Aluminiumoxyd (0.2 g Al ₂ O ₃ „Merck“)	8.9	0	—	—	2	—	—	—	—	—	—
Kupferhydroxyd (0.1 g Cu(NO ₃) ₂ + 5H ₂ O)	7.1	1	—	—	—	—	7	—	—	14	—
Berylliumhydroxyd (0.048 g BeSO ₄ + 4H ₂ O)	8.2	0	—	—	—	—	0	—	—	0	—
Magnesiumhydroxyd (1 g MgCl ₂ + 6H ₂ O)	>9.5	—	—	1.5	—	—	2	—	2.5	—	—
Bariumhydroxyd (1 g BaCl ₂ + 2H ₂ O)	9.5	1	—	3.5	—	—	9	—	14	—	—
Zinkhydroxyd (0.1 g ZnCl ₂)	8.2	1	—	—	—	—	11	—	—	18	—
Cadmiumhydroxyd (0.1 g Cd(NO ₃) ₂ + 4H ₂ O)	8.1	0	—	—	—	—	0	—	—	1	—
Titanoxydhydrat (0.08 g Ti(SO ₄) ₂ + 3H ₂ O)	8.8	8	—	—	—	—	23	—	—	38	—
Zirkoniumhydroxyd (0.09 g ZrOCl ₂ + 9H ₂ O)	8.8	15	18	—	—	—	51	—	62	—	—
Thoriumhydroxyd (0.13 g Th(NO ₃) ₄ + 4H ₂ O)	8.9	13	—	—	—	—	41	—	—	62	—
Bleihydroxyd (0.1 g Pb(CH ₃ COO) ₂ + 3H ₂ O)	9.0	3	—	—	—	—	42	—	—	48	—
Bleioxyd (0.2 g PbO D.A.B. VI)	8.9	0	—	—	4	—	—	—	—	—	—
Manganhydroxyd (0.1 g MnCl ₂ + 4H ₂ O)	8.5	4	—	—	—	—	15	—	—	23	—
Eisenhydroxyd (0.1 g FeCl ₃ + 6H ₂ O)	8.2	1.5	2	—	—	6.5	—	—	—	12	—
Eisenoxyd (0.2 g Fe ₂ O ₃ n. Brandt „Merck“)	8.9	0	—	—	3	—	—	—	—	—	—
Cobalthydroxyd (0.1 g CoCl ₂ + 6H ₂ O)	8.0	—	—	1	—	—	—	5	—	9	—
Nickelhydroxyd (0.1 g NiCl ₂ + 6H ₂ O)	8.0	—	—	1	—	—	—	3	—	6	—

Als sehr aktiv sind die Hydroxyde des Lanthans, des Cers, des Praseodyms, des Neodyms, des Samariums, des Yttriums, des Zirkoniums und des Thoriums anzuführen: Sie bewirken in 1 Stde. die Überführung von 12—15% Metaphosphat in Orthophosphat. Von mittlerer Wirksamkeit finden wir das Titan-, das Blei- und das Manganhydroxyd. Weniger wirksam zeigen sich die Hydroxyde des Aluminiums, des Kupfers, des Magnesiums, des Bariums, des Zinks, des Eisens, des Kobalts und des Nickels; ihre Aktivität ist durch 2—11% Metaphosphat-Umwandlung in 24 Stdn. gekennzeichnet.

Zieht man Vergleiche zu der Glycerinphosphorsäurespaltung, so erkennt man, daß die Ester-Spaltung im Falle der aktivsten Hydroxyde, des Lanthan- und Cerhydroxyds, etwa 5-mal langsamer vor sich geht als die Metaphosphat-Umwandlung (14—15% Substrat-Umsetzung in 5 bzw. 1 Stde.). Weiter ist auffallend, daß die Hydroxyde der seltenen Erden gegenüber Metaphosphat gleich gut, gegenüber Glycerinphosphorsäure dagegen abgestuft wirksam sind. Man erhält so für die Umwandlung des Metaphosphats das Gesamtbild einer nicht so ausgeprägten Spezifität wie im Falle der Spaltung von Glycerinphosphorsäure. Es kommt noch dazu, daß Auswaschen der Gele und andere Vornahmen auf die Aktivität nicht von so großem Einfluß sind wie bei der Esterspaltung.

Aufgabe einer ergänzenden Untersuchung könnte es sein, die katalytische Wirksamkeit einiger Hydroxyde und Oxyde im schwach sauren Bereich zu prüfen. Dabei würde man wohl auch jene Katalysatoren mit hereinbeziehen, die kürzlich F. Reiff, R. Neumann und R. A. J. Schulz⁵⁾ bei der Rohrzuckerinversion wirksam gefunden haben, nämlich Tonsubstanzen, vorbehandelt mit Säuren und mit konzentrierten Metallsalzlösungen⁶⁾.

Die Tatsache der Umwandlung von Metaphosphat in Gegenwart von Metallhydroxyden und Oxyden sollte bei Untersuchungen ungereinigter tierischer und pflanzlicher Breie oder Extrakte auf Metaphosphatase nicht ganz außer acht gelassen werden. Im allgemeinen dürfte zwar die Konzentration an wirksamen Verbindungen zu klein sein, als daß man merklige Wirkung befürchten müßte. Berücksichtigung verlangt jedoch unser Befund, wenn Verbindungen bzw. Ionen daraufhin geprüft werden, ob und in welchem Umfang sie Metaphosphatase zu „aktivieren“ vermögen. Bei solchen Prüfungen wäre die katalytische Wirksamkeit der aus den zusätzlichen Verbindungen entstehenden Hydroxyde mit in Rechnung zu ziehen bzw. in Abzug zu bringen.

Hrn. A. Carl danken wir für die freundliche Mithilfe bei Durchführung dieser Untersuchung. Außerdem drücken wir der William G. Kerckhoff-Stiftung zu Bad Nauheim für die Förderung unserer Arbeiten unseren wärmsten Dank aus.

⁵⁾ Ztschr. anorgan. allgem. Chem. **237**, 145 [1938]; vergl. auch F. Reiff u. R. Neumann, ebenda **238**, 103 [1938].

⁶⁾ Auf diese Untersuchungen hat uns in liebenswürdiger Weise Hr. Prof. Dr. H. Reihlen aufmerksam gemacht.