

*Durchführung der Sensibilisierungsversuche*⁹⁾: Es kamen je eine hochempfindliche AgJ-haltige AgBr-Emulsion und eine niedrig empfindliche AgCl-Emulsion zur Anwendung. Die aufgeschmolzene Emulsion wurde 10 Min. mit der methanol. Lösung des Farbstoffs digeriert. Längere Einwirkungsdauer änderte den Effekt nicht. Nach dem Vergießen wurde hinter einem Stufenkeil ohne Filter, mit Gelbfilter und mit Rotfilter belichtet. Die Auswertung erfolgte photometrisch.

⁹⁾ Dem VEB FILMFABRIK AGFA WOLFEN danken wir für vielfache Unterstützung bei diesen Untersuchungen.

EUGEN BAMANN und WOLF-DIETRICH MÜTTERLEIN

Einfluß der Esterstruktur auf die Umsetzungsgeschwindigkeit sowie die Lage der p_H -Wirkungsoptima bei der metallionen-katalytischen Spaltung von Phosphorsäureestern¹⁾

Aus dem Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München
(Eingegangen am 30. Januar 1958)

*Meinem hochverehrten Fakultätskollegen Herrn Professor Dr. Otto Renner
in aufrichtiger Verbundenheit gewidmet anlässlich seines 75. Geburtstages*

Für die bei der metallionenkatalytischen Spaltung von Estern der Phosphorsäure auftretende Substratspezifität dürfte in erster Linie die partielle Polarisierung der Esterbindung ausschlaggebend sein, da die *Zerfallsgeschwindigkeit* des Reaktionszwischenproduktes vornehmlich den Umsatz bestimmt. Die geringere Spaltungsgeschwindigkeit der *Di*-Ester gegenüber derjenigen der *Mono*-Ester ist auf *Affinitäts*-Unterschiede der beiden Substratgruppen zum Katalysator zurückzuführen. — Elektronegative Substituenten in der Estermolekel bedingen nicht nur raschere Hydrolyse, sondern gleichzeitig auch eine Verschiebung der p_H -Spaltungsoptima gegen das neutrale Gebiet hin.

A. ZUSAMMENHANG ZWISCHEN ESTERSTRUKTUR UND LAGE DER p_H -SPALTUNGSOPTIMA

Bei der metallionenkatalytischen Spaltung von Phosphorsäureestern findet sich außer dem schon früher beobachteten Wirkungsoptimum im *schwach* alkalischen Milieu^{2,3)} ein weiteres, *zweites* Maximum bei p_H um 10, auf das wir in der vorausgehenden Untersuchung⁴⁾ aufmerksam gemacht haben. Bekannt sind bereits die

¹⁾ XXI. Mitteil. der in Ber. dtsh. chem. Ges. **71**, 1711, 1980, 2086, 2233 [1938]; Chem. Ber. **81**, 442, 451, 455, 463 [1948]; Biochem. Z. **325**, 413 [1953/54]; **326**, 89, 161, 237 [1954/55]; Chem. Ber. **88**, 199 [1955]; Biochem. Z. **326**, 507 [1954/55]; Chem. Ber. **88**, 1726, 1846 [1955]; Biochem. Z. **328**, 12 [1956/57]; Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. **289/61**, 338, 428 [1956]; Chem. Ber. **91**, 471 [1958] veröffentl. Untersuchungsreihe. Vgl. auch: Naturwissenschaften **43**, 326 [1956]; **44**, 232, 328 [1957].

²⁾ E. BAMANN, Angew. Chem. **52**, 186 [1939].

³⁾ E. BAMANN, J. RIEHL und R. NICOLAI, Biochem. Z. **328**, 12 [1956/57].

⁴⁾ E. BAMANN und W.-D. MÜTTERLEIN, Chem. Ber. **91**, 471 [1958].

Ursache für das Auftreten dieser beiden Optima sowie Verschiebungen, die besonders auffallend die Lage des ersten, im schwach alkalischen Medium liegenden Maximums betreffen.

Die Verschiebung des ersten Optimums wird, wie sich nunmehr ergibt, durch die Struktur der Alkoholkomponente des Esters verursacht: Die Einführung elektrophiler Substituenten, wie OH und Cl, bedingt eine Verlagerung ins neutrale Gebiet; elektronenabstoßende Substituenten, wie die Isopropylgruppe, haben dagegen eine Verschiebung des ersten Optimums ins stärker alkalische Milieu zur Folge. Bei einer Anordnung der Ester nach dem p_H -Wert ihrer *ersten* Wirkungsoptima erhält man folgende aus Tab. 1 ersichtliche Reihe:

Tab. 1. Vergleich der Lage des ersten p_H -Wirkungsoptimums sowie der Umsetzungsgeschwindigkeit verschiedener Monoester der Phosphorsäure⁵⁾
Der Vers.-Ansatz von 10 ccm enthält 4 ccm 2,5*n* Ammoniak/Ammoniumchlorid-Puffer, $3 \cdot 10^{-4}$ Mol Substrat und $2 \cdot 10^{-4}$ Mol Katalysator; $t = 37^\circ$; Reaktionszeit: 24 Stdn.; Zugabefolge B*)

Ester	Cer(III)		Lanthan	
	Spaltungs- optimum bei p_H	Spaltungs- grad in %	Spaltungs- optimum bei p_H	Spaltungs- grad in %
Glycerin- β -phosphorsäure	8.6	27	8.6	26
Mono-[[β - β' -dichlor-isopropyl]- phosphat	8.9	20	8.6	26
Glycerin- α -phosphorsäure	9.1	17	8.6	13
Propylenglykol-monophosphor- säure	9.1	17	8.6	13
Äthylenglykol-monophosphor- säure	9.1	16	8.6	10
Mono-[[β -chlor-äthyl]-phosphat	9.1	19	8.8	4.5
Mono-methyl-phosphat	9.2	15.5	9.2	1.3
Mono-äthyl-phosphat	9.2	10	8.9	1.3
Mono-n-propyl-phosphat	9.5	11	8.9	1.5
Mono-isopropyl-phosphat	9.5	6	9.5	0.9

*) Substrat + Puffer + Metallsalz

Der induktive Effekt von OH und Cl, der bekanntlich aciditätssteigernd wirkt, bietet eine einfache Erklärung. Bei solchen Substraten ist bereits im Bereich niedrigerer p_H -Werte eine ausreichende Konzentration an Dianionen $RO-PO_3^{2\ominus}$ vorhanden, die mit dem $La(OH)_2^{2\oplus}$ das zerfallsfähige Zwischenprodukt bilden⁴⁾. Bei diesen Estern liegt das erste Optimum daher näher am Neutralpunkt⁶⁾. Bekannten Prinzipien

⁵⁾ Die Festlegung der p_H -Werte erfolgte mittels „Spezialindikator Papier Merck“. Bestimmungen auf elektrochemischem Wege (p_H -Meter nach L. PUSL) ergeben jeweils niedrigere p_H -Werte, so daß bei Zugrundelegung dieser Meßwerte sich die Kurvenbilder etwas nach dem Neutralen hin verschieben.

⁶⁾ E. J. KING und G. E. DELORY, *Biochem. J.* **33**, 1185 [1939], finden bei der *enzymatischen* Hydrolyse durch *alkalische* Phosphatasen, daß mit dem Anwachsen der Acidität des Substrates eine Verschiebung der Lage des p_H -Optimums zu höheren p_H -Werten hin erfolgt.

Bei der Hydrolyse durch *saure* Phosphatasen wird dagegen durch G. E. DELORY, G. S. WILBERG und M. HETHERINGTON, *Canad. J. Biochem. Physiol.* **33**, 539 [1955], bei steigender Acidität des Esters eine Verlagerung des p_H -Wirkungsoptimums nach der sauren Seite hin festgestellt. Vgl. hierzu die Beobachtungen von E. BAMANN und J. RIEHL, *Naturwissenschaften* **44**, 538 [1957].

folgend, nimmt die acidifizierende Wirkung der Substituenten mit steigender Entfernung rasch ab.

Der Wechsel des Katalysators, z. B. Lanthan, Cer(III) oder Cer(IV), läßt bei den von uns geprüften Estern die Lage der Hydrolysen-Optima unverändert.

B. HYDROLYSEGESCHWINDIGKEIT UND ESTERSTRUKTUR

Soweit das Auftreten von Spezifitätserscheinungen bei metallionenkatalytischen Umsetzungen auf dem verschiedenen Verhalten *eines* Katalysators *mehreren* Estern gegenüber beruht^{3,7)}, können von vornherein Zusammenhänge zwischen der Verseifungsgeschwindigkeit und der Esterkonstitution zugrunde gelegt werden.

So kommt die bedeutend raschere Umsetzung des Mono- und Di-*phenyl*-phosphats in Gegenwart von Cer(III) und Lanthan gegenüber der trägeren Spaltung der untersuchten *aliphatischen* Mono- und Diester in erster Linie durch die höhere *Zerfallsgeschwindigkeit* des aromatischen Zwischenproduktes zustande³⁾. Auch die gesetzmäßige Abnahme der Hydrolysegeschwindigkeit der Ester einwertiger Alkohole mit deren zunehmender Kettenlänge ist in dem Sinken der *Zerfallsgeschwindigkeit* der Reaktionszwischenprodukte Methylester-Metallsalz \rightarrow n-Butylester-Metallsalz begründet³⁾. Ebenso ist die bis zu etwa 70° unmeßbar kleine *Zerfallsgeschwindigkeit* dafür verantwortlich, daß eine Anzahl hydroaromatischer Monoester der Phosphorsäure bis zu dieser Temperatur metallionenkatalytisch nicht gespalten werden kann³⁾ (weitere Substrate vgl. Kap. V, 4 unserer XVII. Mitteil.³⁾).

Kurz bevor wir diese Einblicke gewannen, hatten andere Autoren die *erleichterte Bildung* des Reaktionszwischenproduktes durch Koordination des Metallions mit dem O- oder N-Atom der substituierten Ester als ausschlaggebend für deren raschere Umsetzung in Erwägung gezogen.

So erwähnt A. DETTER⁸⁾ bei der Diskussion der Substratspezifität im Falle der Spaltung von α - und β -Glycerinphosphorsäure: „Muß die Hydrolyse nicht schneller erfolgen, wenn das Metall-Ion durch zwei flankierende Hydroxylgruppen an die Esterbindung herangebracht wird? Beim α -Glycerophosphat ist nur eine OH-Gruppe benachbart!“ Und W. W. BUTCHER und F. H. WESTHEIMER⁹⁾, die bei der Verseifung von Phosphorsäureestern mit Lanthan ein Anwachsen des Hydrolysegrades durch Einfügen eines Substituenten in das Substrat beobachtet haben, führen diese Steigerung der Spaltungsgeschwindigkeit ebenfalls auf eine Koordination des O- oder N-Atoms dieser Substituenten mit dem Lanthanion zurück.

Die eigenen Versuche, bei denen wir außer den von anderen Autoren bisher herangezogenen Substituenten mit O- oder N-Atom auch solche Gruppen verwendet haben, die zu einer Koordination *nicht* oder nur *sehr wenig* befähigt sind, haben zu folgendem

⁷⁾ E. BAMANN und M. MEISENHEIMER, Ber. dtsh. chem. Ges. **71**, 1711, 1980, 2086, 2233 [1938]; E. BAMANN und E. NOWOTNY, Chem. Ber. **81**, 451, 455, 463 [1948]; E. BAMANN, F. FISCHLER und H. TRAPMANN, Biochem. Z. **325**, 413 [1953/54]; E. BAMANN, H. TRAPMANN und F. FISCHLER, Biochem. Z. **326**, 89 [1954/55]; E. BAMANN und H. TRAPMANN, Biochem. Z. **326**, 161, 237 [1954/55]; Chem. Ber. **88**, 199 [1955]; Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. **289/61**, 338 [1956]; E. BAMANN und A. SCHUEGRAF, Biochem. Z. **326**, 507 [1954/55]; E. BAMANN, H. TRAPMANN und A. SCHUEGRAF, Chem. Ber. **88**, 1726 [1955]; E. BAMANN, L. FERNANDEZ SANCHEZ und H. TRAPMANN, Chem. Ber. **88**, 1846 [1955].

⁸⁾ Dissertat. Univ. München 1955.

⁹⁾ J. Amer. chem. Soc. **77**, 2420 [1955].

überraschenden Ergebnis geführt: Bei der Anordnung der Ester nach ihrer Umsetzungsgeschwindigkeit wird die gleiche Reihenfolge erhalten, wie sie bei der Ordnung nach der Lage des ersten p_H -Optimums auftritt (vgl. Tab. 1). Beide Effekte gehen also parallel.

Die Aktivitäts- p_S -Kurven der Glycerinphosphorsäuren (Abbild. 1) zeigen, daß in jeder Konzentration ($mol/_{10}$ bis $mol/_{10000}$) das β -Isomere schneller gespalten wird als die α -Glycerinphosphorsäure. Die „scheinbaren Affinitätskonstanten“ sind aber ziemlich gleich und betragen nach zweistündiger Hydrolysedauer:

Ester	K_A	p_S am Wp.
Glycerin- α -phosphorsäure	950	2.925
Glycerin- β -phosphorsäure	840	2.975

Die Hydrolyse der β -Glycerinphosphorsäure erfolgt jedoch deutlich rascher als die des α -Isomeren. Diesen Effekt, der aus der größeren Zerfallsgeschwindigkeit der Zwischenverbindung resultiert, wird man wohl mit der stärkeren Polarisierung der O-P-Bindung durch zwei OH-Gruppen in Nachbarstellung erklären dürfen. Die Spaltung ist fast doppelt so groß wie die der α -Verbindung, die nur eine flankierende Hydroxylgruppe besitzt. Die in γ -Stellung befindliche OH-Gruppe der α -Glycerinphosphorsäure hat wegen der größeren Entfernung keinen so starken Einfluß mehr auf die Esterbindung. Zur Koordination mit dem Lanthanion ist sie aber in gleichem Maße wie eine Hydroxylgruppe in β -Position befähigt, was sich in der Übereinstimmung der „scheinbaren Affinitätskonstanten“ äußert.

Bei der sauren Hydrolyse der beiden Substrate fand M. C. BAILLY¹⁰⁾ eine etwa doppelt so große Hydrolysegeschwindigkeit des β -Isomeren gegenüber derjenigen der α -Glycerinphosphorsäure. Auch hier, wo gar kein Koordinationseffekt möglich ist, wird die Verbindung mit zwei flankierenden OH-Gruppen infolge der Polarisierung der Esterbindung schneller hydrolysiert.

Mono-*n*-propyl- und Mono-isopropyl-phosphat (Abbild. 1) weisen bei Versuchen mit zweistündiger Hydrolysedauer gleichfalls eine untereinander sehr ähnliche „scheinbare Affinitätskonstante“ auf, wie die angefügte Übersicht zeigt:

Ester	K_A	p_S am Wp.
Mono- <i>n</i> -propyl-phosphat	475	2.765
Mono-isopropyl-phosphat	530	2.725

Die Bildung der Zwischenverbindung ist bei beiden Estern also ebenfalls in annähernd gleichem Maße gewährleistet. Infolgedessen muß die unterschiedlich rasche Hydrolyse durch die Zerfallsgeschwindigkeit der Reaktionszwischenprodukte verursacht sein. Die langsamere Verseifung des Mono-isopropyl-phosphats kann man wohl mit der stärker elektronenabstoßenden Wirkung der Isopropyl- gegenüber der Propylgruppe erklären.

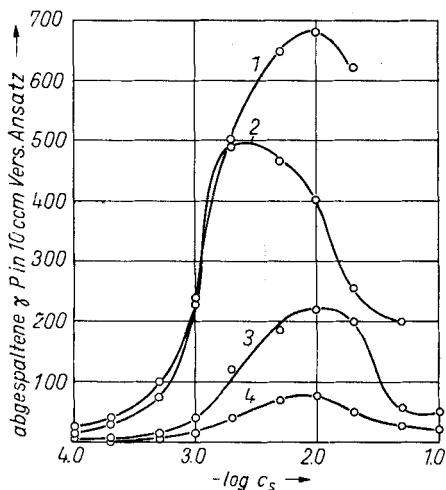
Beim Vergleich aller vier Substrate miteinander wird der Unterschied zwischen den substituierten und den unsubstituierten Estern deutlich. Die bessere Spaltbarkeit der

¹⁰⁾ Bull. Soc. chim. France, Mém. 9, 314 [1942].

beiden Glycerinphosphorsäuren gegenüber dem Mono-*n*-propyl- und dem Mono-iso-propyl-phosphat hat zwei Gründe:

1. Die OH-Gruppen der Glycerinphosphorsäuren ermöglichen eine leichtere Bildung der Zwischenprodukte: Die Affinität dieser Substrate zum Metallion ist größer als bei den unsubstituierten Estern.

2. Die Zerfallsgeschwindigkeiten sind bei α - und β -Glycerinphosphorsäure wesentlich größer als bei den Propyl-phosphaten. Dies beruht auf der partiellen Polarisierung durch die elektronegativen Gruppen der substituierten Ester.



Abbild. 1.

Aktivitäts- p_S -Kurven bei der Spaltung der Glycerinphosphorsäuren und der Propylphosphate mit 3-wertigem Cer

Der Vers.-Ansatz von 10 ccm enthält 4 ccm 2.5 *n* Ammoniak/Ammoniumchlorid-Puffer, p_H 8.6, zwischen 10^{-3} und 10^{-6} Mol Substrat und $2 \cdot 10^{-4}$ Mol $Ce(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$; $t = 37^\circ$; Reaktionszeit 2 Stdn.; Zugabefolge B.

(1) Glycerin- β -phosphorsäure, (2) Glycerin- α -phosphorsäure, (3) Mono-*n*-propylphosphat, (4) Mono-isopropylphosphat

Eine weitere Möglichkeit, die Bedeutung der Koordination gegenüber der Polarisierung festzustellen, ergibt sich in der Reihe der Monoester der Tab. 2 und Abbild. 2. Die „scheinbaren Affinitätskonstanten“ sowie die jeweiligen Substratkonzentrationen am Wendepunkt sind in folgender Übersicht zusammengestellt¹⁾:

	Cer(III)		Lanthan	
	K_A	p_S am Wp.	K_A	p_S am Wp.
Glycerin- α -phosphorsäure	3550	3.550	475	2.675
Äthylenglykol-monophosphorsäure	5000	3.700	1495	3.175
Propylenglykol-monophosphorsäure	3350	3.525	595	2.775
Mono-[β - β' -dichlor-isopropyl]-phosphat	280	2.450	210	2.325

Der Übersicht der Tab. 2 und der Abbild. 2 ist zu entnehmen:

1. Die „scheinbaren Affinitätskonstanten“ und die Zerfallsgeschwindigkeiten sind im Falle der Cer-Katalyse stets größer als bei der Lanthan-Katalyse; Cer spaltet

¹⁾ Die Aktivitäts- p_S -Kurven dieser Ester sind mit einer Katalysatorkonzentration von $mol/500$ bei p_H 8.3 aufgenommen worden. Dadurch unterscheiden sich diese Messungen von jenen, die an den Glycerinphosphorsäuren sowie dem Mono-*n*-propyl- und dem Mono-isopropyl-phosphat durchgeführt sind.

Wenn auch dadurch eine direkte Vergleichsmöglichkeit leider entfällt, so liefern die gewonnenen Resultate doch den neuen Gesichtspunkt, daß bei wechselnder Konzentration die „scheinbaren Affinitätskonstanten“ einem Gang unterliegen, wie E. BAMANN, J. RIEHL und R. NICOLAI³⁾ vermutet haben.

daher bei diesem p_H die angeführten Substrate in jeder Konzentration besser als Lanthan. Nur bei der Propylenglykol-monophosphorsäure gibt es einen Konzentrationsbereich, in dem die Lanthan-Katalyse wirksamer ist als die Cer-Katalyse. Diese Spezifitätsverschiebung ist „im Verlauf und in der gegenseitigen Lage der beiden Aktivitäts- p_S -Kurven begründet“⁽³⁾.

Tab. 2. Umsatz von Glycerin- α -phosphorsäure, Äthylenglykol-monophosphorsäure, Propylenglykol-monophosphorsäure und Mono- $[\beta,\beta'$ -dichlor-isopropyl]-phosphat bei Einwirkung von Cer und Lanthan im Falle *verschiedener* Substratkonzentration

Der Vers.-Ansatz von 10 ccm enthält 4 ccm 2.5 *n* Ammoniak/Ammoniumchlorid-Puffer, p_H 8.3, Substrat in der angegebenen Konzentration und $2 \cdot 10^{-5}$ Mol $Ce(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$ bzw. $La(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$; $t = 37^\circ$; Reaktionszeit: 24 Stdn.; Zugabefolge B.

Die Zahlen geben die abgespaltenen Mengen an P in γ an.

a) Mit $Ce(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$

Substrat	$-\log c_S$	1.0	1.3	1.7	2.0	2.3	2.7	3.0	3.3	3.7	4.0
Glycerin- α -phosphorsäure	—	—	90	110	125	130	127	98	50	27	
Äthylenglykol-monophosphorsäure	—	—	18	34	53	70	78	64	40	25	
Propylenglykol-monophosphorsäure	15	17	20	25	41	70	95	73	36	20	
Mono- $[\beta,\beta'$ -dichlor-isopropyl]-phosphat	—	—	170	280	160	65	45	35	28	26	

b) Mit $La(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$

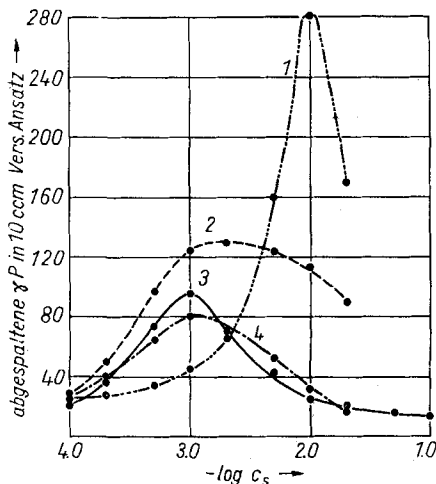
Substrat	$-\log c_S$	1.0	1.3	1.7	2.0	2.3	2.7	3.0	3.3	3.7	4.0
Glycerin- α -phosphorsäure	—	—	88	97	85	47	28	15	7	4	
Äthylenglykol-monophosphorsäure	—	—	12	20	25	28	17	12	8	6	
Propylenglykol-monophosphorsäure	—	—	60	70	58	40	23	13	5	3	
Mono- $[\beta,\beta'$ -dichlor-isopropyl]-phosphat	—	—	110	245	130	54	28	17	12	10	

Abbild. 2.

Aktivitäts- p_S -Kurven bei der Spaltung einiger substituierter Ester mit 3-wertigem Cer

Der Vers.-Ansatz von 10 ccm enthält 4 ccm 2.5 *n* Ammoniak/Ammoniumchlorid-Puffer, p_H 8.3, zwischen 10^{-3} und 10^{-6} Mol Substrat und $2 \cdot 10^{-5}$ Mol $Ce(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$; $t = 37^\circ$; Reaktionszeit: 24 Stdn.; Zugabefolge B.

- (1) Mono- $[\beta,\beta'$ -dichlor-isopropyl]-phosphat, (2) Glycerin- α -phosphorsäure, (3) Propylenglykol-monophosphorsäure, (4) Äthylenglykol-monophosphorsäure



2. Die Ester mit Hydroxylgruppen haben eine weit größere Affinität als der dichlor-substituierte Ester. Die Bildung des Zwischenproduktes wird also vornehmlich durch die OH-Gruppen begünstigt. Chlor ist demnach nicht oder nur in geringem Maße zur Koordination fähig.

3. Mehr als von der Affinität hängt der Hydrolysegrad von der Zerfallsgeschwindigkeit der Reaktionszwischenprodukte ab, die durch partielle Polarisierung mittels elektronegativer Gruppen beeinflusst wird. Dies erklärt die große Hydrolysegeschwindigkeit des Dichlor-esters, da Chlor stärker elektronenanziehend wirkt als die Hydroxylgruppe.

Diese Tatsachen bestätigen überzeugend, daß entgegen der Ansicht von DETTER sowie von BUTCHER und WESTHEIMER eine größere Hydrolysegeschwindigkeit vor allem durch stärkere Polarisierung der Esterbindung hervorgerufen wird und daß erst in zweiter Linie an eine begünstigte Bildung des Reaktionszwischenproduktes zu denken ist. Nur die OH-Gruppe tritt in eine ausgeprägte koordinative Beziehung zum Metallion, nicht aber das Halogen.

Als eindrucksvolles Beispiel für einen Fall der ausschlaggebenden Rolle der *Affinität* verbleibt die viel langsamer verlaufende Hydrolyse der *Di*-Ester im Vergleich zu derjenigen der *Mono*-Ester. Sie ist sowohl bei den aliphatischen als auch bei den aromatischen Estern in erster Linie in der Abnahme der Affinität begründet, welche der Abnahme des konstitutionell bedingten Basenbindungsvermögens dieser beiden Substratklassen parallel verläuft³⁾. Weiterhin ist an dieser Stelle auch die etwas raschere Hydrolysierbarkeit der 2'- gegenüber den 3'-Isomeren der Mononucleotide anzuführen, die wir in Abschnitt C dieser Arbeit mit einer verschiedenen starken *Koordination* begründen.

C. BEITRAG ZUR THEORETISCHEN ERKLÄRUNG EXPERIMENTELL ERMITTELTEN SPEZIFITÄTSUNTERSCHIEDE

Die in früheren Arbeiten gefundenen Spezifitätsunterschiede bei der Spaltung physiologisch wichtiger Ester finden nun eine theoretische Erklärung:

1. Die leichtere Spaltbarkeit der Ribo- gegenüber der Desoxyribonucleinsäure beruht zunächst auf einer begünstigten Bildung der Zwischenverbindung, wie BAMANN, TRAPMANN und FISCHLER⁷⁾ bereits gefolgert haben. Die von ihnen darüber hinaus vermutete größere Zerfallsneigung dieses „cyclisierten“ Moleküls wird durch die vorliegende Untersuchung als sicher und ausschlaggebend bestätigt.

2. Glucose-1-phosphat wird durch Cer und Lanthan (aber auch durch Enzyme, H- und OH-Ionen) wesentlich schneller verseift als Glucose-6-phosphat^{12,13)}. Die unterschiedliche Hydrolysierbarkeit dieser beiden Isomeren leiten wir von ihrer Konstitution ab.

Glucose-1-phosphat trägt in α -Stellung zur Phosphorsäuregruppierung eine Äther- und in β -Position eine OH-Gruppe, welche zur Polarisierung der Bindung beitragen und damit eine schnellere Verseifung hervorrufen. Glucose-6-phosphat enthält nur in der β -Position einen Äthersauerstoff; eine langsamere Hydrolyse ist die Folge.

¹²⁾ E. BAMANN, F. FISCHLER und H. TRAPMANN, *Biochem. Z.* **325**, 413 [1953/54].

¹³⁾ Die unterschiedlich rasche Hydrolyse von Galaktose-6- und Glucose-6-phosphat ist schwieriger zu deuten, da diese Zuckerphosphate nur bezüglich C-4 epimer sind. Beide besitzen in γ -Stellung eine Hydroxylgruppe, die nur durch ihre *räumliche* Anordnung eine differenzierte Wirkung ausübt.

3. Die Hefeadenylsäure wird mit H-Ionen etwa 5mal schneller als die Muskeladenylsäure verseift. Auch die Phosphatase-Modelle spalten das zuerst genannte Substrat rascher¹²⁾. Die unterschiedliche Geschwindigkeit der Spaltung erklären wir ebenfalls aus der Struktur dieser beiden Säuren: Im Falle der Hefeadenylsäure liegt eine Hydroxylgruppe in Nachbarstellung zum Phosphorsäurerest, während sich bei der Muskeladenylsäure — so wie beim Glucose-6-phosphat — die nächste Sauerstoff-Funktion in β -Stellung befindet.

Ganz allgemein werden die 3'-Isomeren der Mononucleotide (mit α -ständigem Hydroxyl) besser hydrolysiert als die 5'-Isomeren, wie die experimentellen Befunde von BAMANN und TRAPMANN¹⁴⁾ an den Adenosin-, Cytidin-, Uridin- sowie den Inosin-phosphaten ergeben haben¹⁵⁾. Diese generellen Unterschiede bezüglich der Hydrolysegeschwindigkeit finden die gleiche Erklärung wie im Falle der isomeren Adenylsäuren.

4. Serinphosphat wird schneller dephosphoryliert als Threoninphosphat¹⁶⁾. Das höhere Homologe besitzt in Nachbarstellung zur Estergruppierung eine Methylgruppe, die als elektronenabstoßender Substituent die festere Bindung zwischen O und P und die damit zusammenhängende geringere Hydrolysegeschwindigkeit bedingt.

Herr Dr. H. TRAPMANN, wissenschaftlicher Assistent am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München, hat der vorstehenden Untersuchung wertvolle Förderung zuteil werden lassen, wofür wir ihm unseren aufrichtigen Dank aussprechen.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Über *Substrate, Metallsalze, Versuchsansatz* sowie *Bestimmung des anorganischen Phosphats* siehe die vorausgehende Mitteilung dieser Untersuchungsreihe⁴⁾.

¹⁴⁾ E. BAMANN und H. TRAPMANN, *Biochem. Z.* **326**, 237 [1954/55].

¹⁵⁾ Die etwas raschere Hydrolysierbarkeit der 2'- gegenüber den 3'-Isomeren der Mononucleotide wird durch die verschiedene Entfernung der Estergruppierung zum Purin- bzw. Pyrimidinring verständlich. Beide heterocyclischen Ringe dürften in starkem Maße zur Koordination mit dem Katalysator befähigt sein.

Hier nehmen wir also nur eine verschieden starke Koordination an, während beim Vergleich zwischen 3'- und 5'-Isomeren außerdem die unterschiedliche Zerfallsneigung hinzukommt. Tatsächlich werden auch die 2'-Isomeren höchstens *doppelt* so schnell hydrolysiert wie die 3'-Isomeren, während die 5'-Isomeren etwa *zehnmal* langsamer verseift werden als die 3'-Isomeren.

¹⁶⁾ E. BAMANN, H. TRAPMANN und A. SCHUEGRAF, *Chem. Ber.* **88**, 1726 [1955].