

langsame Ausbildung eines besonderen Komplexes mit dem Triamid und nicht auf eine Amidspaltung zurückzuführen wäre. In einem Ansatz mit  $\text{Cu}^{2+}$ , der nach 100 Std. durch  $\text{H}_2\text{S}$  von  $\text{Cu}^{2+}$  befreit und nach Entfernen des  $\text{H}_2\text{S}$  erneut mit Kupferionen versetzt wurde, bildete sich sofort wieder in gleichem Umfange der intensiv blau-gefärbte Komplex.

Alle spektrophotometrischen Messungen wurden mit einem *Unicam*-Spektrophotometer SP 500 durchgeführt.

Dem *Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* danken wir für einen Beitrag an die Kosten unserer Untersuchungen.

Dem *griechischen Ministerium für Erziehung* dankt *I. Ph.* für die Gewährung eines Urlaubs.

#### SUMMARY.

The rate of hydrolysis of an amide bond in a coordination compound of  $\text{Cu}^{2+}$  and nitrilotriacetic acid triamide has been determined.

Anstalt für Anorganische Chemie  
der Universität Basel.

## 178. Stabilität und Kinetik bei Komplexbildungsreaktionen.

### V. Spezifitätsprobleme bei Metallkomplexen und ihre Bedeutung für die Biochemie

von **H. Braun**, **S. Fallab** und **H. Erlenmeyer**.

(26. VI. 56.)

Wir haben uns in früheren Mitteilungen<sup>1)2)3)</sup> bereits mit einem Problem beschäftigt, das sich aus Ergebnissen in zwei Beobachtungsbereichen ableiten lässt.

Ein Ausgangspunkt ist die von verschiedenen Autoren in zahlreichen Versuchen ermittelte Feststellung, dass die Metallionen sich nach ihrer Eigenschaft, durch Koordinierung stabile Komplexverbindungen aufzubauen, in eine Reihe sinkender Stabilität ordnen lassen, die unabhängig von der Natur der Liganden ist<sup>4)</sup>. Unter Berücksichtigung der wichtigsten Metalle gilt für die  $\text{M}^{2+}$ -Ionen die Reihenfolge:  $\text{Cu}^{2+}$   $\text{Ni}^{2+}$   $\text{Co}^{2+}$   $\text{Fe}^{2+}$   $\text{Mn}^{2+}$   $\text{Mg}^{2+}$ . Diese Reihe ist an einem sehr grossen Material verschiedenartigster Liganden ermittelt worden. Die damit gegebenen Stabilitätsunterschiede von Komplexen verschie-

<sup>1)</sup> *P. G. Läger, S. Fallab & H. Erlenmeyer*, *Helv.* **37**, 1050 (1954).

<sup>2)</sup> *S. Fallab, Margrit Schuster & H. Erlenmeyer*, *Experientia* **12**, 207 (1956).

<sup>3)</sup> *G. H. Wolff & S. Fallab*, *Helv.* **39**, 999 (1956).

<sup>4)</sup> *H. Irving & R. J. P. Williams*, *J. chem. Soc.* **1953**, 3192; *D. P. Mellor & L. Maley*, *Nature* **159**, 370 (1947); **161**, 436; *P. Pfeiffer, H. Thielert & H. Glaser*, *J. prakt. Chem.* **152**, 145 (1939).

dener Metallionen mit dem gleichen Liganden führen dazu, wie in verschiedenen Versuchen gezeigt werden konnte<sup>5)</sup>, dass in einem vorgelegten Komplex durch Zusatz eines zweiten, koordinativ stärkeren Metallions immer ein Austausch erfolgt.

Andererseits liegen aber gesicherte Angaben vor, dass in den in der Natur vorhandenen Metallfermenten<sup>6)7)</sup> und anderen biologisch wichtigen Metallverbindungen häufig Metallionen vorhanden sind, die nach ihrer Stellung in der Stabilitätsreihe als koordinativ schwach zu bezeichnen sind, und dies, trotzdem z. B. im Serum freies  $\text{Cu}^{2+}$  in einer Konzentration von ca.  $10^{-6}$  vorhanden ist<sup>8)</sup>.

Die Gegenüberstellung dieser Gegebenheiten führt zur Frage: Wie ist es möglich, dass bei der in jedem biologischen Milieu gegebenen Kupferionen-Konzentration Metallfermente, die, wie z. B. die Hexokinase,  $\text{Mg}^{2+}$  enthalten<sup>7)</sup>, aufgebaut werden und sich erhalten können?

Wir wollen im folgenden zwei Gesichtspunkte erörtern, die zu der Auffassung führen, dass, wenn auch eine qualitative Strukturspezifität der Komplexbildung in dem Sinne, „dass die einzelnen Metallionen oder Gruppen ähnlicher Ionen vielfach nur auf organische Molekeln von besonderem Aufbau ansprechen, d. h. also, dass gewisse Atomgruppierungen für verschiedene Metalle spezifisch sind<sup>9)</sup>“, nicht mehr zu diskutieren ist, sich jedoch quantitativ zu formulierende Phänomene der Spezifität angeben lassen, aus denen Hinweise für eine Deutung des angeführten biochemischen Problems sich gewinnen lassen.

Eine erste Differenzierung in diesem Sinne wird durch einen Vergleich von Dipyridyl und einer Aminosäure wie z. B. Glycin als Komplexbildner deutlich. Bei beiden Verbindungen ist der Kupferkomplex stabiler als der Fe-Komplex. Vergleicht man jedoch die Stabilitäts-Konstanten von Dipyridyl und Glycin ( $[\text{Cu}(\text{Dipy})_3]^{2+} \sim 10^{18}$ ,  $[\text{Fe}(\text{Dipy})_3]^{2+} \sim 10^{17}$  und  $[\text{Cu}(\text{Gl})_2] \sim 10^{16}$ ,  $[\text{Fe}(\text{Gl})_2] \sim 10^8$ )<sup>10)</sup> für die beiden Ionen, so sieht man, dass die Werte beim Dipyridyl bedeutend näher beieinanderliegen als bei der Aminosäure. Es bedeutet dies, dass der „Spreitungsfaktor“ für zwei Metallionen für jeden Komplexbildner charakteristisch ist, und dass dementsprechend auch Strukturen möglich sind, bei denen eine Angleichung oder viel-

<sup>5)</sup> H. Ackermann & G. Schwarzenbach, *Helv.* **35**, 485 (1952); P. G. Läger, S. Fallab & H. Erlenmeyer, *Helv.* **38**, 92 (1955); W. Regenass, S. Fallab & H. Erlenmeyer, *Helv.* **38**, 1448 (1955).

<sup>6)</sup> B. L. Vallee & H. Neurath, *J. Amer. chem. Soc.* **76**, 5006 (1954); E. L. Smith, A symposium on the mechanism of enzyme action, Baltimore 1954, p. 291; R. J. P. Williams, *Nature* **177**, 304 (1956); H. R. Mahler & D. E. Green, *Science* **120**, 7 (1954).

<sup>7)</sup> J. Raaflaub & I. Leupin, *Helv.* **39**, 832 (1956).

<sup>8)</sup> F. Fallab & H. Erlenmeyer, *Experientia* **11**, 174 (1955).

<sup>9)</sup> W. Prodingler, *Organische Fällungsmittel in der quantitativen Analyse*, Stuttgart 1954, p. 1.

<sup>10)</sup> A. E. Martell & M. Calvin, *Chemistry of the metal chelate compounds*, New York 1952, p. 524.

leicht sogar eine Umstellung in der Ionenreihe auftritt<sup>3</sup>). Durch solche strukturspezifische Spreitungsfaktoren würde den dem  $\text{Cu}^{2+}$  folgenden Ionen auch in Gegenwart von  $\text{Cu}^{2+}$  bei geeigneten Konzentrationsverhältnissen die Ausbildung von Metallkomplexen ermöglicht. Andererseits ist es aber nach den vorliegenden Beobachtungen unwahrscheinlich, dass durch eine solche „Spezifität“ eine so grosse Spreitung, wie sie für  $\text{Cu}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  gilt – z. B. für Glycin  $\text{Cu}(\text{Gl})_2 \sim 10^{16}$ ,  $\text{Mg}(\text{Gl})_2 \sim 10^4$ <sup>10</sup>) – ausgeglichen werden kann.

Eine weitere Strukturspezifität zwischen Liganden und bestimmten Ionen ist nun, wie wir fanden, in dem Sinne vorhanden, dass die Geschwindigkeiten, mit der die Komplexbildungen erfolgen, beim gleichen Liganden für verschiedene Ionen sehr stark verschieden sein können, so dass in einem System aus einem Liganden und zwei Ionen sich zuerst der Komplex mit dem schwächeren Ion bilden kann und auch für längere Zeit beständig bleibt, d. h. es gehen Stabilität und Bildungsgeschwindigkeit bei Metallkomplexen nicht immer parallel.

Eine solche durch die Kinetik der Komplexbildung bedingte Spezifität ist z. B. bei Dipyridyl in seinem Verhalten gegen  $\text{Cu}^{2+}$  und  $\text{Fe}^{2+}$  zu beobachten.

Versetzt man eine  $\text{Cu}^{2+}$  und  $\text{Fe}^{2+}$  enthaltende Lösung mit Dipyridyl, so bildet sich, wie den früher beschriebenen Versuchen entnommen werden kann<sup>1</sup>), zuerst der  $[\text{Fe}(\text{Dipy})_3]^{2+}$ -Komplex aus, der dann aber, der grösseren Stabilität entsprechend, im Verlaufe der Zeit (z. B. bei pH 4 und Konzentrationen in der Grössenordnung von  $10^{-3}$  im Verlaufe von 8 Std.) in den  $[\text{Cu}(\text{Dipy})_3]^{2+}$ -Komplex umgeformt wird.

Dass durch eine solche kinetische Spezifität auch sogar die Ausbildung eines  $\text{Mg}^{2+}$ -Komplexes in Gegenwart von  $\text{Cu}^{2+}$  möglich ist, zeigen die folgenden Versuche mit Tetraphenylporphin<sup>11</sup>).

Es ist bekannt, dass Porphine unter Abspaltung von 2  $\text{H}^+$  mit einer grossen Anzahl von Metallionen ausserordentlich stabile Acido-Komplexe bilden<sup>12</sup>).

Den Absorptionsspektren dieser Komplexe, die z. T. schon bekannt sind, lässt sich entnehmen, dass eine spektrophotometrische Verfolgung der Komplexbildungsreaktionen möglich ist, indem je nach dem zentralen Metallion diese Koordinationsverbindungen charakteristische Absorptionsbanden aufweisen. So absorbiert der  $\text{Mg}^{2+}$ -Komplex des Tetraphenylporphins bei 5100 Å und der  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplex bei 5400 Å.

Versetzt man eine Lösung, die  $\text{Mg}^{2+}$  und  $\text{Cu}^{2+}$  in einem Konzentrationsverhältnis von 10:1 enthält, mit einer der  $[\text{Cu}^{2+}]$  äquivalenten

<sup>11</sup>) Zur Darstellung von Tetraphenylporphin siehe: *P. Rothenmund*, *J. Amer. chem. Soc.* **61**, 2912 (1939); siehe auch *W. Thomas & A. E. Martell*, *ibid.* **78**, 1335 (1956).

<sup>12</sup>) *S. Arnoff & M. Calvin*, *J. org. Chemistry* **8**, 205 (1943); *R. J. P. Williams*, *Chem. Rev.* **56**, 299 (1956).

Menge Tetraphenylporphin, so bildet sich, wie aus Fig. 1 zu entnehmen ist, zuerst der  $Mg^{2+}$ -Komplex, in dem mit der Zeit aber das  $Mg^{2+}$  durch das koordinativ stärkere  $Cu^{2+}$  verdrängt wird.

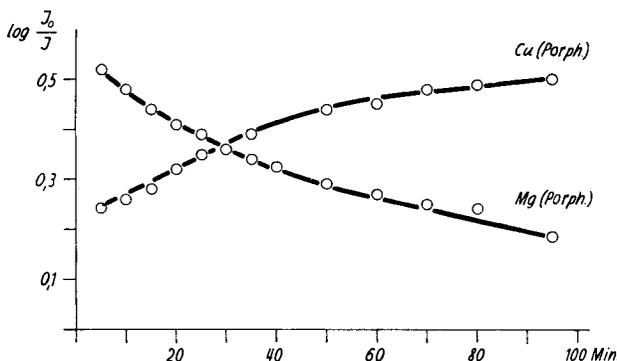


Fig. 1.

Abnahme der Mg-Porphin-Bande, gemessen bei 5100 Å.

Zunahme der Cu-Porphin-Bande, gemessen bei 5400 Å.

Lösungsmittel: Dioxan-Methanol(1:1); Temperatur 24°.

Ausgangskonzentrationen: Tetraphenylporphin  $4 \cdot 10^{-5}$ -m.

$Mg(ClO_4)_2$   $4 \cdot 10^{-4}$ -m.

$Cu(ClO_4)_2$   $4 \cdot 10^{-5}$ -m.

Diesem Befund entspricht die in Einzelversuchen ermittelte Beobachtung, dass der Eintritt eines  $Mg^{2+}$  in das Porphinsystem beinahe momentan erfolgt, die Bildung des roten  $Cu^{2+}$ -Komplexes sich hingegen bei Zimmertemperatur über Stunden erstreckt.

Die Versuche zeigen, dass auch in Gegenwart von  $Cu^{2+}$  die Ausbildung von Magnesium-Chelat-Komplexen erfolgen kann, dass aber ein solcher Mg-Komplex nach einer beschränkten „Lebenszeit“ in den stabilen Cu-Komplex übergeht. Es erscheint möglich, dass solche durch Unterschiede in der Kinetik bedingte Spezifitäten und die damit definierte „Lebensdauer“ von Komplexen von koordinativ schwächeren Ionen für die Biochemie, in der, wie „turnover“-Untersuchungen gezeigt haben<sup>13)</sup>, jede Molekel gleichfalls nach einer bestimmten Zeit ersetzt wird, von Bedeutung sind.

Porphine und Porphin-ähnliche Systeme spielen bei biochemischen Reaktionsfolgen eine relativ wichtige Rolle. Möglicherweise ist in der besonderen Kinetik von Komplexbildungsreaktionen mit solchen Verbindungen der tiefere Grund für die Bevorzugung dieses Strukturprinzips zu suchen.

Dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung danken wir für einen Beitrag an die Kosten unserer Untersuchungen.

<sup>13)</sup> M. D. Kamen, Radioactive tracers in biology, New York 1948, p. 241: Für Eisen ist der „turnover“ des Knochenmarks z. B. sehr schnell: „half of the labeled iron being lost from this organ in 1–2 days“.

## SUMMARY.

The kinetics of complex formation reactions have been studied with Tetraphenylporphine. In the presence of  $Mg^{2+}$  and  $Cu^{2+}$  first the unstable  $Mg^{2+}$  complex is formed and afterwards an exchange reaction, yielding the more stable  $Cu^{2+}$  complex, takes place.

The possible meaning of stability and rate of formation in biochemistry is discussed.

Anstalt für Anorganische Chemie der Universität Basel.

## 179. Papierchromatographische Trennung der natürlichen 2-Desoxyhexamethylosen und deren 3-Methyläther.

Desoxyzucker, 32. Mitteilung<sup>1)</sup>

von **O. Renkonen** und **O. Schindler**.

(7. VII. 56.)

Für die papierchromatographische Unterscheidung der 2-Desoxyhexamethylosen und deren 3-Methyläther, insbesondere für die in digitaloiden Glykosiden vorkommenden Vertreter dieser Gruppe, wurden in der Literatur die folgenden Lösungsmittelsysteme beschrieben<sup>2)</sup>.

*Hirst & Jones*<sup>3)</sup> haben L-Oleandrose und D-Cymarose im System n-Butanol-Äthanol-Wasser (5:1:4) verglichen, wobei sich die Rf-Werte nur um ca. 1% unterschieden. *Tschesche & Grimmer*<sup>4)</sup> konnten im System n-Butanol-Pyridin-Wasser (3:1:3) D-Diginose (Rf: 0,69) einerseits von D-Digitoxose (Rf: 0,60) und D-Boivinose (Rf: 0,61) und andererseits von den drei übrigen, annähernd mit gleichen Rf-Werten (0,75—0,76) wandernden 2-Desoxyhexamethylose-3-methyläthern (D-Sarmentose, D-Cymarose und L-Oleandrose) unterscheiden. Im System Essigester-Pyridin-Wasser (2:1:2) wurden von ihnen<sup>4)</sup> folgende Rf-Werte gemessen: D-Boivinose 0,625, D-Digitoxose 0,665, D-Diginose 0,685, D-Sarmentose 0,74, D-Cymarose 0,755 und L-Oleandrose 0,78. Die gleiche Abtrennung der langsamer wandernden D-Diginose von den drei übrigen Methyläthern wurde auch in dem erstmals von *Chargaff* und Mitarbeitern<sup>5)</sup> beschriebenen n-Butanol-Pyridin-Wasser-(3:2:1,5)-System erreicht<sup>6)</sup>. *Kaiser*<sup>7)</sup> hat acht Systeme beschrieben, von denen zwei (n-Butanol-Wasser und n-Butanol-tert. Butanol-Wasser 1:1:1) auch die Unterscheidung von L-Oleandrose und D-Cymarose erlauben sollen. Ebenso soll das System n-Butanol-Wasser zur Trennung von D-Diginose einerseits von den obengenannten zwei Zuckern sowie andererseits auch von D-Digitoxose geeignet sein<sup>8)</sup>.

<sup>1)</sup> 31. Mitteilung: *H. Muhr & T. Reichstein*, *Helv.* **38**, 499 (1955).

<sup>2)</sup> *G. N. Kowkabany*, *Advances in Carbohydrate Chemistry* **9**, 303 (1954).

<sup>3)</sup> *E. L. Hirst & J. K. N. Jones*, *Disc. Faraday Soc.* **7**, 268 (1949).

<sup>4)</sup> *R. Tschesche & G. Grimmer*, *Chem. Ber.* **87**, 418 (1954).

<sup>5)</sup> *E. Chargaff, C. Levine & C. Green*, *J. biol. Chemistry* **175**, 67 (1948).

<sup>6)</sup> *J. v. Eeuw, H. Hegedüs, Ch. Tamm & T. Reichstein*, *Helv.* **37**, 1493 (1954).

<sup>7)</sup> *F. Kaiser*, *Chem. Ber.* **88**, 556 (1955).

<sup>8)</sup> Bei der Wiederholung seiner Versuche im System n-Butanol-Wasser konnten wir zwar D-Digitoxose (Rf: 0,40) und D-Boivinose (Rf: 0,40) von D-Diginose (Rf: 0,52), und diese von den übrigen natürlichen 2-Desoxyhexamethylose-3-methyläthern (Rf: 0,63 bis 0,66) trennen. Zwischen den Laufstrecken von L-Oleandrose und D-Cymarose konnten wir jedoch Unterschiede von höchstens 1—2% beobachten, wobei D-Cymarose wahrscheinlich etwas rascher lief als L-Oleandrose. Möglicherweise sind diese unterschiedlichen Resultate auf Verschiedenheiten im angewendeten Papier zurückzuführen.