

Zunächst wird gezeigt, dass bei der mechanischen Dehnung des aus dem Lösungsmittel entfernten Stabes um einen Beitrag dL eine Abnahme des Lösungsmittel-Partialdruckes in einer (minimal ausgedehnten) mit dem Gelstabe in Berührung befindlichen Atmosphäre vom Betrage $\Delta \ln p = -\Delta L \cdot E \cdot \varphi_L / (3 RT L)$ eintritt.

Wenn der ohne Kontakt mit dem Lösungsmittel von L auf $L + \Delta L$ gedehnte Stab nachträglich bei konstant gehaltener Länge mit Lösungsmittel (Partialdruck p) in Berührung gebracht wird, findet eine Aufnahme von Lösungsmittel unter Vergrößerung der Querdimension statt. Die diesen Vorgängen entsprechende (negative) freie Energie kann aus $\Delta \ln p$, μ und μ' berechnet werden. Sie steht ihrerseits mit der Differenz $E - E'$ in Beziehung, wobei sich ergibt, dass allgemein $E' = E [1 - 2(\mu - \mu')/3]$ sein muss.

Die Beziehung für die beim Dehnen (innerhalb des Einbettungsmedium) erfolgende Dampfdruckerniedrigung lässt sich verallgemeinern und zu quantitativen Aussagen verwenden betreffend die Veränderung, welche die Rückstellkraft eines auf konstanter Länge gehaltenen Gelfadens erfährt, wenn der Querschnitt durch Entfernen von Lösungsmittel (durch teilweises «Trocknen» bei konstanter Länge) geändert wird.

Physikalisch-chemisches Institut der Universität Basel

108. Zur Struktur der ATP-Komplexe zweiwertiger Kationen Hydratisierung des Zentralions

von H. Brintzinger

(24. III. 61)

Adenosintri-phosphat (ATP) geht in biochemische Umsetzungen bekanntlich¹⁾ nicht als freies Anion, sondern in Form seiner Komplexe mit zweiwertigen Metallionen ein. Die Komplexbildung zwischen ATP und verschiedenen physiologisch bedeutsamen Metallionen ist deshalb in letzter Zeit des öfteren Gegenstand von Untersuchungen gewesen; über Gleichgewichtskonstanten²⁻⁵⁾ sowie Auf- und Abbau-geschwindigkeiten⁶⁾ solcher Komplexe liegen präzise Angaben vor. Die bei der Bearbeitung verschiedener Probleme^{5) 7)} sich stellende Frage, welche Struktur den Komplexen zwischen ATP und den verschiedenen Metallionen zukommt, ist hingegen nicht abgeklärt.

Von einigen Autoren wird vermutet, dass zweiwertige Metallionen, wie z. B. Mg^{2+} , in ihren ATP-Komplexen zwischen N-7 und Amino-N des Purinkerns einerseits und

1) H. G. HERS, *Biochim. biophysica Acta* 8, 424 (1952); N. C. MELCHIOR & J. B. MELCHIOR, *J. biol. Chemistry* 231, 609 (1958); M. LARSSON-RAZNIKIEWICZ & B. G. MALMSTRÖM, *Arch. Biochem. Biophysics* 92, 94 (1961).

2) A. E. MARTELL & G. SCHWARZENBACH, *Helv.* 39, 653 (1956).

3) G. WEITZEL & T. SPEER, *Z. physiol. Chem.* 313, 212 (1958).

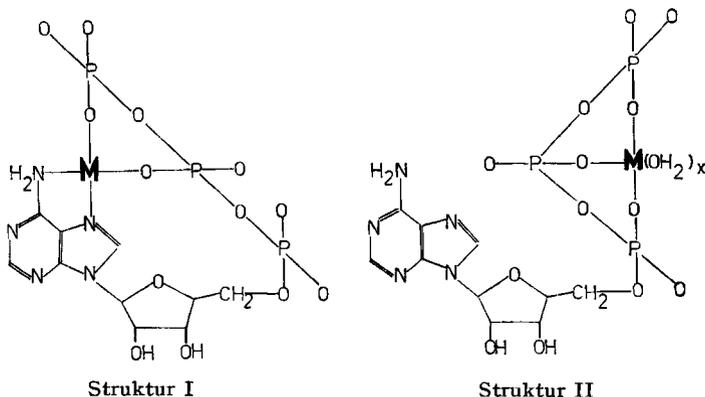
4) E. WALAAS, *Acta chem. scand.* 12, 528 (1958).

5) H. BRINTZINGER & S. FALLAB, *Helv.* 43, 43 (1960).

6) H. DIEBLER, M. EIGEN & G. G. HAMMES, *Z. Naturforsch.* 15b, 554 (1960).

7) H. BRINTZINGER, B. PRIJS & H. ERLÉNMEYER, *Experientia* 16, 468 (1960).

zwei Sauerstoff-Atomen der endständigen Phosphatgruppen andererseits koordiniert sind (Struktur I)⁸⁾. Andere Untersuchungen führten zur Ansicht, dass Mg^{2+} und Ca^{2+} ²⁾ sowie Mn^{2+} und Co^{2+} ⁴⁾ nicht an den Purinkern, sondern unter Ausbildung eines dreizähligen Chelats an die drei Phosphatreste gebunden seien (Struktur II).



Es soll nun zunächst geprüft werden, welche Aussagen eine Betrachtung der Stabilitätskonstanten der 1:1-Komplexe von ATP mit verschiedenen 3d-Metallionen⁹⁾ hinsichtlich der in Frage stehenden Strukturen zulässt. Die Stabilitätskonstanten der ATP-Komplexe von Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} und Zn^{2+} , wie sie in Arbeiten von WEITZEL & SPEER³⁾, WALAAS⁴⁾ und BRINTZINGER & FALLAB⁵⁾ bestimmt wurden, sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Da die Konstanten z. T. mittels pH-Titrationen^{3) 6)}, z. T. in Ionenaustauscher-Untersuchungen⁴⁾, ermittelt wurden, haben wir die Konstanten aller fünf Komplexe nochmals einheitlich durch pH-Titrationen gemessen¹⁰⁾ und die erhaltenen Werte ebenfalls in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1. Logarithmen der Stabilitätskonstanten von ATP-Komplexen verschiedener 3d-Metallionen

Metall-Ion	Mn^{2+}	Co^{2+}	Ni^{2+}	Zn^{2+}	Cu^{2+}
Literaturangaben	4,75 ⁴⁾	4,62 ⁴⁾ ; 4,53 ⁵⁾	4,61 ⁵⁾	4,76 ³⁾	5,50 ⁵⁾
Eigene Messungen	4,78	4,71	4,54	4,80	5,77

Bei der Betrachtung der pK-Werte fällt vor allem auf, dass praktisch gleichen Grössen für Mn-, Co-, Ni- und Zn-ATP ein um ca. 1 pK-Einheit höherer Wert für Cu-ATP gegenübersteht. Da – wie sich im Laufe unserer Untersuchungen ergab – auch andere Befunde darauf hinweisen, dass hier eine andersartige Bindung vorliegt und die zunächst gebildete Cu-ATP-Partikel instabil ist, wollen wir die Untersuchun-

⁸⁾ A. SZENT-GYÖRGYI, in *Enzymes, Units of biological structure and function*, 1956, p. 395; A. EPP, T. RAMASARMA & L. R. WETTER, *J. Amer. chem. Soc.* **80**, 724 (1958); K. HOTTA, J. BRAHMS & M. MORALES, *ibid.* **83**, 997 (1961).

⁹⁾ Die folgenden Ausführungen beziehen sich strenggenommen nur auf Komplexe der 3d-Metallionen. Sehr wahrscheinlich gelten unsere Betrachtungen aber zumindest auch für Mg-ATP (vgl. auch ⁵⁾).

¹⁰⁾ Titriert wurde 50 ml $2,7 \cdot 10^{-3} M Na_2H_2ATP$ allein, bzw. in Gegenwart von $2,7 \cdot 10^{-3} M Mn$ -, Co -, Ni -, Cu - und Zn -Sulfat, jeweils in $0,1 M KCl$ bei 22° . Die Berechnung der Konstanten geschah nach der in ⁵⁾ angegebenen Methode.

gen der Bindungsverhältnisse im Cu-ATP zurückstellen und zunächst die vier erstgenannten Komplexe für sich betrachten.

Die Invarianz der pK-Werte von Mn-, Co-, Ni- und Zn-ATP (in Fig. 1a in Abhängigkeit von der Ordnungszahl des Zentral-Ions dargestellt) steht im Gegensatz zu dem von der Ligandfeld-Theorie geforderten¹¹⁾, und bei allen Chelat-Komplexen zu beobachtenden¹¹⁾, innerhalb der Reihe der zweiwertigen 3d-Metall-Ionen vom Mn^{2+} zum Zn^{2+} ansteigenden, typisch nach oben gebuckelten Verlauf der pK-Werte. Dieser – durch den Einfluss der Ligandfeld-Stärke auf die elektrostatische Komplexbildungsenergie und auf die zusätzliche Ligandfeld-Stabilisierung bewirkte – charakteristische Verlauf der pK-Werte ist besonders ausgeprägt bei allen Komplexen mit N-Ligandatomen¹¹⁾. Typisch hierfür sind die pK-Werte der entsprechenden Oxin-Komplexe (s. Fig. 1b)¹²⁾. Die Koordination eines oder gar zweier Purin-N-Atome, wie sie Struktur I verlangt, ist bei den Metallionen Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} und Zn^{2+} daher offensichtlich mit Sicherheit auszuschliessen.

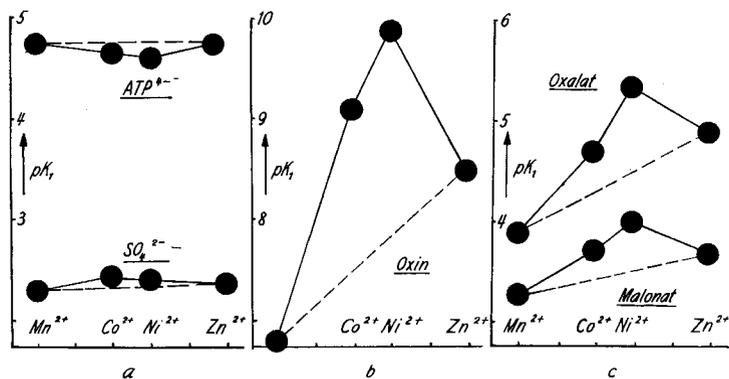


Fig. 1

Aber auch für Chelat-Komplexe mit nur O-Ligandatomen, wie z. B. Oxalat oder Malonat, ist der von der Theorie geforderte Verlauf der pK-Werte immer noch in signifikantem Mass zu beobachten (s. Fig. 1c)¹²⁾. Beim ATP hingegen haben die vier pK-Werte praktisch die gleiche Grösse, allenfalls liegen diejenigen von Co-ATP und Ni-ATP sogar noch etwas niedriger als diejenigen von Mn-ATP und Zn-ATP. Das einzige System, für das ähnlich invariante pK-Werte gefunden wurden, sind die hydrathaltigen Sulfate. Für die Komplexe zwischen Sulfat-Ion und zweiwertigen 3d-Metall-Ionen muss man jedoch auf Grund verschiedenartiger Untersuchungen annehmen, dass Ligand und Zentral-Ion nicht direkt koordiniert, sondern durch Hydrat- H_2O getrennt sind¹³⁾. Das Sulfat-Ion verdrängt also das Wasser nicht aus der Koordinationssphäre des Metall-Ions, sondern lagert sich vielmehr – unter Ausbildung eines Ionenpaar-Assoziats mit einer Dissoziationskonstanten von ca. 10^{-2} – an das

¹¹⁾ Siehe z. B. P. GEORGE & D. S. McCLURE, in Progress in Inorganic Chemistry, Vol. I, 1959, p. 381.

¹²⁾ Die Konstanten sind entnommen aus J. BJERRUM, G. SCHWARZENBACH & L. G. SILLÉN, Stability Constants, London 1958.

¹³⁾ J. M. SMITHSON & R. J. P. WILLIAMS, J. chem. Soc. 1958, 457; G. H. NANCOLLAS, Quarterly Reviews 14, 402 (1960).

hydratisierte Kation an. Es erhebt sich mithin die Frage, ob auch bei den zur Diskussion stehenden ATP-Komplexen Ligand und Zentral-Ion durch Hydrat-H₂O getrennt als Ionenpaar-Assoziante vorliegen.

Die Theorie der Ionenpaar-Assoziation liefert folgende Näherungsgleichung für die Assoziationskonstante¹⁴⁾:

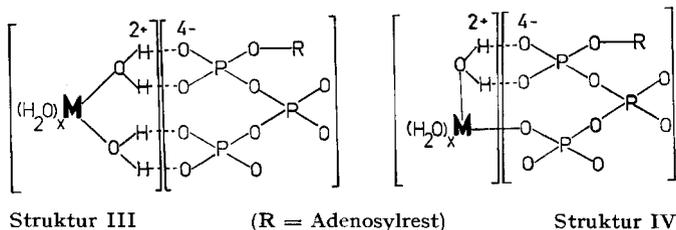
$$K = A_0 \exp \left(- \frac{z_1 z_2 e^2}{D k T \cdot a} \right).$$

Hieraus ergibt sich bei den Sulfat-Ionenpaaren ein Abstand a von 5–6 Å zwischen den Zentren der positiven und der negativen Ladung¹⁵⁾ (s. Tab. 2), ein plausibler Wert für hydratisierte Kationen¹⁶⁾. Für die Komplexe des ATP errechnen sich nun in entsprechender Weise Werte für a , die mit denen der entsprechenden Sulfat-Ionenpaare überraschend genau übereinstimmen (s. Tab. 2).

Tabelle 2. Abstände a in Å zwischen den Zentren der positiven und der negativen Ladung in verschiedenen Sulfat- und ATP-Komplexen

Metall-Ion	Mn ²⁺	Co ²⁺	Ni ²⁺	Zn ²⁺
Sulfat-Komplex	5,4	5,2	5,3	5,3
ATP-Komplex	5,2	5,3	5,4	5,2

Eine Deutung dieser Befunde in dem Sinne, dass in den ATP-Komplexen das Zentral-Ion durch eine Hydrathülle vom Ligand getrennt ist, erscheint zunächst für ein formal zur Chelatbildung so geeignetes Ligandensystem als stossend. Andererseits sind jedoch jene Gegebenheiten, welche die relative Stabilität von «inner sphere»- und «outer sphere»-Komplexen bestimmen – wie Elektronen-Struktur¹⁷⁾, Fähigkeit zur Wasserstoffbrückenbildung und, bis auf die Haftstelle eines Protons, auch die Basizität – beim ATP sicherlich ähnlich wie beim Sulfat-Ion. Es ist aus diesen Gründen tatsächlich damit zu rechnen, dass den – vielen biochemischen Reaktionen als Substrat dienenden – Komplexen zwischen ATP und zweiwertigen Metall-Ionen nicht



¹⁴⁾ R. M. FUOSS & C. A. KRAUS, J. Amer. chem. Soc. 79, 3304 (1957).

¹⁵⁾ Für K verwenden wir die in Tabelle 1 angegebenen, für eine Ionenstärke $I = 0,1$ gültigen, bzw. die in ¹²⁾ angegebenen, meist für $I \rightarrow 0$ gültigen Konstanten. A_0 setzen wir gleich 1 und D gleich der makroskopischen Dielektrizitätskonstanten des Wassers. Aus diesen Gründen können die angegebenen Abstände nur Vergleichswerte sein; absolute Werte, wie man sie unter Verwendung von Korrekturen für die Effekte von Ionenstärke, Wasserstoffbrückenbindungen und veränderter Dielektrizitätskonstanten erhalten könnte, dürften um ca. 20% von den angegebenen Werten verschieden sein (Vgl. auch ¹³⁾).

¹⁶⁾ C. A. BEEVERS & H. LIPSON, Proc. Roy. Soc. 146, A, 570 (1934).

¹⁷⁾ B. PULLMAN & A. PULLMAN, Radiation Research 1960, Suppl. II, p. 160.

die Struktur eines normalen Chelats, sondern z. B. eine solche nach III oder IV zukommt¹⁸⁾.

Herrn Professor H. ERLIENMEYER danke ich für sein Interesse an dieser Arbeit. Herrn Professor S. FALLAB und Herrn Dr. B. PRIJS sei für wertvolle Anregungen sowie für Mithilfe bei der Abfassung des Manuskriptes bestens gedankt. Der Kommission für Atomwissenschaft des SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG sagen wir für gewährte Unterstützung unseren Dank.

SUMMARY

The stability constants of the complexes between ATP and the metal ions Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} and Zn^{2+} have been discussed in terms of ion pair formation.

Institut für Anorganische Chemie der Universität Basel

¹⁸⁾ Die Formeln deuten nur die formale Struktur der Assoziante, und nicht etwa die Richtung ihres Aufbaus bzw. Zerfalles an. Beim Aufbau der Assoziante wird möglicherweise das zwischen Metall-Ion und Ligand gebundene H_2O von letzterem in das Ionenpaar eingebracht. Gewisse Befunde⁶⁾ sind nur unter dieser Voraussetzung mit Struktur III oder IV vereinbar.

109. Anorganische Dünnschicht-Chromatographie

2. Mitteilung

Nachweis von U^{VI} und Ga^{III} in Kationen-Gemischen

von H. und M. Seiler

(24. III. 61)

In einer vorhergehenden Mitteilung¹⁾ berichteten wir über die Trennung von Kationengemischen mittels Dünnschicht-Chromatographie nach vorhergehender üblicher Auftrennung in die analytischen Gruppen. Nun ist es aber mitunter von Interesse, nur ein einzelnes Ion – ohne Rücksicht auf die begleitenden Elemente – nachzuweisen. So versuchten wir, UO_2^{2+} in einem Gemisch der Ionen von Fe, Cu, Co, Ni, Cr, Al und Th zu identifizieren, wobei die Konzentration der begleitenden Kationen bedeutend grösser war als die des Urans.

Gleicherweise wurde versucht, Ga^{3+} in Gegenwart eines grossen Überschusses von Al^{3+} abzutrennen und zu identifizieren.

Zur Abtrennung von UO_2^{2+} wurde auf einem wie früher¹⁾ beschrieben gereinigten Kieselgel-Gips-Gemisch chromatographiert. Als Fliessmittel wurde ein Gemisch von 50 ml frisch dest. Essigester und 50 ml mit Wasser gesättigtem Äther, unter Zusatz von 2 ml Tri-n-butylphosphat, verwendet. Die Auftragelösungen waren 4,7N an HNO_3 . Im angegebenen Fliessmittelgemisch bildet sich ein Uranylнитrat-(Tri-n-butylphosphat)-Solvatkomplex aus²⁾, während die anderen Kationen bei diesem pH keine vergleichbaren Komplexe ausbilden. Sie werden am Startpunkt – oder nur wenig darüber – zurückgehalten, der Uran-Komplex wird hingegen gegen die Fliessmittelfront getragen und kann mit Pyridyl-azo-naphtol nachgewiesen werden. 1 γ Uran lässt sich so noch gut abtrennen und nachweisen.

¹⁾ H. & M. SEILER, *Helv.* 43, 1939 (1960).

²⁾ H. T. HAHN, *J. Amer. chem. Soc.* 79, 4625 (1957).