

## 149. Zur Struktur der ATP-Komplexe zweiwertiger Kationen II. Fixierung des Zentral-Ions am Riboserest

von H. Brintzinger

(12. V. 1961)

In einer vorangegangenen Mitteilung<sup>1)</sup> führten wir einige Gesichtspunkte an, die dafür sprechen, dass zweiwertige Metallionen in ihren Komplexen mit Adenosintri-phosphat (ATP) nicht an den Purinkern gebunden sind, und dass andererseits die Bindung an die Polyphosphatkette möglicherweise nicht den Charakter eines Chelates, sondern eher den eines teilweise oder vollständig hydratisierten Ionenpaares hat. In dieser Mitteilung wollen wir uns mit der Frage beschäftigen, ob und inwieweit der Riboseteil der ATP-Molekel an der Fixierung des Metallions in diesen 1:1-Komplexen beteiligt ist.

Einen Hinweis auf die Möglichkeit einer Koordination zwischen Metallion und dem Riboserest des Adenosins geben Untersuchungen von HARKINS & FREISER<sup>2)</sup>. Diese Autoren fanden, dass in  $\text{Cu}^{2+}$  und Adenosin enthaltenden Lösungen zwar kein mit Hilfe der BJERRUM-Technik erfassbarer Komplex zwischen Metallion und Purinkern sich bildet, dass jedoch ausgefallenes Cu-Hydroxid bei höheren pH-Werten unter Ausbildung einer komplexen Partikel wieder in Lösung geht. Unter gleichartigen Bedingungen bildete auch Ribose Komplexe mit  $\text{Cu}^{2+}$ . Es ist deshalb zu vermuten, dass  $\text{Cu}^{2+}$  in der Lage ist, die Protonen der 2,3-Diol-Gruppierung der Ribose zu verdrängen. Es war nun zu untersuchen, ob zweiwertige Metallionen auch in ihren ATP-Komplexen in dieser Weise an der Ribose koordiniert sein können.

Bei der Titration von ATP allein und in Gegenwart äquivalenter Mengen verschiedener Metallionen<sup>3)</sup> ergab sich, dass durch die Metallionen  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  und  $\text{Zn}^{2+}$  über den Äquivalenzpunkt der Reaktion  $\text{M}^{2+} + \text{HATP}^{3-} \rightleftharpoons \text{MATP}^{2-} + \text{H}^+$  hinaus tatsächlich noch zwei zusätzliche Protonen titrierbar gemacht werden.

Das erste dieser beiden Protonen lässt sich ohne Verzögerung titrieren; sobald man jedoch in den Titrationsbereich des zweiten zusätzlichen Protons kommt, vermindert sich die Reaktionsgeschwindigkeit stark, so dass sich die endgültigen pH-Werte schliesslich erst jeweils nach mehreren Stunden einstellen<sup>4)</sup>.

Die Dissoziation des zweiten zusätzlichen Protons geht mit einer beträchtlichen Farbvertiefung der Lösungen parallel. Die Absorptionen werden vor allem bei den Komplexen der Metallionen  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  und  $\text{Co}^{2+}$  sehr intensiv (s. Fig. 1), bei  $\text{Ni}^{2+}$  und

<sup>1)</sup> H. BRINTZINGER, *Helv.* 44, 935 (1961).

<sup>2)</sup> T. R. HARKINS & H. FREISER, *J. Amer. chem. Soc.* 80, 1132 (1958).

<sup>3)</sup> Titriert mit 0,1N NaOH wurden je 50 ml  $2,7 \cdot 10^{-3}\text{M}$   $\text{Na}_2\text{H}_2\text{ATP}$  allein, bzw. in Gegenwart von  $2,7 \cdot 10^{-3}\text{M}$  Mg-, Mn-, Co-, Ni-, Cu- und Zn- $\text{SO}_4$ , jeweils in 0,1M KCl bei 22°.

<sup>4)</sup> Dieses Verhalten könnte – zusammen mit der von HARKINS & FREISER<sup>2)</sup> beschriebenen Zunahme der Viskosität in Lösungen derartiger Komplexe – bedeuten, dass bei der Dissoziation des zweiten zusätzlichen Protons aus den M-ATP-Komplexen polynucleare Komplexe gebildet werden, wie dies z. B. auch von  $\text{Cu}^{2+}$ -Tartrat-Komplexen in alkalischer Lösung bekannt ist (H. BRINTZINGER, *Z. anorg. Chem.* 259, 107 (1949); J. LEFEBVRE, *J. Chim. phys.* 54, 601 (1957)).

$\text{Cu}^{2+}$  sind die Farbvertiefungen weit weniger ausgeprägt. Aus der hohen, gegen das UV. hin weiter ansteigenden Intensität der Absorptionsbanden muss geschlossen werden, dass es sich um gegen das Sichtbare hin verschobene Charge-Transfer-Banden der Metallionen handelt, – und zwar offensichtlich um Charge-Transfer-Übergänge vom Liganden in leere  $d$ - $e$ -Bahnen des Metallions: Die Intensität der Absorptionen ist nämlich umso ausgeprägter, je mehr leere  $d$ - $e$ -Plätze das betreffende Metallion aufweist. Ein solches Verhalten ist auf Grund der gegenseitigen räumlichen Lage der  $d$ - $e$ -Bahnen der Metallions einerseits und der  $p$ -Bahnen der Sauerstoff-Elektronenpaare eines Hydroxy- oder Alkoxy-Liganden andererseits durchaus zu erwarten<sup>5)</sup>.

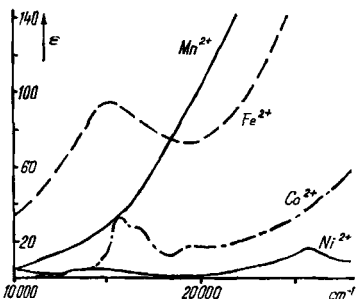


Fig. 1. Absorptionsspektren der deprotonierten ATP-Komplexe verschiedener Metallionen, alle bei pH 11,4

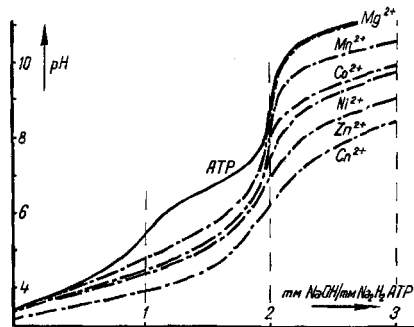


Fig. 2. Titration von ATP, allein und in Gegenwart verschiedener Metallionen<sup>3)</sup>

Die Dissoziation des ersten zusätzlichen Protons<sup>6)</sup> haben wir näher untersucht. Aus dem Verlauf der Titrationskurven (s. Fig. 2) ermittelten wir die Aciditätskonstante dieses Protons ( $K_{\text{MATP}}^{\text{H}}$ ) in den verschiedenen ATP-Metallionen-Komplexen (s. Tabelle). Die Werte für  $\text{p}K_{\text{MATP}}^{\text{H}}$  weisen nun aber durchwegs ähnliche Grössenordnungen auf, wie die ihnen in der Tabelle gegenübergestellten  $\text{p}K$ -Werte für die Dissoziation eines Protons aus der Hydrathülle des betreffenden freien, hydratisierten Metallions<sup>7)</sup>, so dass es galt, die Frage zu überprüfen, ob bei vergleichbaren pH-Werten ein Proton auch aus der Hydrathülle eines nur an eine Polyphosphatkette gebundenen Metallions abgegeben wird. Titriert man die Komplexe der verschiedenen Metallionen mit Triphosphat (TP) – einem dem ATP vergleichbaren Ligandensystem – so ergibt sich, dass – wenn überhaupt – erst bei sehr viel höheren pH-Werten als bei den entsprechenden ATP-Komplexen über den Äquivalenzpunkt der Reaktion  $\text{M}^{2+} + \text{HTP}^{4-}$

*pK-Werte der Aciditätskonstanten für die Dissoziation des ersten Protons aus verschiedenen M-ATP-Komplexen bzw. freien, hydratisierten Metallionen<sup>7)</sup>*

Metallion	$\text{Mg}^{2+}$	$\text{Mn}^{2+}$	$\text{Co}^{2+}$	$\text{Ni}^{2+}$	$\text{Zn}^{2+}$	$\text{Cu}^{2+}$
$\text{p}K_{\text{MATP}}^{\text{H}}$ . . . . .	—	10,4	9,4	9,3	8,5	7,7
$\text{p}K_{\text{M}(\text{H}_2\text{O})_x}^{\text{H}}$ . . . . .	12,8	10,6	8,9	9,4	8,7	6,8

<sup>5)</sup> Siehe z. B. auch TH. KADEN & S. FALLAB, *Helv.* 44, 714 (1961).

<sup>6)</sup> Wegen der unverminderten Reaktionsgeschwindigkeit ist hier das Auftreten polymerer Assoziate jedenfalls nicht zu vermuten.

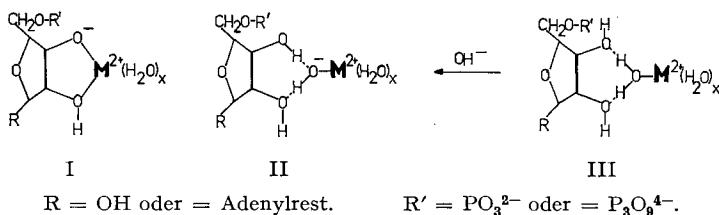
<sup>7)</sup> S. CHABEREK JUN., R. C. COURTNEY & A. E. MARTELL, *J. Amer. chem. Soc.* 74, 5057 (1952).

$\rightleftharpoons \text{MTP}^{3-} + \text{H}^+$  hinaus weitere Protonen abgegeben werden<sup>8)</sup>). Die Anwesenheit der Ribose im Liganden ist also eine notwendige Bedingung für das Auftreten und die Lage der zusätzlichen Puffergebiete in Fig. 2.

Des weiteren stellten wir fest, dass Ribose-5-phosphat<sup>9)</sup> und Adenosin-5'-monophosphat ebenfalls deprotonierte Komplexe der gleichen Art wie ATP bilden<sup>10)</sup>, nicht jedoch Adenosin-2'(3')-phosphat, bei dem eine OH-Gruppe der Diol-Gruppierung durch die Phosphatgruppe blockiert ist<sup>10)</sup>. Offenbar ist die sterische Festlegung der beiden OH-Gruppen in *cis*-Stellung ebenfalls eine Voraussetzung zur Fixierung des Metallions; ist diese Festlegung durch die freie Drehbarkeit der Glycerophosphat-Diol-Gruppierung aufgehoben, so unterbleibt – wohl aus Entropiegründen – die Komplexbildung.

Die Tatsache, dass zwei freie, in einer Ebene mit den Kohlenstoffatomen 2' und 3' festgelegte OH-Gruppen für die Fixierung des Metallions notwendig sind, lässt zwei Interpretationen zu. Entweder ist das Metallion entsprechend Struktur I direkt an der Ribose koordiniert, oder aber es liegt eine Partikel der Struktur II vor, welche als ein durch H-Brücken an der Ribose fixierter Hydroxy-Komplex des Metallions anzusehen ist. Die Einbeziehung der Hydroxid-Gruppe in einen Wasserstoffbrücken-Ringschluss liesse verstehen, dass das Proton des entsprechenden Hydrat-H<sub>2</sub>O um mehrere pK-Einheiten leichter abgegeben wird als z. B. in den entsprechenden Triphosphat-Metallionen-Komplexen.

Für einen Komplex der Struktur I wäre wegen der Koppelung des Metallionen-Absorptionssystems mit den optisch aktiven Zentren C-2' und C-3' und auf Grund



<sup>8)</sup> Bei Mn-TP, Co-TP und Ni-TP konnten überhaupt keine zusätzlichen Puffergebiete gefunden werden. Bei Zn-TP ist erst bei pH > 10, bei Cu-TP erst bei pH > 9 eine Abweichung der Titrationskurve von der des Liganden allein über den oben beschriebenen Äquivalenzpunkt hinaus festzustellen.

<sup>9)</sup> Der deprotonierte Komplex des Ribose-5-phosphats mit Cu<sup>2+</sup> ist nur kurze Zeit stabil. Nach einigen Minuten beginnt aus der Lösung ein Niederschlag von Cu<sub>2</sub>O auszufallen. Die entsprechenden Cu-Komplexe der anderen untersuchten Ribotide zeigten dieses Verhalten nicht.

<sup>10)</sup> Beim Ribose-5-phosphat und Adenosin-5'-phosphat gehen die bei der Bildung der normalen, nicht deprotonierten Assoziat zu nächst entstehenden Niederschläge durch Zugabe von 2 Äquivalenten NaOH unter Auftreten der oben beschriebenen Farbvertiefung wieder in Lösung. Beim Adenosin-2'(3')-phosphat und beim  $\alpha$ -Glycerophosphat tritt bei der Zugabe von NaOH keine Lösung der zunächst gebildeten Niederschläge ein, sondern es wird – wie das gallertige Aussehen zeigt, das die zunächst kristallinen Niederschläge hierbei annehmen – das entsprechende Metallionen-Hydroxid gebildet. Dieser Unterschied im Verhalten der Kupferkomplexe von Adenosin-3'(2')-phosphat und Adenosin-5'-phosphat ist schon länger bekannt (R. KLIMEK & J. K. PARNAS, *Biochem. Z.* 252, 392 (1932)) und zur Unterscheidung der beiden Adenylsäuren vorgeschlagen worden (H. BERLIN & J. WESTERBERG, *Z. physiol. Chem.* 258, 98 (1944)).

entsprechender Befunde bei anderen Kohlehydrat-Metallionen-Komplexen<sup>11)</sup> zu erwarten, dass die optische Aktivität des Ribotides bei der Komplexbildung erheblich verändert wird. Wie die Rotationsdispersionskurven der Figur 3 zeigen, weisen jedoch die deprotonierten – wie übrigens auch die normalen, nicht deprotonierten<sup>12)</sup> – ATP-Komplexe aller untersuchten Metallionen genau die gleiche Rotationsdispersion auf wie freies ATP. Dieses Verhalten weist ziemlich eindeutig darauf hin, dass Struktur II, bei welcher eine H-Brücke die Koppelung zwischen dem *d*-Elektronensystem des Metallions und den aktiven Zentren unterbricht, die Fixierung des Metallions an der Ribose richtig wiedergibt.

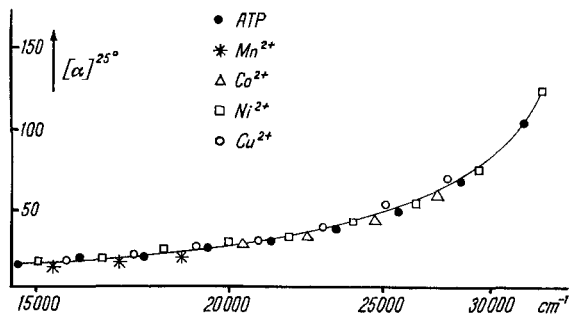


Fig. 3. Rotationsdispersionskurven von ATP und deprotonierten ATP-Komplexen verschiedener Metallionen, aufgenommen in  $2 \cdot 10^{-3}$  M-Lösungen

Ob auch in den primär gebildeten, nicht deprotonierten ATP-Metallionen-Komplexen das Metallion – z. B. entsprechend Struktur III – an der Ribose fixiert ist, kann allein aus der Tatsache, dass bei der Deprotonisierung einer solchen Partikel direkt der Komplex II entstehen würde<sup>13)</sup>, nicht geschlossen werden. Ein zusätzliches

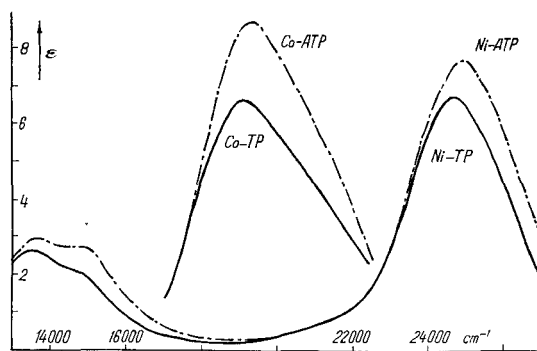


Fig. 4. Absorptionsspektren der ATP- und TP-Komplexe von  $\text{Co}^{2+}$  und  $\text{Ni}^{2+}$ , alle bei pH 6,5–7,0

<sup>11)</sup> R. E. REEVES, *Advances in Carbohydrate Chemistry* 6, 107 (1951).

<sup>12)</sup> Der nicht deprotonierte Cu-ATP-Komplex erleidet zugleich mit einer Veränderung des sichtbaren Teils seines Absorptionsspektrums eine Veränderung seiner Rotationsdispersion, welche bei pH 5,4 nach ca. 24 Std. einen Endwert erreicht.

<sup>13)</sup> Über ein ähnliches Problem – die Struktur eines  $\text{Cu}^{2+}$ -Tartrat-Komplexes – berichten S. KIRSCHNER & R. KIESLING, *J. Amer. chem. Soc.* 82, 4174 (1960).

Argument zugunsten einer solchen Fixierung lässt sich jedoch darin sehen, dass die Absorptionsspektren von Metallionen wie  $\text{Co}^{2+}$  und  $\text{Ni}^{2+}$  in ihren ATP-Komplexen von denjenigen der betreffenden Komplexe mit Triphosphat verschieden sind (s. Fig. 4). Die kurzwellige Verschiebung der Absorptionsbanden um ca.  $400\text{ cm}^{-1}$  und die Erhöhung ihrer Intensität bedeuten, dass in den ATP-Komplexen ausser der Polyphosphatkette noch ein weiterer Molekelteil mit dem Metallion in Wechselwirkung tritt. Die in Struktur III dargestellte Wechselwirkung eines Hydrat- $\text{H}_2\text{O}$  mit der Diol-Gruppierung der Ribose könnte der Richtung und Grössenordnung nach die in Fig. 4 dargestellte Veränderung der Absorption der Zentral-Ionen durchaus bewirken.

Herrn Professor H. ERLNMEYER danke ich für sein Interesse an dieser Arbeit. Wertvolle Anregungen verdanke ich Herrn PD Dr. O. SCHINDLER und Herrn Dr. B. PRIJS. Die Rotationsdispersions-Spektren konnten dank der freundlichen Bemühung von Herrn Dr. F. BURKHARDT im Forschungslaboratorium der Fa. HOFFMANN-LA ROCHE, Basel, aufgenommen werden. Hierfür sowie für die von der Kommission für Atomwissenschaft des SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG gewährte Unterstützung sei an dieser Stelle Dank gesagt.

#### SUMMARY

The complexes of the metal ions  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  with ATP and some other ribotides are shown to lose protons at pH-values, at which hydrolysis of complex bound metal ions normally does not occur. Evidence is given for the formation of H-bridged association products between the ribose 2,3-diol group and metal ion hydroxy-complexes.

Institut für Anorganische Chemie  
an der Universität Basel

## 150. Amidchloride als elektrophile Reagentien: Umsatz mit Methiden (Cyaninbildung) und Alkoholaten

von H. H. Bosshard, E. Jenny und Hch. Zollinger

(12. V. 61)

1. *Einleitung.* Vor einiger Zeit haben wir gezeigt, dass Amidchloride die wirksamen Partikeln bei der durch Dimethylformamid katalysierten Darstellungsmethode von Säurechloriden<sup>1)</sup> und bei der Aldehydsynthese nach VILSMEIER<sup>2)</sup> sind. Die experimentellen Resultate (Reaktionsprodukte, IR.-Spektren usw.) deuten – in Übereinstimmung mit denjenigen anderer Autoren<sup>3) 4)</sup> – auf die ionisierte Struktur  $\text{Ia} \leftrightarrow \text{Ib}$  der Formamidchloride. Die Grenzstruktur Ib und die ausschliessliche Bildung des *para*-

<sup>1)</sup> H. H. BOSSHARD, R. MORY, M. SCHMID & HCH. ZOLLINGER, *Helv.* **42**, 1653 (1959).

<sup>2)</sup> H. H. BOSSHARD & HCH. ZOLLINGER, *Helv.* **42**, 1659 (1959). Dr. Z. ARNOLD, Prag, machte uns freundlicherweise darauf aufmerksam, dass das Dimethylformamidchlorid erstmals von Z. ARNOLD, *Chem. Listy* **52**, 2013 (1958), in der wissenschaftlichen Literatur erwähnt wurde. Auf die Rolle der Amidchloride bei der VILSMEIER'schen Aldehyd-Synthese wurde zum ersten Mal im DBP 1060375 (CIBA, Erf. E. JENNY; Anmeldedatum 27. 8. 1956) hingewiesen.

<sup>3)</sup> Z. ARNOLD & F. ŠORM, *Chem. Listy* **51**, 1082 (1957); CH. JUTZ, *Chem. Ber.* **91**, 850 (1958); vgl. auch Z. ARNOLD & J. ŽEMLIČKA, *Coll. czechoslov. chem. Comm.* **24**, 2378 (1959).

<sup>4)</sup> F. CRAMER & K. BAER, *Chem. Ber.* **93**, 1231 (1960).