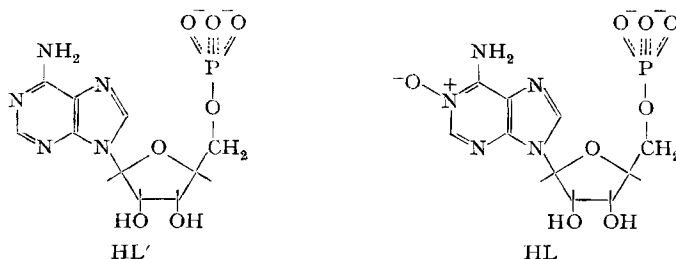


186. Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid**Ein «ambivalentes» Ligandsystem**von **H. Sigel** und **H. Brintzinger**

(8. VII. 64)

1. Problem. – Führt man Adenosin-5'-monophosphat (= HL') in sein N(1)-Oxid (= HL) über, so erhält man ein Ligandsystem, welches Metallionen zwei verschiedene



Koordinationsstellen anbietet: einerseits die Phosphatgruppe¹⁾, andererseits die *o*-Amino-N-oxid-Gruppierung des heterocyclischen Ringsystems (vgl. [1]²⁾ und [2]). Je nach Art des koordinierenden Metallions kann in solchen «ambivalenten» Ligandsystemen bei der Ausbildung von 1:1-Komplexen die eine oder die andere Koordinationsstelle besetzt werden³⁾. Die Verteilung von Metallionen auf verschiedene Koordinationsstellen eines Ligandsystems – wie z.B. eines Enzym-Substrat-Komplexes – spielt bei Metallionen-abhängigen biochemischen Reaktionen sicher eine bedeutende Rolle [3]. Bei niedermolekularen Ligandsystemen sind die Besonderheiten eines solchen alternativen Koordinationsverhaltens bis heute kaum untersucht worden.

Welche Koordinationsstelle eines ambivalenten Ligandsystems besetzt wird, wird ausser von der Art des Metallions auch vom pH der Lösung abhängen: die beiden Koordinationsstellen im Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid z.B. unterscheiden sich sehr stark in ihrer Basizität; der Phosphatgruppe entspricht ein $pK_{H_2L}^H = 6,13^4)$ (in Adenosin-5'-monophosphat: 6,14⁴⁾), während für die Abspaltung des Protons von der *o*-Amino-N-oxid-Gruppierung ein $pK_{HL}^H = 12,49$ gefunden wird⁴⁾. Metallion und Proton werden also um jede der beiden Koordinationsstellen verschiedenartig konkurrieren, und die Art der Metallionenkoordination muss davon abhängen, ob – je nach pH – protonenhaltige oder deprotonierte Komplexe sich ausbilden.

2. Ergebnisse. – 2.1. *Protonenhaltige Komplexe MeHL.* Einen ersten Aufschluss über die Art der Metallionenbindung in diesen Komplexen liefert uns ein Vergleich

1) Über die Art der Bindung von Metallionen an Phosphatliganden soll demnächst berichtet werden.

2) Die Zahlen in eckigen Klammern verweisen auf das Literaturverzeichnis, Seite 1717.

3) Die gleichzeitige Koordination eines Metallions an Phosphat- und *o*-Amino-N-oxid-Gruppierung des Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxids ist sterisch unmöglich (Kalottenmodell).

4) Siehe exper. Teil.

der Stabilitäten der Komplexe MeHL unseres Liganden mit denen der entsprechenden Komplexe MeHL', in denen die *o*-Amino-N-oxid-Koordinationsstelle nicht vorhanden ist. Durch Titration der Liganden in Gegenwart eines Überschusses an zuge-setztem Metallion (Fig. 1) können die Stabilitätskonstanten $K_{\text{MeHL}}^{\text{Mc}} = \frac{[\text{MeHL}]}{[\text{Me}^{2+}][\text{HL}]}$ aus der Senkung des ersten Puffergebietes errechnet werden⁴⁾, unter der Annahme, dass in obiger Gleichung $[\text{HL}] = ([L_{\text{tot}}] - [\text{MeHL}]) \cdot \frac{K_{\text{H}_2\text{L}}^{\text{H}}}{K_{\text{H}_2\text{L}}^{\text{H}} + [\text{H}^+]}$ ist.

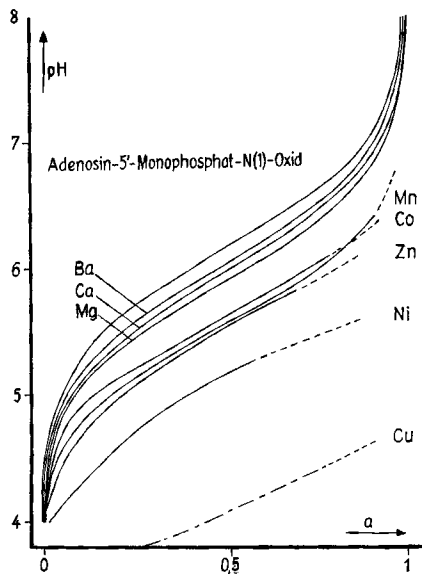


Fig. 1a

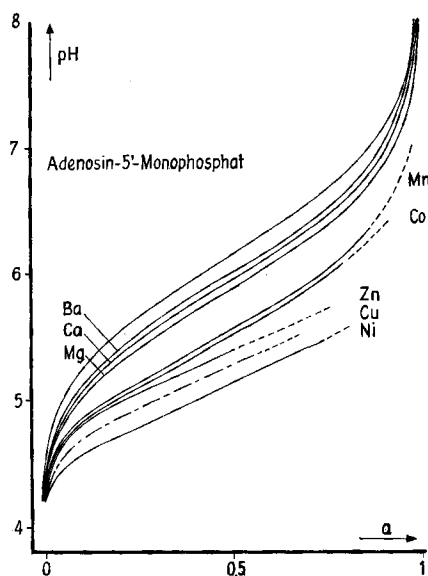
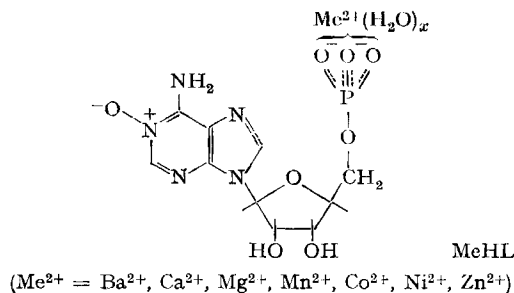


Fig. 1b

Fig. 1. Potentiometrische Bestimmung von $\log K_{\text{MeHL}}^{\text{Me}}$ und $\log K_{\text{MeHL}}^{\text{Mc}}$ für Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid- bzw. Adenosin-5'-monophosphat-Komplexe.

Gleiches Verhalten beider Liganden in Gegenwart von Ba^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} und Zn^{2+} (je $2 \cdot 10^{-2}\text{M}$; durchgezogene Kurven). Unterschiedliches Verhalten in Gegenwart von Cu^{2+} : strichpunktierte Kurven ($2 \cdot 10^{-3}\text{M}$ (Fig. 1a); $5 \cdot 10^{-3}\text{M}$ (Fig. 1b)).

Bei den Metallionen Ba^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} und Zn^{2+} stimmen die erhaltenen $\log K_{\text{MeHL}}^{\text{Me}}$ -Werte der Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid-Komplexe mit den entsprechenden $\log K_{\text{MeHL}}^{\text{Me}}$ der Adenosin-5'-monophosphat-Komplexe praktisch



völlig überein (Tabelle 1). Die Einführung der N(1)-Oxid-Gruppierung im Adenin-Ringsystem wirkt sich mithin auf die Stabilität der entstehenden protonenhaltigen Komplexe überhaupt nicht aus, die Bindung der Metallionen wird, wie sich hieraus ableiten lässt, gleich wie im Adenosin-5'-monophosphat⁵⁾, d. h. über die Phosphatgruppe erfolgen¹⁾).

Tabelle 1. Stabilitätskonstanten $K_{\text{MeHL}}^{\text{Me}}$ und $K_{\text{MeHL}'}^{\text{Me}}$ für Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid- bzw. Adenosin-5'-monophosphat-Komplexe

		Ba ²⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Mn ²⁺	Co ²⁺	Ni ²⁺	Cu ²⁺	Zn ²⁺
Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid	$\log K_{\text{MeHL}}^{\text{Me}}$	1,15	1,43	1,62	2,14	2,11	2,66	4,82 ⁶⁾	2,20
Adenosin-5'-monophosphat	$\log K_{\text{MeHL}'}^{\text{Me}}$	1,14	1,39	1,63	2,14	2,19	2,62	3,04	2,23

Im Gegensatz hierzu liefert die analoge Auswertung der Senkung des ersten Puffergebietes des Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxids durch Cu²⁺ mit $\log K_{\text{CuHL}}^{\text{Cu}} = 4,82$ eine um fast zwei Zehnerpotenzen höhere Stabilitätskonstante als für CuHL'. Die Zulässigkeit einer solchen Auswertung wird später noch zu diskutieren sein; immerhin ist bereits die auf diese Weise ermittelte Stabilitätserhöhung gegenüber dem Adenosin-5'-monophosphat-Komplex CuHL' ein erster Hinweis dafür, dass im Komplex CuHL das Metallion mit der *o*-Amino-N-oxid-Gruppierung in Wechselwirkung tritt. Diese Wechselwirkung soll in Abschnitt 2.3 noch näher charakterisiert werden; hierzu müssen wir jedoch zunächst die Eigenschaften der deprotonierten Komplexe MeL kennenlernen.

2.2. *Deprotonierte Komplexe MeL.* Die Abspaltung eines Protons von der *o*-Amino-N-oxid-Gruppierung macht sich im freien Ligand durch eine ausgeprägte Veränderung des UV.-Spektrums des heterocyclischen Ringsystems bei pH > 11, vor allem durch eine starke Extinktionsabnahme der intensiven Absorptionsbande bei 231 m μ bemerkbar (Fig. 2a). In Gegenwart von Metallionen wie Cu²⁺, Zn²⁺, Ni²⁺, Co²⁺ und Mn²⁺ finden sich im UV.-Spektrum sehr ähnliche Veränderungen bereits bei viel tieferen pH-Werten (s. z. B. Fig. 2b und c, vgl. auch [1]). Hier hat offenbar das Metallion durch Ausbildung der Komplexe MeL das Proton der Aminogruppe verdrängt. Aus der Extinktionsabnahme der 231-m μ -Bande bei bestimmtem pH und bestimmter Metallionenkonzentration lassen sich die einzelnen Stabilitätskonstanten $K_{\text{MeL}}^{\text{Me}} = \frac{[\text{MeL}]}{[\text{Me}^{2+}][\text{L}]}$ abschätzen⁴⁾. Die so erhaltenen Werte von $\log K_{\text{MeL}}^{\text{Me}}$ für die Metallionen Zn²⁺, Ni²⁺, Co²⁺, Mn²⁺ und die obere Grenze für Mg²⁺, Ca²⁺ und Ba²⁺ sind in Tab. 2 zusammengestellt. Für CuL wurde die Konstante $K_{\text{CuL}}^{\text{Cu}}$ potentiometrisch durch Titration des Liganden in Gegenwart von Cu²⁺ in äquivalenter Konzentration erhalten⁴⁾⁷⁾.

⁵⁾ Bei Komplexen MeHL' (deprotonierte Komplexe MeL' werden hier ausser durch Hg²⁺ [4] nicht ausgebildet) hat das Ringsystem keine Koordinationsstelle von so grosser Metallionen-Affinität [5], dass eine Konkurrenz zwischen dieser und der Phosphatgruppe zu erwarten wäre.

⁶⁾ Zur Bedeutung dieses Wertes vgl. auch Abschnitt 2.3 und 3.

⁷⁾ Beim CuL kann die spektrophotometrische Stabilitätsbestimmung nicht angewendet werden (siehe Abschn. 2.3).

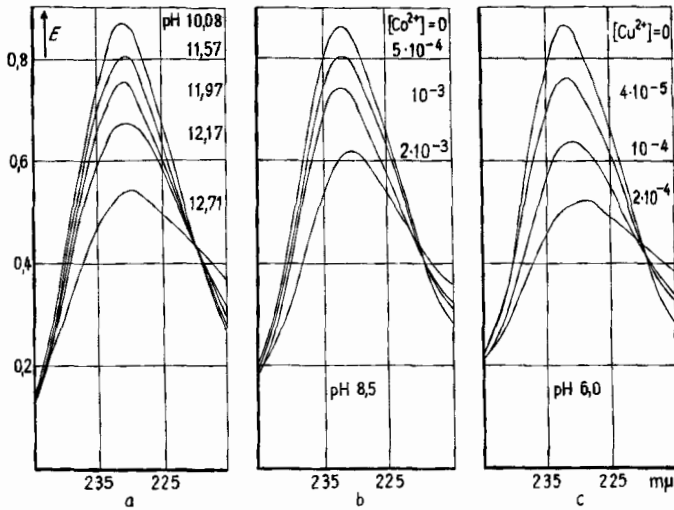


Fig. 2. Deprotonierung von Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid ($2 \cdot 10^{-4}$ M)
 a) bei verschiedenen pH-Werten; b) bei pH 8,5 und verschiedenen $[\text{Co}(\text{ClO}_4)_2]$; c) bei pH 6,0 und
 verschiedenen $[\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2]$.

Tabelle 2. Stabilitätskonstanten $K_{\text{MeL}}^{\text{Me}}$ für Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid- bzw. Adenosin-N(1)-oxid-Komplexe (nach PERRIN [1])

		Ba ²⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Mn ²⁺	Co ²⁺	Ni ²⁺	Cu ²⁺	Zn ²⁺
Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid	$\log K_{\text{MeL}}^{\text{Me}}$	<2,86	<3,00	<3,72	5,71	6,83	7,45	11,87	7,79
Adenosin-N(1)-oxid nach PERRIN [1]	$\log K_{\text{MeAd}}^{\text{Me}}$				5,37	7,01	7,52	11,32	7,50

Darüber, dass die Bindung der Metallionen der deprotonierten Komplexe MeL über das *o*-Amino-N-oxid-Anion als Koordinationsstelle erfolgt, kann es keinen Zweifel geben: Ausser dem UV.-Spektrum zeigt auch das IR.-Spektrum des heterocyclischen Ringsystems in Lösungen von MeL-Komplexen eine ausgeprägte Veränderung (Fig. 3)⁸⁾.

Ein Vergleich der $\log K_{\text{MeL}}^{\text{Me}}$ -Werte in Tabelle 2 mit den von PERRIN [1] ermittelten Werten für die Stabilität der Komplexe des Adenosin-N(1)-oxids (Tab. 2) zeigt weiter, dass abgesehen von einigen Abweichungen, über deren Signifikanz sich nicht viel sagen lässt, die Stabilität der MeL-Komplexe weitgehend durch die Bindung der Metallionen an die *o*-Amino-N-oxid-Gruppierung der heterocyclischen Base bestimmt ist.

⁸⁾ In Lösungen von CuL zeigt die antisymmetrische $-\text{PO}_3^{2-}$ -Bande bei 1090 cm^{-1} auch eine gewisse Verbreiterung; dieser Effekt ist jedoch viel weniger ausgeprägt als in Komplexen mit wirklich vollständiger Bindung des Cu^{2+} an die $-\text{PO}_3^{2-}$ -Gruppe (vgl. z. B. [6]). Möglicherweise rührt er von der partiellen Ausbildung intermolekularer Assoziate mit Cu^{2+} -Phosphat-Wechselwirkung bei den relativ hohen Konzentrationen der IR.-Messungen her.

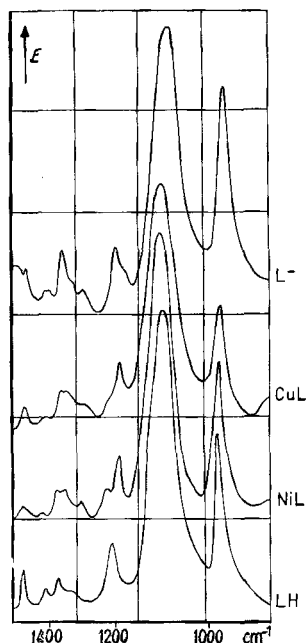
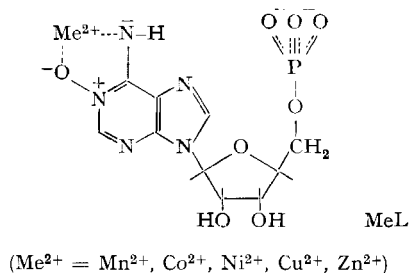


Fig. 3. IR-Spektren der Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid-Komplexe CuL ($\text{pH} = 7,58$) und NiL ($\text{pH} = 9,50$) in 0,2M wässrigen Lösungen; zum Vergleich LH ($\text{pH} = 8,47$) und L⁻ (in 1M NaOH), ebenfalls 0,2M



2.3. *Struktur des Cu²⁺-Komplexes CuHL*. Aus der gegenüber CuHL' auffällig erhöhten Stabilität des Komplexes CuHL (s. Abschnitt 2.1) hatte sich die Vermutung ergeben, dass im CuHL – im Gegensatz zu allen anderen untersuchten MeHL – das Metallion ähnlich wie im CuL und den anderen MeL-Komplexen an die *o*-Amino-N-oxid-Gruppe koordiniert sein könnte. Wir können diese Frage nun entscheiden, indem wir untersuchen, ob die Veränderung im UV.-Spektrum des heterocyclischen Ring-systems, die mit der Ausbildung der deprotonierten Komplexe verknüpft ist, sich auch schon in Lösungen von CuHL zeigt⁹⁾¹⁰⁾. Wir müssen hierzu bei relativ niederem pH, bei welchem wegen $\log K_{\text{CuHL}}^{\text{H}} = 5,44$ (Tab. 3) das Gleichgewicht $\text{CuHL} = \text{CuL} + \text{H}^+$

⁹⁾ Das in diesem Zusammenhang ebenfalls interessante IR.-Spektrum des CuHL lässt sich wegen dessen geringer Löslichkeit in wässriger Lösung nicht untersuchen.

¹⁰⁾ Sowohl CuL wie CuHL zeigen eine ähnliche Grünfärbung wie die Cu²⁺-Komplexe von Pyridin-N(1)-oxid und 2-Aminopyridin-N(1)-oxid; ein Hinweis dafür, dass hier wie dort [2] Cu²⁺ an die N-Oxid-Gruppe gebunden ist.

praktisch vollständig bei CuHL liegt, den Liganden durch Zusatz steigender Cu^{2+} -Konzentrationen in CuHL überführen (Fig. 4a). Tatsächlich zeigt sich hierbei mit zunehmender Ausbildung von CuHL eine Abnahme der Extinktion der 231-m μ -Bande.

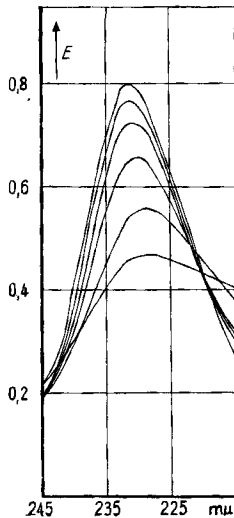


Fig. 4 a

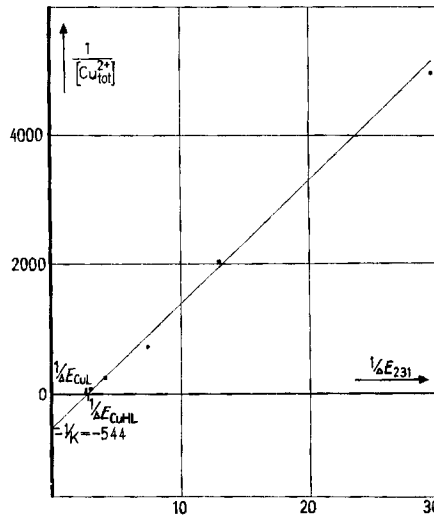


Fig. 4 b

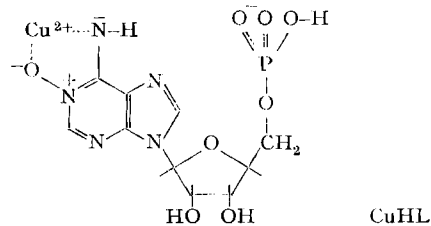
Fig. 4. Gleiches spektrales Verhalten von CuHL und CuL

- a) UV.-Absorption einer $2 \cdot 10^{-4}$ M Lösung von Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid (von oben nach unten) bei pH 4,05 allein, in $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$ $2 \cdot 10^{-4}$ M, $5 \cdot 10^{-4}$ M, $1,5 \cdot 10^{-3}$ M, $5 \cdot 10^{-3}$ M, und bei pH 7,5 $2 \cdot 10^{-4}$ M (CuL) (1-mm-Quarzküvetten; $I = 0,1$; $t = 25^\circ$).
- b) Graphische Ermittlung von $1/\Delta E_{\text{CuHL}}$ und der scheinbaren Stabilitätskonstanten des CuHL-Komplexes bei pH 4,05.

Tabelle 3. Aciditätskonstanten $K_{\text{MeHL}}^{\text{H}}$ für Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid-Komplexe

	Ba ²⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Mn ²⁺	Co ²⁺	Ni ²⁺	Cu ²⁺	Zn ²⁺
$\log K_{\text{MeHL}}^{\text{H}}$ ¹¹⁾	>10,79	>10,93	>10,39	8,93	7,77	7,70	5,44	6,90

Der Grenzwert der Extinktionsabnahme für vollständige Ausbildung von CuHL lässt sich graphisch extrapolieren: er stimmt innerhalb der Messgenauigkeit mit der Extinktions-Abnahme im CuL (Fig. 4b) überein. Auch im CuHL – wie im CuL – liegt



also eindeutig eine Bindung des Cu^{2+} an die deprotonierte *o*-Amino-N-oxid-Gruppe vor, im Gegensatz zur Struktur aller anderen untersuchten MeHL-Komplexe (s. Ab-

¹¹⁾ Berechnet nach Gleichung (5).

schnitt 2.1). Das Proton im CuHL muss folglich an die Phosphatgruppe gebunden sein. $\log K_{\text{CuHL}}^{\text{H}} = 5,44$ ist hiermit gut vereinbar: im CuHL wird die Phosphatgruppe gegenüber der des freien Liganden ($\text{p}K_{\text{HL}}^{\text{H}} = 6,13$) um ca. 0,7 pK-Einheiten acidifiziert; ein elektrostatischer Effekt dieser Grössenordnung ist durch die Einführung der zusätzlichen, von der Phosphatgruppe ca. 5–10 Å entfernten positiven Ladung im CuHL zu erwarten.

3. Diskussion. – 3.1. An unserem niedermolekularen Modell lässt sich demonstrieren, dass die Verteilung von Metallionen auf die einzelnen Koordinationsstellen in solchen ambivalenten Ligandsystemen sich dann aus der – unter Umständen bekannten – Metallionen-Affinität monovalenter Vergleichsliganden abschätzen lässt, wenn man für die Metallionen-Affinität die für die Konkurrenz mit dem Proton korrigierten FALLAB'schen Konstanten $K_{\text{Me}}^* = K_{\text{MeZ}}^{\text{Me}} \cdot K_{\text{HZ}}^{\text{H}}$ [7], bzw. die hieraus abgeleiteten Grössen $X_{\text{MeZ}}^{\text{Me}} = K_{\text{Me}}^* / (\text{H} + K_{\text{HZ}}^{\text{H}})$ als Masszahl verwendet.

In Fig. 5 haben wir die Grössen $\log X_{\text{NiZ}}^{\text{Ni}}$ und $\log X_{\text{CuZ}}^{\text{Cu}}$ einmal für einen Monophosphat-Liganden ($\text{Z} = \text{HL}'$) und zum andern für einen *o*-Amino-N-oxid-Liganden ($\text{Z} = \text{L}$) in Abhängigkeit vom pH aufgetragen.

Für Ni^{2+} ist bei niederem pH zunächst die Metallionen-Affinität der Phosphatgruppe um 1,6 log. Einheiten grösser als die des Ringsystems. Wir finden entsprechend in diesem pH-Bereich NiHL-Komplexe mit praktisch ausschliesslicher Bindung des Ni^{2+} an die Phosphatgruppe. Mit steigendem pH überschneiden sich die $\log X_{\text{NiZ}}^{\text{Ni}}$ -Kurven, so dass bei pH 7,7 die Metallionen-Affinität des *o*-Amino-N-oxid-Ringsystems die der Phosphatgruppe übersteigt; es werden dementsprechend NiL-Komplexe mit Bindung des Ni^{2+} an die *o*-Amino-N-oxid-Koordinationsstelle gebildet. Beim Überschneidungspunkt der beiden Kurven ist jeweils $\text{pH} = \log K_{\text{MeHL}}^{\text{H}}$ (Tab. 3).

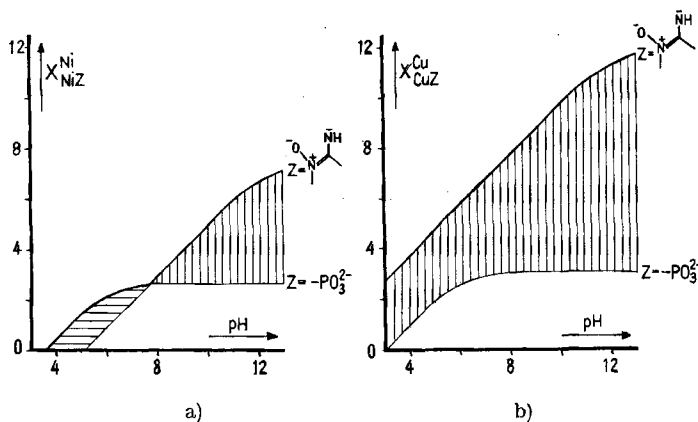


Fig. 5. Effektive Komplexbildungstendenz von *o*-Amino-N-oxid-Gruppe einerseits und Phosphat-Gruppe andererseits bei verschiedenen pH-Werten

a) für $X_{\text{NiZ}}^{\text{Ni}}$ für Ni^{2+} -Komplexe; b) für $X_{\text{CuZ}}^{\text{Cu}}$ für Cu^{2+} -Komplexe.

Beim Cu^{2+} gibt es im Gegensatz zu diesem – auch für die anderen untersuchten Metallionen typischen – Verhalten keine Überschneidung der $\log X$ -Kurven, sondern $\log X_{\text{CuZ}}^{\text{Cu}}$ ist für die *o*-Amino-N-oxid-Gruppierung bei allen untersuchten pH-Werten

grösser als für die Phosphatgruppe; es werden also unabhängig vom pH der Lösung stets Cu^{2+} -*o*-Amino-N-oxid-Komplexe ausgebildet.

Eine ähnliche Sonderstellung gegenüber den anderen untersuchten Zwertigen Metallionen in bezug auf die Ausbildung von *o*-Amino-N-oxid-Chelaten zeigte sich für Cu^{2+} auch schon bei der von uns früher untersuchten Komplexbildung mit 2-Aminopyridin-N(1)-oxid (= HL'') [2]; hier bildete allein Cu^{2+} einen deprotonierten Chelatkomplex CuL'' . Bei den übrigen Metallionen traten bei höheren pH statt der Komplexbildung mit der *o*-Amino-N-oxid-Gruppe Hydroxokomplexe bzw. Niederschläge auf; einzig Cu^{2+} acidifizierte die NH_2 -Gruppe so stark, dass ein Chelatkomplex zustande kam. Im Gegensatz hierzu werden jedoch von Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid bei höheren pH-Werten – infolge seiner grösseren Acidität – mit anderen Metallionen auch Chelat-Komplexe ausgebildet.

3.2. Für die Stabilität von CuHL hat sich in Abschnitt 2.1 $\log K_{\text{CuHL}}^{\text{Cu}} = 4,82$ ergeben. Dieser Wert – der in der üblichen Weise aus der Senkung des ersten Puffergebietes des Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxids in Gegenwart von Cu^{2+} errechnet wurde – gestattet zwar Konzentrationen wie $[\text{CuHL}]$, $[\text{Cu}^{2+}]$ usw. in Lösungen bestimmter Cu^{2+} - und Ligand-Totalkonzentration anzugeben¹²⁾; hingegen ergibt sich aus dieser Konstanten kein zutreffendes Bild für die «Bindungsfestigkeit» der – im vorliegenden Fall aus den optischen Messungen ermittelten – Koordinationsbindung im CuHL .

Die Stabilität von CuL und Cu^{2+} -Adenosin-N(1)-oxid beträgt 11,87 bzw. 11,32 pK-Einheiten; die einfache Protonierung der Phosphatgruppe – deren völliges Fehlen im Adenosin-N(1)-oxid die Stabilität ja kaum beeinflusst – kann hiernach sicher nicht einen unvermittelten Stabilitätsabfall um 7–8 pK-Einheiten herbeiführen. Vielmehr muss die Stabilität des CuHL gerade um jene 0,7 pK-Einheit, um die auch Cu^{2+} das Phosphatproton acidifiziert, geringer sein als die des CuL . Der die Koordinationsbindung sinnvoll charakterisierende Wert muss also $\log K_{\text{CuHL}}^{\text{Cu}} = 11,18$ sein.

Die zum eingangs angegebenen Wert führende, übliche Interpretation von Komplextitrationsdaten der in Fig. 1 dargestellten Art, bei welcher das nach $\text{H}_2\text{L} + \text{Me}^{2+} = \text{MeHL} + \text{H}^+$ freigesetzte Proton stillschweigend mit dem nach $\text{H}_2\text{L} = \text{HL} + \text{H}^+$ frei werdenden identifiziert wird, führt also, wie der Fall des CuHL zeigt, keineswegs mit Sicherheit zu koordinationschemisch sinnvollen Resultaten. Um sinnvolle Stabilitätskonstanten zu erhalten, muss man vielmehr in $K_{\text{MeHL}}^{\text{Me}} = \frac{[\text{MeHL}]}{[\text{Me}^{2+}][\text{HL}^*]}$ die Konzentration jener Partikel HL^* einsetzen, deren Vorliegen im Komplex MeHL die Strukturdaten anzeigen; in unserem Fall ist HL^* das zweifach negativ geladene Anion des Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxids, das ein Proton der Aminogruppe abgegeben hat, an der Phosphatgruppe jedoch noch ein Proton trägt. In den Protonen-Gleichgewichten des freien Liganden tritt diese Partikel in so geringer Konzentration auf, dass man sie üblicherweise gar nicht berücksichtigt; Protonenabspaltung aus H_2L findet eben ganz überwiegend zuerst an der Phosphatgruppe statt. Deshalb kennen wir auch die Gleichgewichtskonstante der Reaktion $\text{H}_2\text{L} = \text{HL}^* + \text{H}^+$ nicht genau; ihr Wert wird jedoch – da ein einfach negativ geladenes H_2L deprotoniert wird – zwischen dem für die Abspaltung des Protons aus

¹²⁾ Wenn deren $\text{pH} \leq 4,4$, CuL also noch nicht merklich ausgebildet ist.

dem zweifach negativ geladenen Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid (12,49) und dem für die Deprotonierung des ungeladenen Adenosin-N(1)-oxid (12,5 [8]; 12,86 [1]) liegen. Die Verwendung von $\log\left[\frac{[\text{H}_2\text{L}]}{[\text{H}^+][\text{HL}^*]}\right] L = 12,49$ zur Bestimmung der mit CuHL im Gleichgewicht stehenden Konzentrationen von HL* führt zu dem oben angegebenen exakten Wert von $pK_{\text{CuHL}}^{\text{Cu}} = 11,18$.

Es sei hier darauf hingewiesen, dass das spezielle Verhalten des CuHL insofern eine eindeutige Interpretation der Messresultate ermöglicht, als sich für dessen Struktur auf Grund optischer Messungen eindeutig eine Koordination des Metallions an der N-Oxid-Koordinationsstelle ergab. Hätte sich nämlich gezeigt – was nicht zum Vornherein auszuschliessen war –, dass in Lösungen von MeHL Partikeln mit Me^{2+} -Phosphat-Bindung und solche mit Me^{2+} -Bindung an die *o*-Amino-N-oxid-Gruppierung in vergleichbaren Konzentrationen im Gleichgewicht vorhanden sind, dann wäre – angewandt auf Cu^{2+} – weder der für die Cu^{2+} -Phosphatbindung sinnvolle Wert von 4,82 noch der für die Cu^{2+} -N-Oxid-Bindung sinnvolle von 11,18 gültig. Die allgemeine Behandlung solcher Gleichgewichte, in denen einzelne der konventionellen Konzentrationsterme in Wirklichkeit die Konzentrationen mehrerer komplex-isomerer Partikel umfassen und bei welchen die Angabe sinnvoller Stabilitätskonstanten überhaupt nicht mehr ohne weiteres möglich ist, soll in einer weiteren Mitteilung erfolgen.

4. Experimenteller Teil. – 4.1. *Reagenzien.* Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid stellen wir ähnlich wie in Lit. [8], [9] und [10] angegeben¹³⁾ her. Adenosin-5'-monophosphat und Metallperchlorate: FLUKA AG., Buchs. Die genaue Metallionenkonzentration in den Stammlösungen dieser Salze wurde mit Hilfe von Komplexon III acidimetrisch bestimmt (vgl. auch [11]).

4.2. *Verwendete Apparate.* Titrations: METROHM-Potentiograph E 336. pH-Messungen: METROHM-Präzisions-Potentiometer E 353; METROHM-UX- bzw. -U-Micro-Glaselektroden. UV.-Messungen: UNICAM SP 500. UV.-Spektren: BECKMAN-DB. IR.-Spektren: BECKMAN IR8.

4.3. *Protonierungsgleichgewichte des Liganden.* – 4.3.1. *Bestimmung von $pK_{\text{H}_2\text{L}}^{\text{H}}$ (Protonierung der N-Oxid-Gruppe):* $pK_{\text{H}_2\text{L}}^{\text{H}}$ liess sich spektrophotometrisch auf einfache Weise ermitteln, da die Protonierung der N-Oxid-Gruppe eine ausgeprägte Änderung des UV.-Spektrums bewirkt (siehe Fig. 6 und 7). Absorptionsspektren von H_3L (pH 0,8) und H_2L (pH 4,5 bis 6,0) sind direkt messbar; Gleichgewichtsanteile in Lösungen mit intermediären pH-Werten lassen sich also durch Interpolation ermitteln. $pK_{\text{H}_2\text{L}}^{\text{H}} = 2,58 \pm 0,02$ wurde bei zwei verschiedenen Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid-Konzentrationen ermittelt: in $2,48 \cdot 10^{-5}\text{M}$ Lösungen wurde die Extinktionsänderung bei 211 und 231 $m\mu$ (Fig. 6) und in $4,13 \cdot 10^{-4}\text{M}$ Lösungen bei 295 bzw. 300 $m\mu$ (Fig. 7) ausgewertet. Das Ergebnis war von der über einen Faktor von 17 variierten Ligandkonzentration unabhängig, ein Indiz dafür, dass in der Lösung keine Dimeren vorliegen. Der Wert $pK_{\text{H}_2\text{L}}^{\text{H}} = 2,58$ liegt etwas höher als die von STEVENS, MAGRATH, SMITH & BROWN [8] und von PERRIN [1] gefundenen Werte (2,14 bzw. 2,25) für die Protonierung von Adenosin-N(1)-oxid. Sehr ähnlich wie in Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid ist die Basizität der N-Oxid-Gruppe im 2-Aminopyridin-N(1)-oxid ($pK_{\text{A}} = 2,63$ [2]), während Pyridin-N(1)-oxid wesentlich weniger basisch ist ($pK_{\text{A}} = 0,56$ [12]).

4.3.2. *Bestimmung von $pK_{\text{H}_2\text{L}}^{\text{H}}$ (Protonierung der $-\text{PO}_3^{2-}$ -Gruppe):* Es wurden je 50 ml folgender zwei Lösungen ($I = 0,1$ und $t = 25^\circ$) mit $2 \cdot 10^{-2}\text{M}$ NaOH titriert: 1) $[\text{HClO}_4] = 3,5 \cdot 10^{-4}\text{M}$, $[\text{NaClO}_4] = 0,1\text{M}$; 2) $[\text{HClO}_4] = 3,5 \cdot 10^{-4}\text{M}$, $[\text{NaClO}_4] = 0,1\text{M}$, $[\text{Na}_2\text{HL}'\text{-N(1)-oxid}] = 10^{-4}\text{M}$. Die Auswertung ergab $pK_{\text{H}_2\text{L}}^{\text{H}} = 6,13 \pm 0,02$ ¹⁴⁾. Für HL' wurde in derselben Weise $pK_{\text{H}_2\text{L}'}^{\text{H}} = 6,14 \pm 0,03$ ermittelt, in Übereinstimmung mit dem Ergebnis von MARTELL & SCHWARZENBACH [13].

¹³⁾ Die genaue Beschreibung der Darstellung wird demnächst veröffentlicht.

¹⁴⁾ Vgl. Abschnitt 4.4.1.

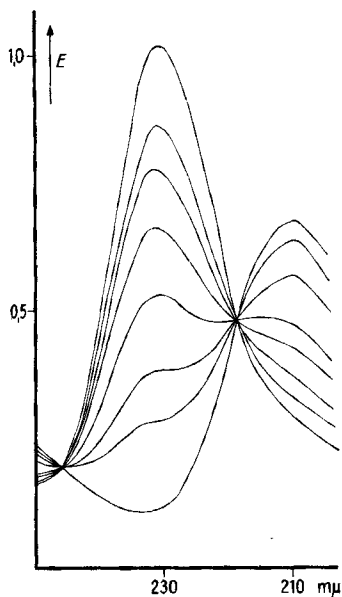


Fig. 6. UV.-Absorption einer $2,48 \cdot 10^{-5}$ M Lösung von Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid bei pH 5; 3,25; 3; 2,75; 2,5; 2,25; 2, und in 1 M HClO_4 (von oben nach unten; 1-cm-Quarzküvetten; $I = 0,1$; $t = 25^\circ$)

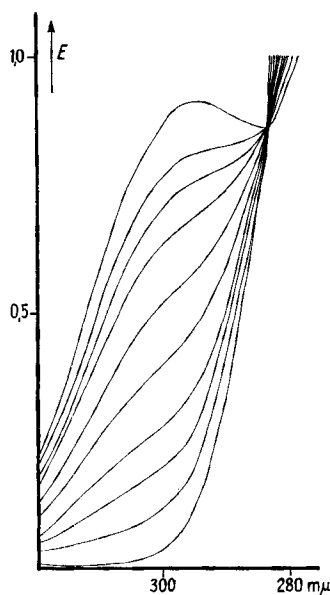


Fig. 7. UV.-Absorption einer $4,13 \cdot 10^{-4}$ M Lösung von Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid bei pH 5,0; 3,45; 3,25; 3,0; 2,75; 2,5; 2,0; 1,7 und 0,69 (von oben nach unten; 1-cm-Quarzküvetten; $I = 0,1$; $t = 25^\circ$)

4.3.3. Bestimmung von $pK_{\text{HL}}^{\text{H}}$ (Deprotonierung der $-\text{NH}_2$ -Gruppe): Die Bestimmung von $pK_{\text{HL}}^{\text{H}}$ erfolgte wie die von $pK_{\text{H}_2\text{L}}^{\text{H}}$ spektrophotometrisch. In $2,07 \cdot 10^{-4}$ M Lösungen von Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid ($I = 0,1$; $t = 25^\circ$) wurden die Extinktionsänderungen bei 310 bzw. 317 $m\mu$ ausgewertet (Fig. 8).

Ferner wurde auch noch bei $[\text{HL}'\text{-N(1)-oxid}] = 2,07 \cdot 10^{-5}$ M die Erniedrigung der Absorptionsbande bei 231 $m\mu$ (siehe z. B. Fig. 2 a) mit steigendem pH durch Auftragen von $1/E_{231}$ gegen $[\text{H}^+]$ ausgewertet¹⁵⁾ (Fig. 9).

Wir erhielten $pK_{\text{HL}}^{\text{H}} = 12,49 \pm 0,04$, unabhängig von der über einen Faktor von 10 variierten Ligandkonzentration. Mit Hilfe des nunmehr bekannten $pK_{\text{HL}}^{\text{H}}$ wurde aus den in Fig. 2 a und Fig. 9 dargestellten Messungen $\Delta\epsilon_{1,231} = (2,20 \pm 0,29) \cdot 10^4$ berechnet (vgl. Abschnitt 4.6).

4.4. Stabilitätskonstanten der MeHL-Komplexe von Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid und Adenosin-5'-monophosphat. – 4.4.1. Potentiometrische Bestimmung in Gegenwart von Metallionen-Überschuss: Die Stabilitätskonstanten $K_{\text{MeHL}}^{\text{Me}}$ bzw. $K_{\text{MeHL}'}^{\text{Me}}$ wurden für Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} und Zn^{2+} potentiometrisch bestimmt. Wir titrierten mit $2 \cdot 10^{-2}$ M NaOH unter Stickstoff 50 ml einer $2 \cdot 10^{-4}$ M Lösung von HL'-N(1)-oxid bzw. HL' in einem an HClO_4 $3,5 \cdot 10^{-4}$ M und an NaClO_4 0,1 M Lösungsmittel, sowie eine gleiche Menge des Lösungsmittels allein. Wir fanden so (siehe auch Abschnitt 4.3.2) $pK_{\text{H}_2\text{L}}^{\text{H}} = 6,13 \pm 0,02$ für Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid, $pK_{\text{H}_2\text{L}}^{\text{H}} = 6,14 \pm 0,03$ für Adenosin-5'-monophosphat. Ersetzt man unter sonst gleichen Bedingungen und bei gleicher Ionenstärke einen Teil des NaClO_4 durch $5 \cdot 10^{-4}$ M bis $2 \cdot 10^{-2}$ M¹⁶⁾ $\text{Me}(\text{ClO}_4)_2$, so findet

¹⁵⁾ Das Absorptionsspektrum von L konnte, wegen der bei dieser Wellenlänge schon starken Absorption der NaOH, nicht aufgenommen werden.

¹⁶⁾ Ausnahmsweise $3 \cdot 10^{-2}$ M.

man für das nunmehr gesenkte Puffergebiet (siehe als Beispiel Fig. 1) die in Tabellen 4 und 5 angegebenen pK_A' -Werte. Hierbei wurde für die Bestimmung des jeweiligen Neutralisationsgrades die Hydrolysenkurve der entsprechenden Metallionen als Bezugskurve verwendet. Durch die

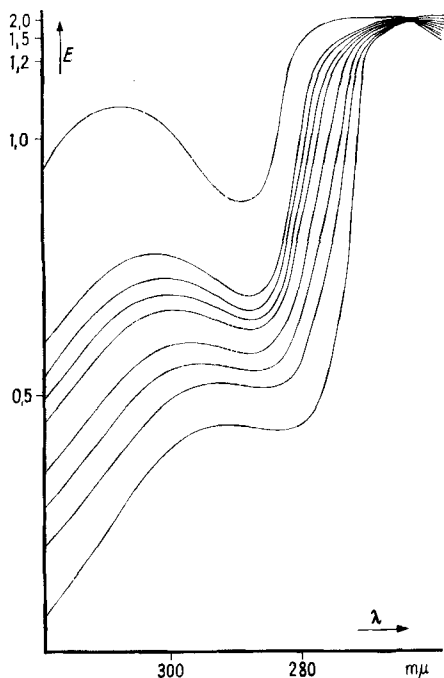


Fig. 8. UV.-Absorption einer $2,07 \cdot 10^{-4} M$ Lösung von Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid in 2M NaOH, bei pH 12,56; 12,50; 12,45; 12,32; 12,13; 11,94; 11,71 und 8,39 (von oben nach unten; 1-cm-Quarzküvetten; $I = 0,1$; $t = 25^\circ$)

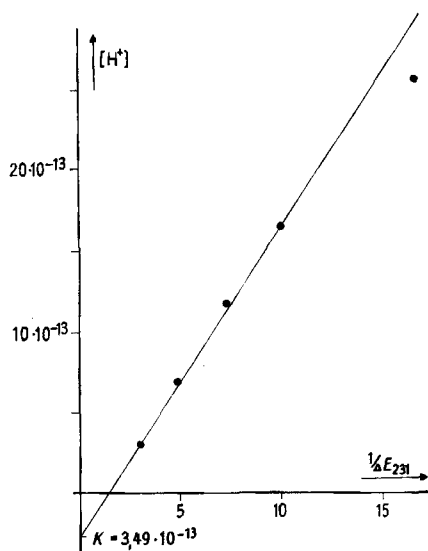


Fig. 9. Graphische Ermittlung der Aciditätskonstanten K_{HL}^H von Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid (vgl. Fig. 2a)

Senkung des Puffergebietes wird die Ausbildung eines Komplexes angezeigt. Die Gleichgewichtskonstante $\log K_{MeHL}^{Me}$ des $Me^{2+} : 1$ -Komplexes errechnet sich nach folgender bei genügend grossem Metallionen-Überschuss gültigen Gleichung (1):

$$K_{MeHL}^{Me} = \frac{[MeHL]}{[Me^{2+}][HL]} = \frac{K_A' - K_{H_2L}^H}{K_{H_2L}^H [Me^{2+}_{tot}]} \quad (1)$$

Für CuHL, wurden die Titrationskurven, wegen der zunehmenden Ausbildung von CuL bei höheren pH-Werten, nur bis pH 4,3 ausgewertet. Zur Berechtigung dieser Auswertung der Titrationsdaten vgl. auch Abschnitt 3.2. Um den in diesem Abschnitt als sinnvoll bezeichneten Wert K_{CuHL}^{Cu} zu erhalten, wäre in obiger Gleichung (1) für $K_{H_2L}^H$ $10^{-12,49}$ einzusetzen. Unsere $\log K_{MeHL}^{Me}$ -Werte (einschliesslich $pK_{H_2L}^H$) liegen niedriger als die von TAQUI & MARTELL [14] und WALAAS [15] gefundenen, stimmen jedoch mit denen von MARTELL & SCHWARZENBACH [13] und von SMITH & ALBERTY [16] ermittelten ausgezeichnet überein. Die in Tabellen 1, 4 und 5 angegebenen Ergebnisse sind die Durchschnittswerte mehrerer Titrations. Die Reproduzierbarkeit war in fast allen Fällen besser als 0,06 log. Einheiten.

Tabelle 4. Stabilitätskonstanten $K_{\text{MeHL}}^{\text{Me}}$ für Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid-Komplexe
($\text{p}K_{\text{H}_2\text{L}}^{\text{H}} = 6,13 \pm 0,02$; $I = 0,1$; $t = 25^\circ$)

Me^{2+}	$[\text{Me}^{2+}]$	$\text{p}K_{\text{A}'}$	$\log K_{\text{MeHL}}^{\text{Me}}$ ¹⁷⁾
Ba	$2,02 \cdot 10^{-2}$	$6,02 \pm 0,02$	1,15
Ca	$1,90 \cdot 10^{-2}$	$5,96 \pm 0,01$	1,43
Mg	$1,87 \cdot 10^{-2}$	$5,88 \pm 0,01$	1,62
Mn	$1,87 \cdot 10^{-2}$	$5,55 \pm 0,04$	2,14
Co	$1,92 \cdot 10^{-2}$	$5,61 \pm 0,07$	2,11
Ni	$1,90 \cdot 10^{-2}$	$5,19 \pm 0,05$	2,66
Cu	$9,28 \cdot 10^{-4}$	$4,38 \pm 0,02$	4,82 ⁹⁾
Zn	$1,86 \cdot 10^{-2}$	$5,55 \pm 0,02$	2,20

Tabelle 5. Stabilitätskonstanten $K_{\text{MeHL}}^{\text{Me}}$ für Adenosin-5'-monophosphat
($\text{p}K_{\text{H}_2\text{L}}^{\text{H}} = 6,14 \pm 0,03$; $I = 0,1$; $t = 25^\circ$)

Me^{2+}	$[\text{Me}^{2+}]$	$\text{p}K_{\text{A}'}$	$\log K_{\text{MeHL}}^{\text{Me}}$ ¹⁷⁾
Ba	$2,08 \cdot 10^{-2}$	$6,03 \pm 0,03$	1,14
Ca	$1,71 \cdot 10^{-2}$	$5,99 \pm 0,04$	1,39
Mg	$1,87 \cdot 10^{-2}$	$5,89 \pm 0,02$	1,63
Mn	$1,89 \cdot 10^{-2}$	$5,58 \pm 0,03$	2,14
Co	$1,88 \cdot 10^{-2}$	$5,52 \pm 0,05$	2,19
Ni	$9,40 \cdot 10^{-3}$	$5,47 \pm 0,06$	2,62
Cu	$4,70 \cdot 10^{-3}$	$5,34 \pm 0,04$	3,04
Zn	$1,86 \cdot 10^{-2}$	$5,53 \pm 0,08$	2,23

4.4.2. Potentiometrische Bestimmung von $K_{\text{CuHL}}^{\text{Cu}}$ in Gegenwart äquivalenter Cu^{2+} -Konzentrationen: Titriert wurden mit 0,1M NaOH unter Stickstoff ($I = 0,1$ und $t = 25^\circ$) 35,5 ml folgender Lösungen: α) $1,52 \cdot 10^{-3}\text{M}$ an HClO_4 und 0,1M an NaClO_4 ; β) dito + $8,45 \cdot 10^{-4}\text{M}$ an $\text{HL}'\text{-N}(1)\text{-oxid}$; γ) dito + $8,45 \cdot 10^{-4}\text{M}$ an $\text{HL}'\text{-N}(1)\text{-oxid}$ und an $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$. Nach den Titrationen wurde jede der drei Lösungen mit 1 ml 0,1M HClO_4 wieder sauer gestellt, mit 0,1M NaClO_4 auf ein Volumen von 71 ml aufgefüllt und wiederum mit 0,1M NaOH titriert (Fig. 10).

$K_{\text{CuHL}}^{\text{Cu}}$ wurde nach Gleichung (2) berechnet:

$$K_{\text{CuHL}}^{\text{Cu}} = \frac{[\text{CuHL}]}{[\text{Cu}^{2+}][\text{HL}]} = \frac{(\Delta H'/n) ([\text{H}^+]/K_{\text{H}_2\text{L}}^{\text{H}} + 1)}{c (1 - \Delta H'/n)^2} \quad (2)$$

Hierbei ist $c = L_{\text{tot}} = \text{Cu}_{\text{tot}}$, n der Protonierungsgrad des freien Liganden beim jeweiligen pH, $\Delta H' = \Delta H/c$, wobei ΔH der Mehrverbrauch an NaOH in Gegenwart von Cu^{2+} ist (ausgedrückt als Konzentration im Titrationsvolumen.) Die Ausbildung von CuL wird in Gleichung (2) nicht berücksichtigt, es wurde deshalb maximal bis $\text{pH} = 4,3$ ausgewertet. In Übereinstimmung mit den Titrationen bei Cu^{2+} -Überschuss wurde erhalten $\log K_{\text{CuHL}}^{\text{Cu}} = 4,83 \pm 0,04$; für diesen Wert gilt dasselbe wie in Abschnitt 4.4.1.

4.4.3. Spektrophotometrische Bestimmung von $\log K_{\text{CuHL}}^{\text{Cu}}$: Die Ausbildung eines MeHL -Komplexes zwischen Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid und Cu^{2+} zeigt sich im Gegensatz zu denjenigen der Metalle Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} und Zn^{2+} auch durch eine Veränderung der UV.-Absorption des Adenin-Systems an (vgl. Abschnitt 2.3). Dies ermöglicht es,

¹⁷⁾ Jeweils Durchschnittswerte mehrerer Titrationen.

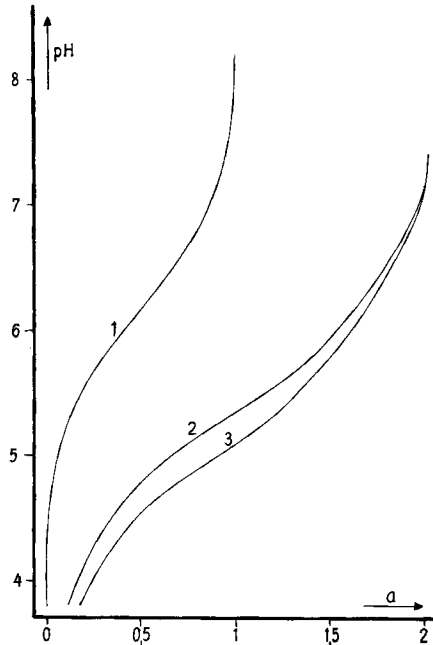
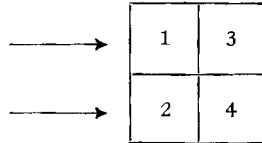


Fig. 10. Neutralisationsgrad *a* einer $8,45 \cdot 10^{-4} \text{M}$ ($4,23 \cdot 10^{-4} \text{M}$) Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid-Lösung allein (1), sowie in Gegenwart von $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$ $8,45 \cdot 10^{-4} \text{M}$ (2) bzw. $4,23 \cdot 10^{-4} \text{M}$ (3), in Abhängigkeit vom pH ($I = 0,1$; $t = 25^\circ$). Bei (2) und (3) $[\text{HL}] = [\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2]$

$\log K_{\text{CuHL}}^{\text{Cu}}$ auch spektrophotometrisch zu bestimmen (Fig. 11a), und zwar durch Messung von Differenz-Spektren in folgender Küvetten-Anordnung:



Küvette 1: $[\text{HL}] = 2 \cdot 10^{-4} \text{M}$; $[\text{NaClO}_4] = 0,055$ bis $0,1 \text{M}$; $[\text{Cu}^{2+}] = 5 \cdot 10^{-4}$ bis $5 \cdot 10^{-2} \text{M}$.

Küvette 2: $[\text{HL}]$: wie in 1.

Küvette 3: Wasser.

Küvette 4: $[\text{Cu}^{2+}]$ und $[\text{NaClO}_4]$ wie in 1.

Die Ionenstärke wurde durch Zusatz von NaClO_4 konstant gehalten ($I = 0,1$), das pH der Lösungen wurde auf 3,5 bzw. 4,0 eingestellt. Es wurde die Veränderung der Differenz-Extinktion bei 274 und 295 $\text{m}\mu$ ausgewertet, durch Auftragen von $1/E_{274}$ bzw. $1/E_{295}$ gegen $1/[\text{Cu}^{2+}_{\text{tot}}]$. Eine solche graphische Auswertung bei 274 $\text{m}\mu$ der Messungen aus Fig. 11a zeigt Fig. 11b. Alle Punkte liegen auf einer Geraden; damit ist das Vorliegen eines 1:1-Komplexes bestätigt. Der negative Logarithmus der scheinbaren Stabilitätskonstanten des Komplexes bei pH 3,5 bzw. 4,0 ist 2,29 bzw. 2,72.

Die von der Ausbildung von CuHL herrührende, in Fig. 4a dargestellte Extinktionsabnahme bei 231 $\text{m}\mu$ ($[\text{HL}] = 2 \cdot 10^{-4} \text{M}$; $[\text{Cu}^{2+}] = 2 \cdot 10^{-4} \text{M}$ bis $5 \cdot 10^{-3} \text{M}$; $I = 0,1$; $t = 25^\circ$; pH = 4,05) ist in Fig. 4b durch Auftragen von $1/E_{231}$ gegen $1/[\text{Cu}^{2+}_{\text{tot}}]$ graphisch ausgewertet. Die scheinbare Stabilitätskonstante ist hierbei 2,72. Addiert man zu diesen Werten $\log(1 + [\text{H}^+]/K_{\text{H}_2\text{L}}^{\text{H}})$ als Korrektur für die Verminderung der freien HL-Konzentration durch die bei pH 3,5 bzw. 4,0

auftretende partielle Protonierung des Liganden, so erhält man als Mittel aller Messungen bei Verwendung von $K_{H_2L}^H = 10^{-6,13}$ (vgl. auch Abschnitt 3.2 und 4.4.1) $\log K_{CuHL}^{Cu} = 4,84 \pm 0,05$, bei Verwendung von $K_{H_2L}^H = 10^{-12,49}$ hingegen $\log K_{CuHL}^{Cu} = 11,18$.

Diese Werte für die Stabilitätskonstante $\log K_{CuHL}^{Cu}$ sind mit den potentiometrisch erhaltenen praktisch identisch und somit durch zwei voneinander unabhängige Untersuchungsmethoden sichergestellt.

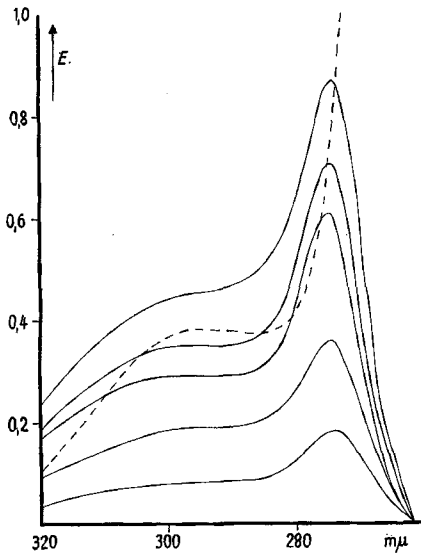


Fig. 11 a

Fig. 11a. UV.-Differenzabsorption einer $2 \cdot 10^{-4} M$ Lösung von Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid bei pH 4,0 in $Cu(ClO_4)_2$ $5 \cdot 10^{-2} M$; $1,5 \cdot 10^{-2} M$; $5 \cdot 10^{-3} M$; $1,5 \cdot 10^{-3} M$ und $5 \cdot 10^{-4} M$ (von oben nach unten).

(Unterbrochene Linie: Absorptionsspektrum von $2 \cdot 10^{-4} M$ Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid gegen H_2O .) (1-cm-Quarzküvetten; $I = 0,1$; $t = 25^\circ$)

Fig. 11b. Graphische Ermittlung der scheinbaren Stabilitätskonstanten des CuHL-Komplexes bei pH 4,0

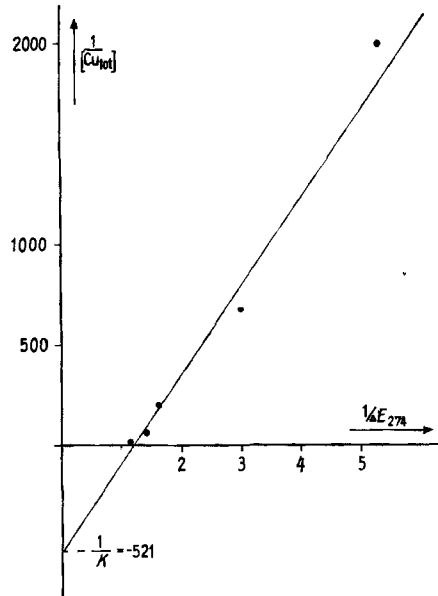


Fig. 11 b

4.5. Potentiometrische Bestimmung von $\log K_{CuHL}^H$ bzw. $\log K_{CuL}^{Cu}$. Aus den in Abschnitt 4.4.2 beschriebenen Messungen lässt sich durch Auswertung der Titrationskurven von pH 4,6 bis 6,6 ausser K_{CuHL}^{Cu} auch K_{CuHL}^H bestimmen (Gleichung 3):

$$K_{CuHL}^H = \frac{-B \pm \sqrt{B^2 - 4 \cdot A \cdot C}}{2 \cdot A \cdot [H^+]}, \quad (3)$$

wobei

$$A = \frac{K_{CuHL}^{Cu}}{c} \cdot a^2 \cdot \Delta H' - (a-1) \cdot (1 - a \cdot \Delta H')^2;$$

$$B = \frac{K_{CuHL}^{Cu}}{c} \cdot a^2 \cdot \Delta H' \cdot (a+1) + 2(a-1) \cdot (a \cdot \Delta H' - 1) \cdot [a - (a \cdot \Delta H' - 1)];$$

$$C = -(a-1) \cdot [a \cdot (a \cdot \Delta H' - 1)];$$

$$a = \frac{[H^+] + K_{H_2L}^H}{[H^+]}; \quad c = L_{tot} = Cu_{tot}; \quad \Delta H' = \Delta H/c \text{ (vgl. Abschnitt 4.4.2).}$$

Gleichung (3) wurde aus folgenden Bestimmungsgleichungen (4a) bis (4g) abgeleitet:

$$[L_{tot}] = [H_2L] + [HL] + [MeHL] + [MeL] \quad (4a)$$

$$[Me_{tot}] = [Me^{2+}] + [MeL] + [MeHL] \quad (4b)$$

$$\Delta H = [MeL] \cdot \frac{2[H^+] + K_{H_2L}^H}{[H^+] + K_{H_2L}^H} + [MeHL] \cdot \frac{[H^+]}{[H^+] + K_{H_2L}^H} \quad (4c)$$

$$K_{MeHL}^H = \frac{[MeHL]}{[H^+][MeL]} \quad (4d)$$

$$K_{MeHL}^{Me} = \frac{[MeHL]}{[Me^{2+}][HL]} \quad (4e)$$

$$K_{H_2L}^H = \frac{[H^+][HL]}{[H_2L]} \quad (4f)$$

$$K_{HL}^H = \frac{[H^+][L]}{[HL]} \quad (4g)$$

Mit Hilfe der sieben Bestimmungsgleichungen können von den sieben Unbekannten K_{CuHL}^H , $[CuHL]$, $[H_2L]$, $[CuL]$, $[HL]$, $[L]$ und $[Cu^{2+}]$ sechs eliminiert werden, wodurch man für K_{CuHL}^H Gleichung (3) erhält. Die quadratische Gleichung (3) liefert für K_{CuHL}^H zwei Lösungen; eine davon lässt sich, da für sie einzelne Konzentrationen negativ werden, als sinnlos eliminieren. Als Lösung mit nur positiven Konzentrationen ergibt sich im Mittel $\log K_{CuHL}^H = 5,44 \pm 0,04$. Hieraus kann nach Gleichung (5) $\log K_{CuL}^{Cu} = 11,87$ berechnet werden:

$$\log K_{MeL}^{Me} = \log K_{MeHL}^{Me} + pK_{HL}^H - \log K_{MeHL}^H \quad (5)$$

4.6. *Spektrophotometrische Bestimmung der anderen $\log K_{MeL}^{Me}$ -Werte.* In Gegenwart von Metallionen findet im Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid eine Verdrängung des Protons der NH_2 -Gruppe schon bei pH 6–9 statt. Diese Verdrängung des Protons und damit die Ausbildung von MeL-Komplexen äussert sich durch Erniedrigung der Absorptionsbande mit dem Maximum bei 231 μ (siehe Fig. 2b). Diese Erniedrigung ist ein Mass für die Ausbildung des MeL-Komplexes. In Tabelle 6 sind die so ermittelten $\log K_{MeL}^{Me}$ -Werte für Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} und Zn^{2+} , sowie deren obere Grenze für Ba^{2+} , Ca^{2+} und Mg^{2+} , mit den zugehörigen Me^{2+} -Konzentrationen und den ΔE -Werten beim jeweiligen pH angegeben. In allen Fällen war $[HL] = 2 \cdot 10^{-4} M$; $I = 0,1$ wurde mit $NaClO_4$ eingestellt; Messungen bei 25° in 1-mm-Quarzküvetten. Für diese Bestimmungen wurde die Hydrolyse der Metallionen vernachlässigt, ausserdem wurde $\Delta \epsilon_{MeL/231} = \Delta \epsilon_{L/231}$ gesetzt, so dass $[MeL]$ nach $[MeL] = \Delta E / \Delta \epsilon_L \cdot d$ aus ΔE erhalten werden kann (siehe Abschnitt 4.3.3). Unter diesen Voraussetzungen wurde K_{MeL}^{Me} nach Gleichung (6) bestimmt:

$$K_{MeL}^{Me} = \frac{[H^+]/K_{HL}^H \cdot (1/K_{MeHL}^H + 1/[Me^{2+}])}{[L_{tot}]/[ML] - 1} \quad (6)$$

Gleichung (6) ergibt sich aus Gleichungen (4e), (4g), (7a) und (7b):

$$K_{MeL}^{Me} = \frac{[MeL]}{[Me^{2+}][L]} \quad (7a)$$

$$[L_{tot}] = [HL] + [MeL] + [MeHL] \quad (7b)$$

Die in Gleichung (6) einzusetzenden $[Me^{2+}]$ wurden zunächst näherungsweise nach $[Me^{2+}] = [Me_{tot}] - [ML]$ berechnet. Der angenäherte K_{MeL}^{Me} - bzw. K_{MeHL}^H -Wert (Gleichung 5) liefert $[MeHL]$ (Gleichung 4d). Wiederholt man nun die Berechnung mit einem durch Berücksichtigung von $[Me^{2+}] = [Me_{tot}] - [MeL] - [MeHL]$ verbesserten $[Me^{2+}]$, so erhält man einen besser angenäherten K_{MeL}^{Me} -Wert. Die Ergebnisse dieser bis zur Konstanz von K_{MeL}^{Me} durchgeführten iterativen Berechnungen sind in Tabelle 6 wiedergegeben.

Tabelle 6. Stabilitätskonstanten K_{MeL}^{Me} für Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid-Komplexe
 ($pK_{HL}^H = 12,49 \pm 0,04$; $I = 0,1$; $t = 25^\circ$)

	[Me ²⁺]	pH	ΔE	$\log K_{MeL}^{Me}$	Mittelwert
Mn ²⁺	$3,69 \cdot 10^{-2}$	7,96	$0,043 \pm 0,005$	$5,79 \pm 0,05$	} $5,71 \pm 0,09$
	$2,34 \cdot 10^{-2}$	8,06	$0,039 \pm 0,001$	$5,68 \pm 0,08$	
	$1,87 \cdot 10^{-2}$	8,39	$0,073 \pm 0,013$	$5,68 \pm 0,10$	
Co ²⁺	$1,86 \cdot 10^{-2}$	7,53	$0,177 \pm 0,005$	$7,07 \pm 0,03$	} $6,83 \pm 0,12$
	$9,40 \cdot 10^{-3}$	7,51	$0,108 \pm 0,018$	$6,88 \pm 0,06$	
	$4,74 \cdot 10^{-3}$	7,49	$0,070 \pm 0,006$	$6,82 \pm 0,01$	
	$4,73 \cdot 10^{-3}$	8,49	$0,079 \pm 0,018$	$6,72 \pm 0,11$	
	$2,37 \cdot 10^{-3}$	7,57	0,053	6,80	
	$2,84 \cdot 10^{-4}$	8,58	0,051	6,64	
Ni ²⁺	$2,33 \cdot 10^{-3}$	7,49	0,125	7,57	} $7,45 \pm 0,07$
	$9,25 \cdot 10^{-4}$	7,99	0,168	7,51	
	$9,29 \cdot 10^{-4}$	7,49	0,052	7,34	
	$4,69 \cdot 10^{-4}$	7,49	0,037	7,43	
	$4,66 \cdot 10^{-4}$	7,98	0,089	7,38	
	$1,90 \cdot 10^{-4}$	7,98	0,051	7,47	
	$1,80 \cdot 10^{-4}$	8,23	0,071	7,45	
	$1,90 \cdot 10^{-4}$	8,97	$0,192 \pm 0,027$	$7,47 \pm 0,14$	
Zn ²⁺	$2,32 \cdot 10^{-2}$	5,99	0,048	7,89	} $7,79 \pm 0,07$
	$1,86 \cdot 10^{-2}$	6,09	0,046	7,79	
	$1,84 \cdot 10^{-2}$	6,99	0,063	7,95	
	$2,30 \cdot 10^{-3}$	6,99	$0,092 \pm 0,003$	$7,71 \pm 0,02$	
	$2,22 \cdot 10^{-3}$	7,47	0,098	7,75	
	$4,59 \cdot 10^{-4}$	7,48	$0,084 \pm 0,010$	$7,80 \pm 0,07$	
Mg ²⁺	$4,56 \cdot 10^{-3}$	9,88	<0,020		<3,72
Ca ²⁺	$3,68 \cdot 10^{-2}$	9,92	<0,020		<3,00
Ba ²⁺	$4,02 \cdot 10^{-2}$	9,92	<0,020		<2,86

Ein oberer Grenzwert für die Stabilitätskonstanten $\log K_{MeL}^{Me}$ der Mg²⁺-, Ca²⁺- und Ba²⁺-Komplexe (Tab. 6) ergibt sich daraus, dass unter den angegebenen Bedingungen sicher $\Delta E < 0,02$ ist. Aus den in Tabelle 6 angegebenen $\log K_{MeL}^{Me}$ -Werten lassen sich die in Tabelle 3 angegebenen $\log K_{MeHL}^H$ der MeHL-Komplexe nach Gleichung (5) berechnen.

Herr Professor ERLÉNMEYER hat in vielen Diskussionen mit Anregungen und Kritik am Entstehen der vorliegenden Arbeit Anteil genommen, wofür wir ihm auch an dieser Stelle unsern verbindlichsten Dank ausdrücken. Ferner danken wir Herrn Dr. B. PRIJS für Ratschläge bei der Abfassung des Manuskriptes und Fr. K. RADICKE für ihre Mithilfe bei präparativen und analytischen Arbeiten. Dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG sind wir für die Unterstützung unserer Arbeiten dankbar.

SUMMARY

Structures of metal ion complexes of adenosine-5'-monophosphate-N(1)-oxide have been investigated by comparison of stability constants with those of adenosine-5'-monophosphate and by spectral measurements. In Cu²⁺-complexes of adenosine-5'-monophosphate-N(1)-oxide Cu²⁺ is found to be bonded to the *o*-amino-N-oxide ligand group within the whole pH range investigated. On the other hand, in complexes of

other bivalent 3d-metal ions, the binding of the metal ion involves only the phosphate group at neutral or weakly acid pH, whereas at higher pH these complexes are deprotonated with simultaneous formation of a chelate at the *o*-amino-N(1)-oxide group. This behaviour can be explained in terms of the coordination tendency of the two coordination sites in the adenosine-5'-monophosphate-N(1)-oxide molecule towards the respective metal ions, if proper account is taken of the concurrent coordination of protons.

Universität Basel,
Institut für anorganische Chemie

LITERATURVERZEICHNIS

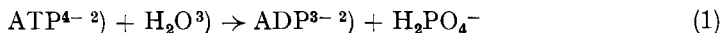
- [1] D. D. PERRIN, J. Amer. chem. Soc. **82**, 5642 (1960).
 [2] H. SIGEL & H. BRINTZINGER, Helv. **46**, 701 (1963); H. SIGEL, H. BRINTZINGER & H. ERLENMEYER, Helv. **46**, 712 (1963).
 [3] H. BRINTZINGER & S. FALLAB, Helv. **43**, 43 (1960).
 [4] G. L. EICHHORN & P. CLARK, J. Amer. chem. Soc. **85**, 4020 (1963); S. KATZ, Nature **195**, 997 (1962).
 [5] P. W. SCHNEIDER, H. BRINTZINGER & H. ERLENMEYER, Helv. **47**, 992 (1964).
 [6] Vorläufige Mitteilung: H. BRINTZINGER, Biochim. biophys. Acta **77**, 343 (1963).
 [7] S. FALLAB, Helv. **37**, 645 (1954); Experientia **10**, 190 (1954); S. FALLAB & H. ERLENMEYER, Arch. exper. Path. Pharmacol. **230**, 205 (1957).
 [8] M. A. STEVENS, D. I. MAGRATH, H. W. SMITH & G. B. BROWN, J. Amer. chem. Soc. **80**, 2755 (1958).
 [9] F. CRAMER, K. RANDEARTH & E. A. SCHÄFER, Z. Naturforsch. **18b**, 163 (1963).
 [10] H. KLENOW & S. FREDERIKSEN, Biochim. biophys. Acta **52**, 384 (1961).
 [11] G. SCHWARZENBACH & W. BIEDERMANN, Helv. **31**, 459 (1948).
 [12] TANEKAZU KUBOTA, J. pharm. Soc. Japan **75**, 1546 (1955).
 [13] A. E. MARTELL & G. SCHWARZENBACH, Helv. **39**, 653 (1956).
 [14] M. M. TAQUI KHAN & A. E. MARTELL, J. Amer. chem. Soc. **84**, 3037 (1962).
 [15] E. WALAAS, Acta chem. scand. **12**, 528 (1958).
 [16] R. M. SMITH & R. A. ALBERTY, J. Amer. chem. Soc. **78**, 2376 (1956).

187. Zum Mechanismus der Metallionen-katalysierten Hydrolyse von Adenosintriphosphat (ATP). I

von P. W. Schneider und H. Brintzinger

(8. VII. 64)

1. Problem. – 1.1. Zweiwertige Metallionen vermögen die hydrolytische Adenosin-triphosphat-Spaltung u. a.¹⁾ durch eine Beschleunigung der Reaktion



zu katalysieren; insbesondere Cu²⁺ löst eine ausgeprägte Reaktionsbeschleunigung bei

¹⁾ Eine Beschleunigung der Reaktion $\text{ATP}^{4-} + \text{OH}^- \rightarrow \text{ADP}^{3-} + \text{HPO}_4^{2-}$ durch zweiwertige Metallionen ist schon länger bekannt [1] [2], weitere Literatur s. in [3]. (Die Zahlen in eckigen Klammern verweisen auf das Literaturverzeichnis, S. 1732.)

²⁾ ATP = Adenosin-5'-triphosphat, ADP = Adenosin-5'-diphosphat.

³⁾ Dass hier tatsächlich H₂O und nicht OH⁻ reagiert, soll in Abschnitt 2.3.3 belegt werden.