

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

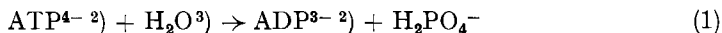
- [1] D. D. PERRIN, J. Amer. chem. Soc. **82**, 5642 (1960).
 [2] H. SIGEL & H. BRINTZINGER, Helv. **46**, 701 (1963); H. SIGEL, H. BRINTZINGER & H. ERLENMEYER, Helv. **46**, 712 (1963).
 [3] H. BRINTZINGER & S. FALLAB, Helv. **43**, 43 (1960).
 [4] G. L. EICHHORN & P. CLARK, J. Amer. chem. Soc. **85**, 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. RANDEATH & 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.

pH 5–6 aus⁴⁾ (Fig. 1). Reaktive Partikel bei dieser Metallionen-Katalyse ist offenbar⁵⁾ ein Komplex $\text{Me}^{2+}\text{-ATP}^{4-6)}$.

Bei der Untersuchung der Katalyse-Mechanismen ist zunächst zu beachten, dass in der Lösung eines solchen Komplexes zahlreiche Komplex-Strukturen miteinander im Gleichgewicht stehen. So kann das Metallion an das N(7)-Atom, an die β - oder an die γ -Phosphatgruppe der ATP^{4-} -Molekel koordiniert sein (siehe z. B. [8]). Welche dieser Komplex-Strukturen ist nun für die Steigerung der Reaktivität des ATP-Liganden verantwortlich?

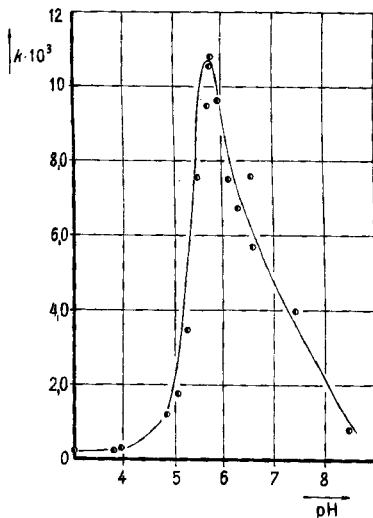


Fig. 1. *pH-Abhängigkeit der Cu^{2+} -katalysierten ATP^{4-} -Hydrolyse*
 ($[\text{ATP}^{4-}] = 10^{-3}\text{M}$, $[\text{Cu}^{2+}] = 1,1 \cdot 10^{-3}\text{M}$; 50°)

1.2. $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$, welches an Reaktivität alle anderen untersuchten $\text{Me}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ bei weitem übertrifft, nimmt auch hinsichtlich der Ausbildung der genannten Koordinationsmöglichkeiten eine Sonderstellung ein. Einerseits ergibt sich hier aus IR.-Spektren in wässriger Lösung, dass Cu^{2+} vorwiegend direkt an die γ -Phosphatgruppe koordiniert ist [9]⁷⁾ (vgl. I). Andererseits ist aber auch in der weit überwiegenden Mehrzahl der $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ -Molekeln Cu^{2+} am N(7) des Adeninrings koordiniert [10]⁸⁾, und zwar höchstwahrscheinlich entsprechend Struktur II. Es muss also im $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ die terminale Phosphatgruppe unter Ausbildung eines makrocyclischen Chelat-

⁴⁾ Nach unabhängigen Befunden von TETAS & LOWENSTEIN [3] und von uns (vorl. Mitteilung [4]; vgl. auch [5] [6]).

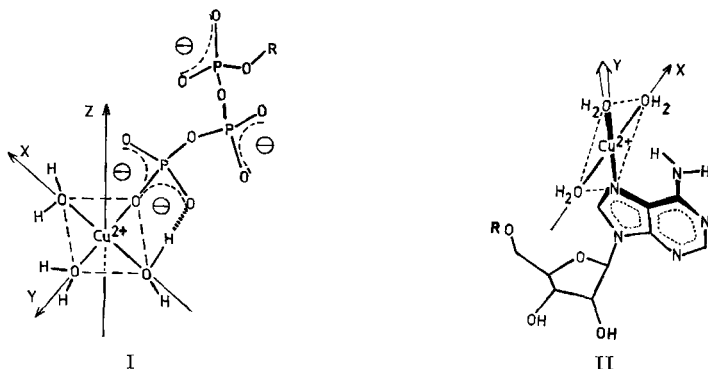
⁵⁾ Die pH-Abhängigkeit in Fig. 1 zeigt an, dass sowohl $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{3-}$ wie $\text{Cu}^{2+}\text{-OH}^-\text{-ATP}^{4-}$ unreaktiv sind (vgl. auch [3]). Zur möglichen Beteiligung von höheren als 1:1-Komplexen siehe Abschnitt 2.3.1 und 2.3.2.

⁶⁾ Im Gegensatz hierzu sind im alkalischen Milieu im allgemeinen polymere Metallion-ATP-Hydroxo-Komplexe mit weitgehend unbekannter Struktur (vgl. z. B. [5] [7]) Ausgangspunkt der Metallionen-katalysierten Reaktion.

⁷⁾ Dieses Verhalten zeigt auch $\text{Zn}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$; bei den ATP-Komplexen anderer untersuchter Metallionen ist – nach den IR.-Spektren zu urteilen – im überwiegenden Anteil der Komplexmolekeln das Metallion nicht direkt an die γ -Phosphatgruppe koordiniert.

⁸⁾ Bei Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} und Ca^{2+} betragen die entsprechenden Anteile nur einige 20 bis < 3%.

ringes an eine der in II durch H_2O besetzten Koordinationsstellen des Cu^{2+} gebunden sein, und zwar wiederum bei der überwiegenden Mehrheit der Komplexmolekeln, während bei anderen zweiwertigen Metallionen eine solche makrocyclische Chelatstruktur nur mit geringer Häufigkeit auftritt.



Man kann nun vermuten, dass die grosse Reaktivität von $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ mit dem hohen Ausbildungsgrad der makrocyclischen Chelatstruktur zusammenhängt. Diese Vermutung führt, wenn sie sich bestätigt⁹⁾, zur eigentlichen Kernfrage unserer Untersuchung: **Auf welchen Effekten beruht die auffallende Erhöhung der Reaktivität der terminalen Phosphatgruppe in dieser speziellen Komplex-Struktur?**

Wir haben nun den Einfluss von Metallionen wie Cu^{2+} auf den Reaktionsablauf (1) einmal von seinen strukturellen Voraussetzungen her (Abschnitt 2) und zum anderen von der Struktur seines Folgeproduktes aus zurückverfolgt (Abschnitt 3), um die entscheidenden Zwischenstufen der Metallionen-katalysierten ATP-Hydrolyse mit einiger Sicherheit zu identifizieren (Abschnitt 4).

2. Kinetische Untersuchungen. – 2.1. *Metallionen-katalysierte Hydrolyse von Methyltriphosphat (MTP^{4-}).* MTP^{4-} ($\equiv \text{CH}_3\text{-O-PO}_2^-\text{-O-PO}_2^-\text{-O-PO}_3^{2-}$) verhält sich in bezug auf seine Hydrolysegeschwindigkeit im ganzen untersuchten pH-Bereich (Fig. 3) praktisch gleich wie ATP^{4-} . An sich denkbare (vgl. z. B. [12]) Nachbarschaftseffekte von Ribose- oder Adenin-Gruppe spielen also für die Reaktivität der terminalen P-O-P-Bindung auch im freien ATP offenbar keine Rolle. Im Gegensatz hierzu wirkt sich die Überführung der beiden Triphosphat-Ester MTP^{4-} und ATP^{4-} in die betreffenden Cu^{2+} -Komplexe auf die Reaktivität sehr verschieden aus: im Gegensatz zu $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ – in welchem die Hydrolysegeschwindigkeit bei pH 5–6 um einen Faktor 530 gegenüber der des freien Liganden erhöht ist – wird die Hydrolyse von MTP^{4-} im Cu^{2+} -Komplex nur 10fach beschleunigt (siehe Tabelle). Da hinsichtlich Stabilität [10] und Art der – im IR.-Spektrum erkennbaren – Cu^{2+} -Phosphat-Koordination (siehe Fig. 2) $\text{Cu}^{2+}\text{-MTP}^{4-}$ und $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ sich praktisch identisch verhalten, muss dieser Unterschied um einen Faktor 53 tatsächlich davon herrühren, dass im

⁹⁾ Es ist z. B. zu zeigen, dass die grössere Reaktivität von $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ nicht einfach mit seiner höheren Stabilität, sondern wirklich mit seiner speziellen Struktur zusammenhängt (vgl. z. B. [11]), was – in etwas anderer Form – auch von TETAS & LOWENSTEIN [3] schon vermutet wurde.

$\text{Cu}^{2+}\text{-MTP}^{4-}$ die oben genannte makrocyclische Chelatstruktur des $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ nicht vorliegt (andere $\text{Me}^{2+}\text{-MTP}^{4-}$ -Komplexe siehe Tabelle).

2.2. *Metallionen-katalysierte Hydrolyse von Inosintriposphat*. Beim Inosintriposphat (III, ITP) wird durch Ausbildung von $\text{Cu}^{2+}\text{-ITP}^{4-}$ die hydrolytische Spaltung

Beschleunigung der Hydrolyse von ATP^{4-} , ITP^{4-} und MTP^{4-} durch Komplexbildung mit zweiwertigen Metallionen.

(Fett gedruckte Zahlen: Relative Geschwindigkeit in bezug auf freien Triphosphatester; Zahlen in Klammern: Geschwindigkeitskonstanten erster Ordnung k [10^{-4} min^{-1}]. [ATP^{4-}], [ITP^{4-}] bzw. [MTP^{4-}] = 10^{-3} M , [Me^{2+}] = $2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$; bei den angegebenen pH-Werten ist jeweils $\text{Me}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ usw. annähernd vollständig ausgebildet; $t = 50^\circ$)

	–	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Mn^{2+}	Co^{2+}	Ni^{2+}	Cu^{2+}	Zn^{2+}
ATP^{4-}	1 (0,30)	4,5 (1,35)	7,5 (2,21)	3,5 (1,04)	3,2 (0,96)	4,5 (1,35)	530 (158)	16 (4,85)
ITP^{4-}	1 (0,21)	–	–	7,5 (1,60)	4,8 (1,00)	3,2 (0,67)	60 (12,7)	8,1 (1,70)
MTP^{4-}	1 (0,28)	2,5 (0,70)	8,9 (2,40)	6,0 (1,67)	3,6 (1,00)	3,2 (0,90)	10 (2,95)	4,7 (1,32)
pH ca.	8,0–8,4	6,7–6,9	6,7–6,9	6,6–6,8	6,6–6,8	6,6–6,8	5,3–5,5	6,2–6,4

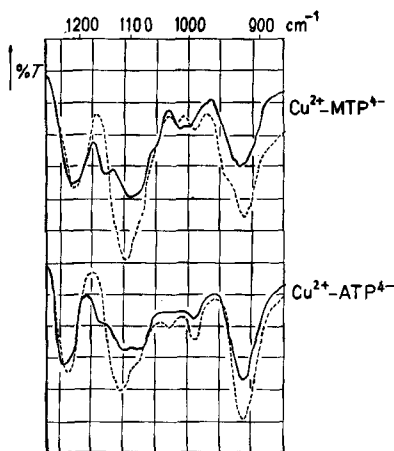


Fig. 2. Veränderungen der IR.-Spektren von MTP^{4-} und ATP^{4-} bei der Komplexbildung mit Cu^{2+} ([MTP^{4-}], [ATP^{4-}] und [Cu^{2+}] je $0,13 \text{ M}$; Messung in $27\text{-}\mu\text{-IR-TRAN}$ -Zellen, im Gebiet von ca. 1300 bis 850 cm^{-1} in H_2O ; von ca. 1100 bis 850 cm^{-1} in D_2O ; 25°)

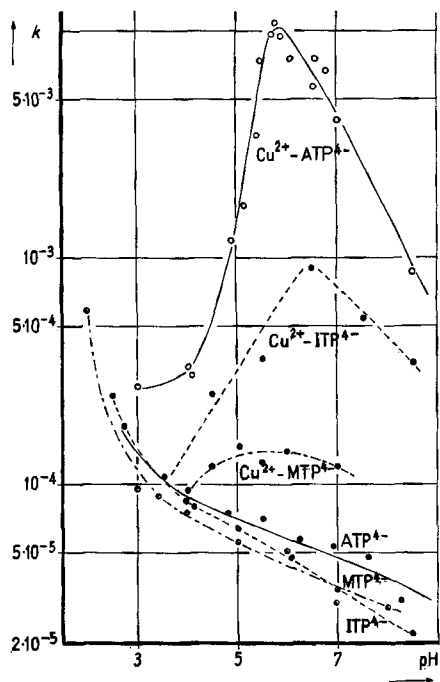
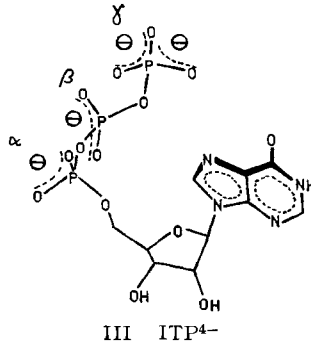


Fig. 3. Hydrolysegeschwindigkeiten von ATP^{4-} , ITP^{4-} und MTP^{4-} und ihrer Cu^{2+} -Komplexe in Abhängigkeit vom pH ([ATP^{4-}] = 10^{-3} M , [ITP^{4-}] und [MTP^{4-}] ebenso, [Cu^{2+}] = $1,1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$; 50°)

60fach gegenüber freiem Ligand beschleunigt, also – obgleich etwas mehr als im Cu^{2+} -MTP $^{4-}$ – weit weniger als im Cu^{2+} -ATP $^{4-}$ (andere Metallionen siehe Tabelle). Die spezielle Art der Koordination von Cu^{2+} an das Adenin-Ringsystem des ATP (siehe II) ist also offenbar ein entscheidender Faktor der Cu^{2+} -katalysierten ATP-Hydrolyse (dies wird in Abschnitt 4.2 noch genauer diskutiert); das Ausbleiben der grossen Reaktivitätserhöhung im Cu^{2+} -Komplex ist nicht etwa durch das Fehlen der Ribosegruppe im MTP verursacht.



2.3. Ergänzende Untersuchungen zur Cu^{2+} -katalysierten ATP-Hydrolyse. – 2.3.1. Einfluss der Cu^{2+} -Konzentration. Um eine maximale Geschwindigkeit der Cu^{2+} -katalysierten ATP-Hydrolyse zu erzielen, muss Cu^{2+} im Überschuss gegenüber ATP $^{4-}$ zugegeben werden (Fig. 4; vgl. auch [3]). Interpretations-Möglichkeiten¹⁰⁾:

a) Ein für die Hydrolysegeschwindigkeit massgeblicher 2:1-Komplex $(\text{Cu}^{2+})_2\text{-ATP}^{4-}$ ¹¹⁾ könnte nach $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-} + \text{Cu}^{2+} \rightleftharpoons (\text{Cu}^{2+})_2\text{-ATP}^{4-}$ durch einen Cu^{2+} -Überschuss gebildet werden;

b) in einem Gleichgewicht $\text{Cu}^{2+}\text{-(ATP}^{4-})_2 + \text{Cu}^{2+} \rightleftharpoons 2 \text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ könnte durch Cu^{2+} -Überschuss die Bildung von nicht-reaktivem 1:2-Komplex auf Kosten des für die Hydrolysegeschwindigkeit massgeblichen 1:1-Komplexes $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ verhindert werden.

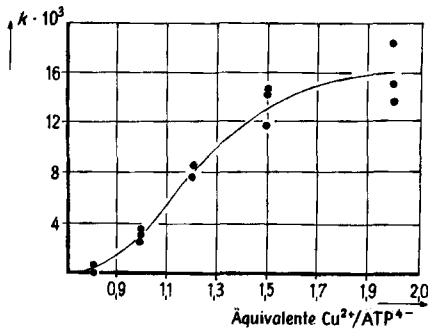


Fig. 4. Beschleunigung der ATP $^{4-}$ -Hydrolyse durch Cu^{2+} in Abhängigkeit von dessen Konzentration ($[\text{ATP}^{4-}] = 10^{-8}\text{M}$; 50°)

¹⁰⁾ $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ ist so stabil [6] [7], dass eine Zurückdrängung seiner Dissoziation zu $\text{Cu}^{2+} + \text{ATP}^{4-}$ durch einen Cu^{2+} -Überschuss dessen Wirkung nicht erklären kann.

¹¹⁾ Dies stünde nicht im Widerspruch zu der in Abschnitt 1.1 angegebenen pH-Abhängigkeit der Cu^{2+} -katalysierten ATP-Hydrolyse, da $[(\text{Cu}^{2+})_2\text{-ATP}^{4-}]$ ja zu $[\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}]$ proportional ist (vgl. ⁵⁾).

2.3.2. *Zusammensetzung der reaktiven Komplexpartikel* (Methode der kontinuierlichen Variation nach JOB [13]). Die Frage, ob ein 2:1- oder ein 1:1-Komplex die reaktive Partikel der Cu^{2+} -katalysierten ATP-Hydrolyse ist, lässt sich mit Hilfe einer «JOB-Reihe» entscheiden, wenn als Ordinate die Geschwindigkeit der katalysierten Reaktion gewählt wird (Fig. 5). Es zeigt sich dann, dass die Reaktionsgeschwindigkeit ein Maximum bei einem Cu^{2+} - ATP^{4-} -Verhältnis von nahezu 1:1 erreicht. Der Cu^{2+} -Überschuss (Fig. 4) maximiert also die Reaktionsgeschwindigkeit der ATP-Hydrolyse tatsächlich dadurch, dass die Ausbildung von Cu^{2+} - $(\text{ATP}^{4-})_2$ zurückgedrängt wird (vgl. Abschnitt 2.3.1). Dies lässt sich in Fig. 5 auch daran erkennen, dass die Geschwindigkeit im Bereich von Ligand-Überschuss viel geringer ist, als wenn nur 1:1-Komplex in der Lösung vorhanden wäre. Für die Bildung des nicht-reaktiven 1:2-Komplexes lässt sich hieraus abschätzen¹²⁾:

$$[\text{Cu}^{2+}(\text{ATP}^{4-})_2]/[\text{Cu}^{2+}\text{ATP}^{4-}][\text{ATP}^{4-}] \approx 4 \cdot 10^4.$$

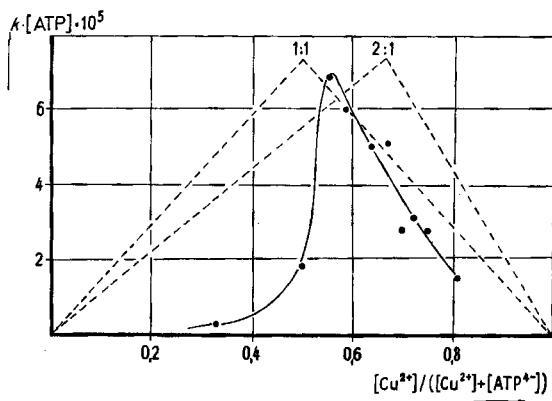


Fig. 5. *Ermittlung der Zusammensetzung des reaktiven Komplexes nach der Methode der kontinuierlichen Variation (die unterbrochenen Linien stellen den theoretisch zu erwartenden Verlauf für 1:1- bzw. 2:1-Komplex als reaktiver Partikel dar)*

$$([\text{ATP}^{4-}] + [\text{Cu}^{2+}] = 8,6 \cdot 10^{-3} \text{ M}; \text{pH } 5; 50^\circ)$$

2.3.3. *Einfluss der Ionenstärke*. Veränderung der Ionenstärke von $2,5 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ bis 1 M durch Zusatz von NaClO_4 ist praktisch ohne Einfluss auf die Geschwindigkeit der Hydrolyse von Cu^{2+} - ATP^{4-} (siehe Fig. 6). Am geschwindigkeitsbestimmenden Reaktionsschritt kann also ausser Cu^{2+} - ATP^{4-} höchstens¹³⁾ noch die ungeladene Partikel H_2O beteiligt sein. Wäre nämlich der geschwindigkeitsbestimmende Schritt eine Reaktion von OH^- mit diesem Komplex, so müsste sich wegen $\log k/k_0 = z_1 z_2 \sqrt{I}$

¹²⁾ Eine entsprechende Reaktion ist auch für Cu^{2+} -Komplexe von Diphosphat bekannt [14] mit $[\text{Cu}^{2+}(\text{L}^{4-})_2]/[\text{Cu}^{2+}\text{L}^{4-}][\text{L}^{4-}] = 3,95 \cdot 10^4$. Um bei unseren kinetischen Messungen nicht in das gegen kleine Veränderungen des Verhältnisses von zugesetztem ATP und Metallion sehr empfindliche Äquivalenz-Gebiet zu geraten, haben wir die Messungen in Abschnitt 2.1, 2.2, 2.3.3 und 2.3.4 mit Metallionen-Überschuss durchgeführt.

¹³⁾ Über die Bedeutung von in Cu^{2+} - ATP^{4-} koordinativ gebundenem H_2O und von $\text{S}_{\text{N}}1$ - und $\text{S}_{\text{N}}2$ Mechanismen bei der Spaltung der P-O-P-Bindung vgl. Abschnitt 4.2.

über diesen Bereich der Ionenstärke die Reaktionsgeschwindigkeit um einen Faktor von mindestens¹⁴⁾ 10 verändern [15].

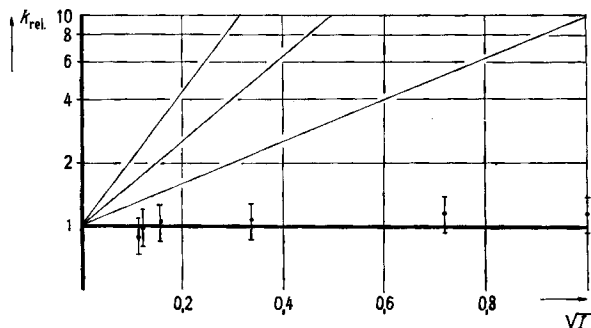


Fig. 6. Hydrolysegeschwindigkeit von $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ in Abhängigkeit von der Ionenstärke ($[\text{ATP}^{4-}] = 10^{-3}\text{M}$; pH 6; $[\text{Cu}^{2+}] = 1,2 \cdot 10^{-3}\text{M}$; Ionenstärke durch Zusatz von NaClO_4 eingestellt; 50°)

2.3.4. Einfluss der $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ -Konzentration. Die für die Reaktion erster Ordnung $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-} \rightarrow \text{Cu}^{2+}\text{-ADP}^{3-} + \text{HPO}_4^{2-}$ berechnete Geschwindigkeitskonstante ist um so höher, je grösser die Ausgangskonzentration $[\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}]$ ist (siehe Fig. 7)¹⁵⁾. Dieser Effekt wird in Abschnitt 4.2.1 diskutiert.

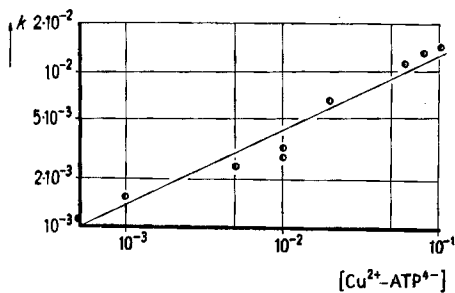


Fig. 7. Hydrolysegeschwindigkeit (Geschwindigkeitskonstante erster Ordnung [min^{-1}]) in Abhängigkeit von der Ausgangskonzentration $[\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}]$ ($[\text{Cu}^{2+}]/[\text{ATP}^{4-}] = \text{konst} = 1,1$; pH 5; 50°)

3. Struktur-Untersuchungen. – 3.1. *d-d*-Absorptionsbande von Cu^{2+} .* Während der hydrolytischen Spaltung von $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ ändert sich die *d-d**-Absorptionsbande des komplexgebundenen Cu^{2+} auffallend (Fig. 8). Das Maximum verschiebt sich von ca. 800 auf ca. 750 $\text{m}\mu$, wobei ϵ von 30,5 auf 46,2 steigt. Die Extinktionszunahme bei 760 $\text{m}\mu$ ist hierbei völlig synchron zur Abspaltung der terminalen Phosphatgruppe (Fig. 9).

¹⁴⁾ Je nachdem welchen Wert für die effektive Ladung der Phosphatkette in $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ wir als z_2 einsetzen.

¹⁵⁾ Um den Vergleich verschiedener Messungen nicht durch einen solchen Konzentrationseffekt zu verfälschen, wurden alle bisher besprochenen Messungen bei ATP- bzw. ITP- oder MTP-Konzentrationen von 10^{-3}M durchgeführt.

3.2. *Rotationsdispersion*. Noch auffallender ist eine die hydrolytische Spaltung von $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ begleitende Veränderung der Rotationsdispersion (Fig. 10): Der mit der Absorption des Adeninrings bei $260\text{ m}\mu$ verbundene COTTON-Effekt kehrt hierbei sein Vorzeichen um, so dass – wiederum völlig synchron zur Abspaltung der terminalen Phosphatgruppe (siehe Fig. 9) – die ursprünglich negative Drehung positiv wird. Die

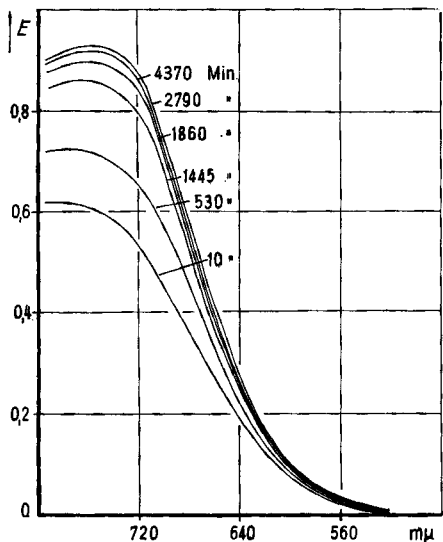


Fig. 8. Extinktionszunahme und kurzweilige Verschiebung der $\text{Cu}^{2+}\text{-d-d}^*$ -Bande beim Übergang $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-} \rightarrow \text{Cu}^{2+}\text{-ADP}^{3-} + \text{H}_2\text{PO}_4^-$ ($[\text{ATP}^{4-}] = [\text{Cu}^{2+}] = 2 \cdot 10^{-2}\text{ M}$; pH 6,0–5,7; 25°)

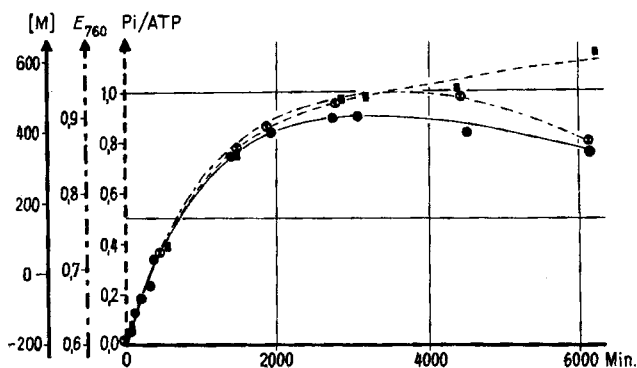


Fig. 9. Zeitlicher Verlauf von Extinktionszunahme bei $760\text{ m}\mu$, Drehungsänderung bei $546\text{ m}\mu$ und Phosphatfreisetzung bei der Hydrolyse von $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ (Bedingungen wie in Fig. 8)

graphische Auswertung von Fig. 10 nach der DRUDE-Gleichung (vgl. [16]) zeigt, dass die Wellenlänge der Null-Drehung hierbei mit $\lambda_0 = 260\text{ m}\mu$ unverändert bleibt (Fig. 11).

3.3. *Zusammensetzung des rechtsdrehenden Komplexes*. Die beim hydrolytischen Abbau des linksdrehenden $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ entstehende rechtsdrehende Partikel muss ein Cu^{2+} -Komplex von ADP^{3-} sein: auch durch Zugabe von Cu^{2+} zum – ebenfalls linksdrehenden – ADP^{3-} entsteht ein Komplex mit positiver Drehung. Diese positive

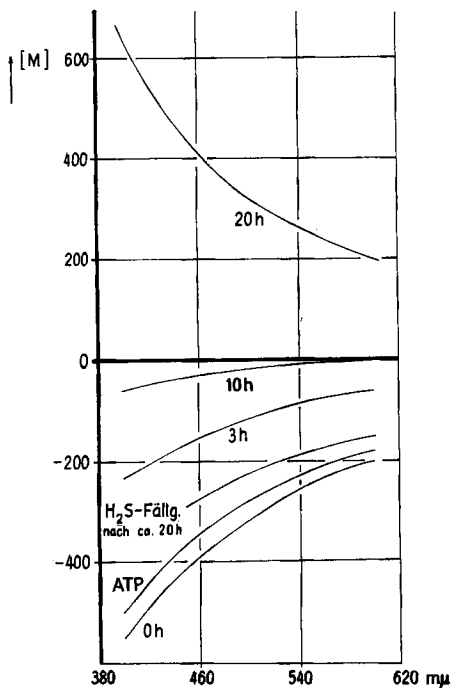


Fig. 10. Änderung der Rotationsdispersion bei der Hydrolyse von $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ ($[\text{ATP}^{4-}] = [\text{Cu}^{2+}] = 5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$; 25°)
 Zum Vergleich: Rotationsdispersionen von ATP^{4-} und einer Lösung, aus welcher Cu^{2+} nach ca. 20 Std. mit H_2S ausgefällt wurde

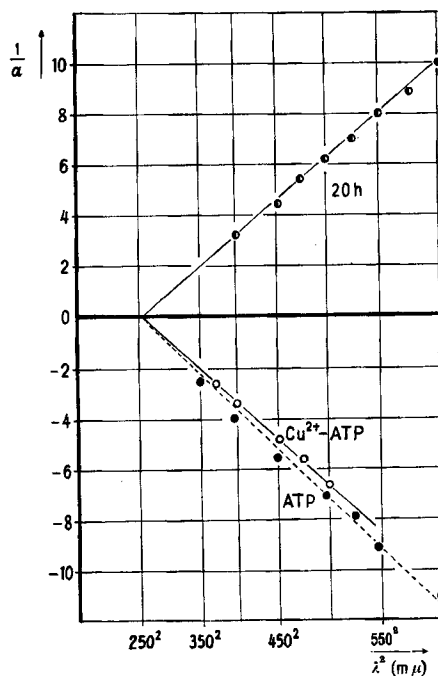


Fig. 11. Auswertung der Rotationsdispersionskurven aus Fig. 10 nach der DRUDE-Gleichung

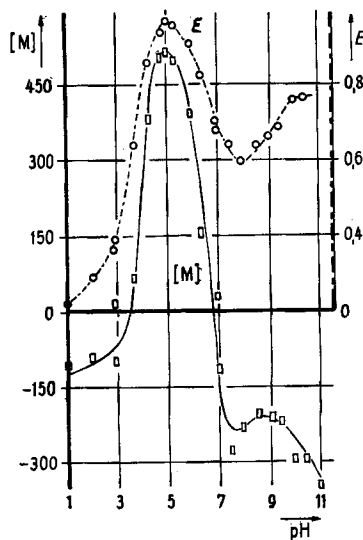


Fig. 12. Molare Drehung von $\text{Cu}^{2+}\text{-ADP}^{3-}$ bei $546 \text{ m}\mu$ in Abhängigkeit vom pH ($[\text{ADP}^{3-}] = 2 \cdot 10^{-2} \text{ M}$, $[\text{Cu}^{2+}]$ ebenso; 25°)
 Zum Vergleich: Extinktion der gleichen Lösungen bei $760 \text{ m}\mu$ (unterbrochene Linie; 1-cm-Küvetten)

Drehung zeigt ein Maximum bei pH ca. 5 und fällt mit Halbwerts-pH von 4,0 bzw. 6,5 nach der sauren und alkalischen Seite ab (Fig. 12); sie zeigt weiter ein positives Maximum bei einem Cu^{2+} - ADP^{3-} -Verhältnis von 1:1 (Fig. 13). Die Zusammensetzung der rechtsdrehenden Partikel muss also Cu^{2+} - ADP^{3-} sein. Im Cu^{2+} - ADPH^{2-} und im Cu^{2+} - ADP^{3-} - OH^- tritt wieder die normale Linksdrehung des freien Liganden auf.

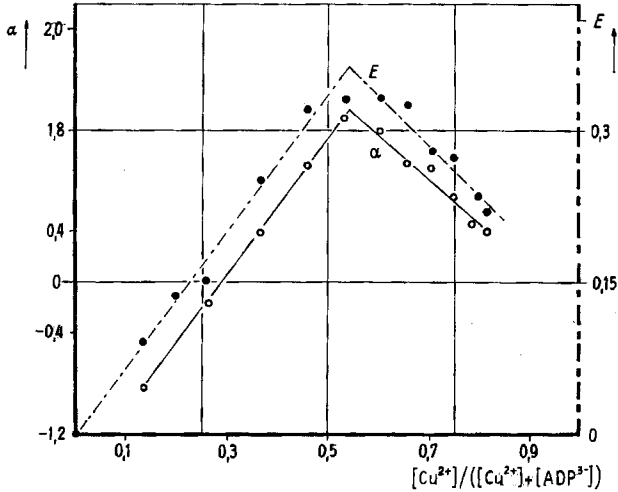


Fig. 13. Ermittlung der Zusammensetzung der rechtsdrehenden Komplexpartikel nach der Methode der kontinuierlichen Variation ($[\text{ADP}^{3-}] + [\text{Cu}^{2+}] = 1.5 \cdot 10^{-2} \text{ M}$; pH 4)

Zum Vergleich: Extinktion der gleichen Lösungen bei $760 \text{ m}\mu$ (unterbrochene Linie; 1-cm-Küvetten)

Die Extinktionserhöhung bei $760 \text{ m}\mu$ geht in Fig. 12 wie in Fig. 13 der Drehungsänderung parallel; also beruht auch dieser Effekt auf der Ausbildung der Partikel Cu^{2+} - ADP^{3-} .

Die Drehungsänderung des ADP^{3-} bei der Komplexbildung mit Cu^{2+} ist im übrigen nicht mit irreversiblen Änderungen der Ligandstruktur verbunden: Wird Cu^{2+} aus Lösungen von Cu^{2+} - ADP^{3-} z. B. mittels H_2S ausgefällt, so zeigt die zurückbleibende Lösung von ADP^{3-} wieder den ursprünglichen negativen Wert $[\text{M}]_{546} = -192^\circ$ (siehe auch Fig. 10).

3.4. Komplexbildung von IDP^{3-} mit Cu^{2+} . Keine Änderung des Drehwertes bei $546 \text{ m}\mu$; entsprechend ändert sich auch bei der Hydrolyse von Cu^{2+} - ITP^{4-} der Drehwert nicht.

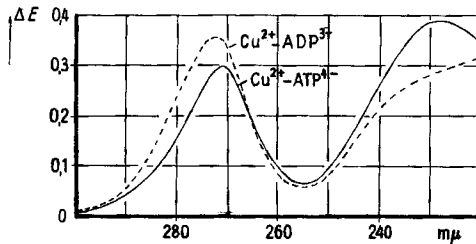


Fig. 14. UV.-Differenzspektren von Cu^{2+} - ADP^{3-} gegen Cu^{2+} und ADP^{3-} (unterbrochene Linie), und von Cu^{2+} - ATP^{4-} gegen Cu^{2+} und ATP^{4-} (durchgezogene Linie)

($[\text{ATP}^{4-}] = [\text{ADP}^{3-}] = 2 \cdot 10^{-4} \text{ M}$; $[\text{Cu}^{2+}] = 3 \cdot 10^{-4} \text{ M}$; 1-cm-Küvetten; 25°)

3.5. *Bindung des Cu^{2+} im $\text{Cu}^{2+}\text{-ADP}^{3-}$.* Die Bindung des Cu^{2+} an den Adeninring des ATP^{4-} wird durch ein charakteristisches Differenz-Spektrum von $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ gegen ATP^{4-} und Cu^{2+} angezeigt (Fig. 14) [10]. Das Differenz-Spektrum von $\text{Cu}^{2+}\text{-ADP}^{3-}$ gegen ADP^{3-} und Cu^{2+} deckt sich nun mit jenem praktisch völlig (Fig. 14). Auch bei $\text{Cu}^{2+}\text{-ADP}^{3-}$ muss also Cu^{2+} in der überwiegenden Mehrzahl der Molekeln an den Adeninring gebunden sein.

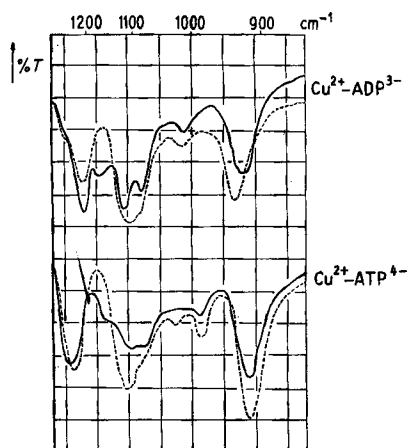


Fig. 15. Veränderungen der IR-Spektren von ADP^{3-} und ATP^{4-} bei der Komplexbildung mit Cu^{2+} (Bedingungen wie in Fig. 2)

Im IR-Spektrum wirkt sich die Komplexbildung mit Cu^{2+} beim ADP^{3-} ebenfalls praktisch gleich aus wie beim ATP^{4-} [9] (Fig. 15): Die Triplet-Aufspaltung der antisymmetrischen Schwingungen der terminalen $-\text{PO}_3^{2-}$ -Gruppe ist beim $\text{Cu}^{2+}\text{-ADP}^{3-}$ eher noch etwas ausgeprägter als im $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ (Fig. 15). Auch die terminale Phosphatgruppe des ADP^{3-} muss mithin in praktisch allen $\text{Cu}^{2+}\text{-ADP}^{3-}$ -Molekeln direkt am Cu^{2+} -Zentralion koordiniert sein.

4. **Diskussion.** – 4.1. *Struktur von $\text{Cu}^{2+}\text{-ADP}^{3-}$ und $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$* ¹⁶⁾. In beiden Komplexen ist Cu^{2+} am Adeninring des Liganden koordiniert (vgl. Abschnitt 3.5), und zwar – um der Störung durch die 6-Aminogruppe möglichst auszuweichen [10] – mit seiner tetragonalen Koordinationsebene quer zum heteroaromatischen Ring (II). Wenn man berücksichtigt, dass die Koordination der terminalen Phosphatgruppe beim $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ in *trans*-Stellung zum N(7) des Adeninrings (IV)¹⁷⁾, beim $\text{Cu}^{2+}\text{-ADP}^{3-}$ hingegen aus sterischen Gründen in *cis*-Stellung zu diesem erfolgt (V)¹⁷⁾, so ergibt sich eine konsequente Interpretation sämtlicher optischer Daten:

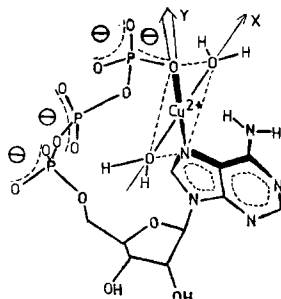
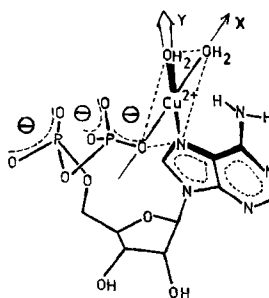
a) Im $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ kann – da γ -Phosphatgruppe und Cu^{2+} in die Ebene des Adeninrings zu liegen kommen – die Symmetrie des magnetischen Übergangsdipols der 260-m μ -Absorption im ATP^{4-} durch die Komplexbildung nicht verändert sein \Rightarrow *Keine Veränderung der optischen Aktivität von ATP^{4-} bei der Komplexbildung mit Cu^{2+}* (Abschnitt 3.2).

¹⁶⁾ Die folgenden Ausführungen beziehen sich jeweils auf die Struktur der Mehrzahl der betreffenden Komplexmolekeln.

¹⁷⁾ An Kalottenmodellen lässt sich zeigen, dass die $-\text{PO}_3^{2-}$ -Gruppe des ADP^{3-} eindeutig nur in *cis* zu N(7) koordiniert sein kann. Die *trans*-Koordinierung der $-\text{PO}_3^{2-}$ -Gruppe des ATP^{4-} ergibt sich zwangsläufig, wenn dessen Triphosphatkette starr gestreckt ist.

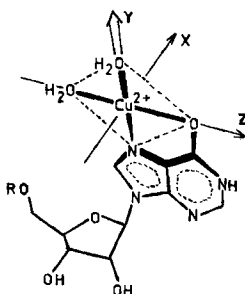
b) Im Cu^{2+} - ADP^{3-} hingegen müssen infolge der lateralen Koordination der β -Phosphatgruppe die Seiten A und B des Ringes ungleichwertig werden. Damit ist die entscheidende Voraussetzung für eine Änderung des magnetischen Übergangsdipols der 260- μ -Bande gegeben \Rightarrow *Veränderung der optischen Aktivität von ADP^{3-} bei der Komplexbildung mit Cu^{2+}* (Abschnitt 3.2, 3.3).

c) $-\text{PO}_3^{2-}$ -Sauerstoff wie auch N(7) bewirken ein stärkeres Ligandfeld am Cu^{2+} als Wasser-Sauerstoff¹⁸⁾. Das Ligandfeld des Cu^{2+} in IV (Cu^{2+} - ATP^{4-}) ist mithin annähernd zentrosymmetrisch (D_{2h}), in V (Cu^{2+} - ADP^{3-}) hingegen ist dessen Symmetrie auf C_{2v} erniedrigt \Rightarrow *Erhöhung der Intensität und kurzzeitige Verschiebung der d-d*-*

IV Cu^{2+} - ATP^{4-} V Cu^{2+} - ADP^{3-}

Absorptionsbande des Cu^{2+} -Zentralions beim Übergang Cu^{2+} - $\text{ATP}^{4-} \rightarrow \text{Cu}^{2+}$ - ADP^{3-} ¹⁹⁾ (Abschnitt 3.1).

d) In den Inosin-Nucleotiden bietet der Hypoxanthinring dem Cu^{2+} – im Gegensatz zum Adeninring – zwei Koordinationsstellen an, nämlich O(6) und N(7)²⁰⁾ (VI). Hierdurch kommen die vier bevorzugten Koordinationsstellen von Cu^{2+} bei der – wahrscheinlich recht stabilen²¹⁾ – Koordination an den Hypoxanthinring mit diesem in eine gemeinsame Ebene zu liegen (VI). Sowohl im Cu^{2+} - ITP^{4-} wie im Cu^{2+} - IDP^{3-}



VI

¹⁸⁾ Dies ergibt sich unter anderem daraus, dass sie H_2O aus der Koordinationssphäre des Cu^{2+} zu verdrängen vermögen.

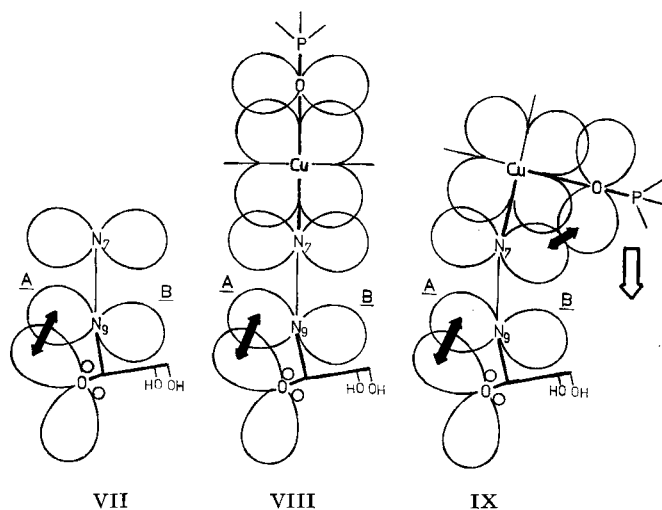
¹⁹⁾ Dass die Intensität von $d-d^*$ -Übergängen direkt mit der Asymmetrie des Ligandfeldes verknüpft ist, ist theoretisch zu fordern (siehe z. B. [17]) und experimentell belegt [18].

²⁰⁾ Sowohl O(6) wie N(7) sind Träger negativer Ladung und dadurch geeignete Haftstellen für die Ausbildung eines Chelat-Fünfringes.

²¹⁾ Zur Stabilität von Inosin-Komplexen siehe [19].

kann die Koordination der terminalen Phosphatgruppe nur symmetrisch in bezug auf die Ringebene sein \Rightarrow Keine Veränderung der optischen Aktivität von ITP^{4-} und IDP^{3-} bei der Komplexbildung mit Cu^{2+} (Abschnitt 3.4).

Für die Art der Auswirkung der ungleichen Besetzung von A- und B-Seiten des Adeninrings im Cu^{2+} -ADP $^{3-}$ auf dessen optische Aktivität kann man folgende vereinfachende Anschauung vorschlagen: In Adenin-Nucleotiden liegt die C–N-Glykosid-Bindung nicht in der Ebene des aromatischen Ringes [20] (siehe Schema VII). Die «schräge» Lage der C–N-Glykosidbindung zeigt an, dass Ring-Sauerstoff und C(2') des Riboserings verschieden mit dem am N(9) befindlichen Anteil des Adenin- π -Elektronensystems interagieren. Hierdurch muss dem π -System ein gewisser Anteil eines «schrägen» p_z -Orbitals von N(9) beigemischt sein (VII). Da sich beim π - π^* -Übergang bei 260 $m\mu$ die Elektronendichte am N(9) verändert²²⁾, erhält dieser Übergang zu seinem grossen elektrischen Übergangsdipol²²⁾ einen – die Rotationsdispersion der freien Adenin-Nucleotide verursachenden – magnetischen Übergangsdipol. Ein Beleg für die Brauchbarkeit eines solchen einfachen Bildes, welches nur den Unterschied der Wechselwirkung von O und C(2') mit dem Adenin- π -System berücksichtigt, kann in der Tatsache gesehen werden, dass 2'-Desoxyadenosin gleiche, α -Anomere von Adenosin und Desoxyadenosin hingegen entgegengesetzte optische Drehung zeigen wie Adenosin [22].



Koordination von Cu^{2+} am N(7) und Eintritt der γ -Phosphatgruppe des ATP^{4-} in *trans* zu diesem (VIII) kann an diesen Verhältnissen nichts ändern. Tritt die β -Phosphatgruppe des ADP^{3-} jedoch in *cis* zu N(7) in die Koordinationsebene des Cu^{2+} ein, so kann: a) entweder durch Verdrehung oder Verbiegung der C–N-Glykosidbindung die gegenseitige Anordnung von Adenin- und Ribose-Ring gestört, oder b) durch elektronische Wechselwirkungen verschiedener Art auch am N(7) eine «schräge» Lage des p_z -Orbitals hervorgerufen werden (z. B. IX), wodurch in jedem Fall eine Veränderung der optischen Aktivität eintreten muss.

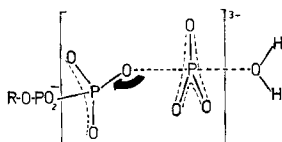
4.2. Mechanismen. – 4.2.1. Voraussetzungen. Ist die beobachtete Korrelation zwischen Reaktivität des Triphosphat-Komplexes und optisch anomalem Verhalten des entsprechenden Diphosphat-Komplexes²³⁾ signifikant, so ist offenbar die Ein-

²²⁾ Zur Elektronenverteilung angeregter Zustände des Adenin-Systems siehe z. B. [21].

²³⁾ Diese Korrelation besteht ausser in bezug auf pH und Art des Triphosphatesters auch in bezug auf die Art des Metallions. Ferner nimmt auch die Drehung von Hg^{2+} -ADP $^{3-}$ bei pH 6–7 positive Werte an, im gleichen pH-Bereich tritt ein Maximum der Hydrolysegeschwindigkeit von Hg^{2+} -ATP $^{4-}$ auf.

stellung der Koordinationsebene des Cu^{2+} quer zum heteroaromatischen Ring und die räumliche Nachbarschaft von Cu^{2+} und β -Phosphatgruppe sterische Voraussetzung auch für die Labilisierung der terminalen P-O-P-Bindung.

Zur Identifizierung des Mechanismus dieser Labilisierung gehen wir davon aus, dass die hydrolytische Spaltung nach $\text{PO}_2^- - \text{O} - \text{PO}_3^{2-}$ erfolgt: Laut Isotopenversuchen tritt H_2^{18}O bei der Hydrolyse von $\text{Cu}^{2+} - \text{ATP}^{4-}$ in die γ -Phosphatgruppe ein²⁴⁾. Im Übergangszustand muss also jedenfalls²⁵⁾ die γ -Phosphatgruppe in einen «flachen», sich der sp^2 - bzw. sp^3d -Hybridisierung nähernden Bindungszustand gebracht werden (X)²⁶⁾.



X

4.2.2. *Koordination der β -Phosphatgruppe des ATP an das Cu^{2+} -Ion.* Damit ein einseitiger Elektronenzug in der richtigen Richtung (siehe X) zustande kommt, müsste Cu^{2+} in der reaktiven Partikel an die β - PO_2^- -Gruppe koordiniert sein ohne gleichzeitige Chelatbindung zur γ -Phosphatgruppe. Eine solche Anordnung ist im $\text{Cu}^{2+} - \text{MTP}^{4-}$ viel weniger wahrscheinlich²⁷⁾ als im $\text{Cu}^{2+} - \text{ATP}^{4-}$. Hier ist durch die räumliche Nachbarschaft von Cu^{2+} und β - PO_2^- -Gruppe die Koordination der letzteren an die *cis*-Koordinationsstelle sterisch begünstigt²⁸⁾, analog zur Koordination der β - PO_3^{2-} -Gruppe im $\text{Cu}^{2+} - \text{ADP}^{3-}$. Auf diese Weise würde im geschwindigkeitsbestimmenden Schritt $\text{Cu}^{2+} - \text{ADP}^{3-}$ direkt in seiner energetisch günstigsten Form entstehen – was sicherlich die Aktivierungsenergie dieses Schrittes weiterhin vermindern dürfte.

4.2.3. *Protonübertragung von Cu^{2+} aq. auf die β - PO_2^- -Gruppe des ATP^{4-} .* Im $\text{Cu}^{2+} - \text{ATP}^{4-}$ -Komplex der Struktur IV befinden sich die stark acidifizierten Hydratwasser-Molekeln des Cu^{2+} nahe an der β - PO_2^- -Gruppe, so dass eine Protonenübertragung auf letztere stark begünstigt sein muss. Weiter ist – ausser durch die Nähe des Cu^{2+} -Ions²⁹⁾ – auch durch die Nachbarschaft des organischen Ligandteils die Dielektrizitätskonstante in der Umgebung der $-\text{PO}_2^-$ -Gruppe sicherlich stark erniedrigt.

²⁴⁾ Vgl. S. 1837. Damit wird z. B. die Erleichterung einer nucleophilen Substitution der β -Phosphatgruppe durch das in den *cis*-Koordinationsstellen gebundene Wasser als Katalyse-Mechanismus ausgeschlossen.

²⁵⁾ Gleichgültig, ob die Reaktion nun nach $\text{S}_{\text{N}}1$ oder $\text{S}_{\text{N}}2$ (siehe z. B. [23]) abläuft.

²⁶⁾ Im geschwindigkeitsbestimmenden Schritt muss von der angreifenden H_2O -Molekel ein Proton abgegeben werden. Möglicherweise beruht die in Abschnitt 2.3.4 besprochene Abhängigkeit der Hydrolysegeschwindigkeit von der Anfangskonzentration $[\text{Cu}^{2+} - \text{ATP}^{4-}]$ darauf, dass jeweils eine zweite Komplexmolekel eine solche Basenkatalyse bewirkt.

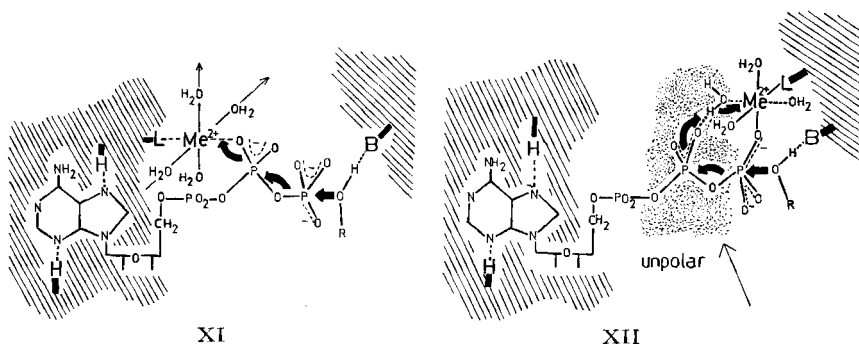
²⁷⁾ Die $-\text{PO}_3^{2-}$ -Gruppe ist viel basischer als die $-\text{PO}_2^-$ -Gruppe und vermag das hydratisierte Metallion auch durch Wasserstoffbindungen zu fixieren (vgl. I).

²⁸⁾ Der Ausbildungsgrad einer solchen Anordnung müsste so gross sein, dass zwar katalytische Effekte ausgelöst werden, das optische Verhalten des Komplexes durch die laterale Koordination der β - PO_2^- -Gruppe jedoch noch nicht messbar beeinflusst wird.

²⁹⁾ Zum Einfluss zweiwertiger Metallionen auf die Dielektrizitätskonstante der wässrigen Umgebung siehe [24].

Das fördert aber zusätzlich die mit dem Protonenübergang $(\text{Cu-O-H})^{2+} \text{---} \text{O=P} \rightarrow (\text{Cu-O-H})^+ \text{---} \text{O=P}$ verbundene Ladungsneutralisierung (vgl. z. B. [25]), so dass im $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ (IV) die Ausbildung einer selektiv an der $\beta\text{-PO}_2^-$ -Gruppe protonierten Partikel und damit eine entscheidende Verstärkung der einseitigen Elektronenverteilung entsprechend X begünstigt sind.

4.3. *Zusammenhänge mit enzymatischen Mechanismen der ATP^{4-} -Aktivierung.* Wie wir gezeigt haben, ist entscheidend für die Erhöhung der Reaktivität der terminalen Phosphatgruppe im ATP^{4-} die Anlagerung einer sauren Partikel – Metallion oder Proton – selektiv an die $\beta\text{-PO}_2^-$ -Gruppe. Dass die saure Partikel nicht an die stärker basische Haftstelle -PO_3^{2-} , sondern an die viel schwächere Base -PO_2^- gebunden wird, muss durch eine Art Chelatwirkung herbeigeführt werden: Es muss direkt neben der $\beta\text{-PO}_2^-$ -Gruppe eine zusätzliche Haftstelle für die saure Partikel vorhanden sein. Diese Fixierung der sauren Partikel in sterisch günstiger Anordnung zur -PO_2^- -Gruppe – in der nicht-enzymatischen Reaktion übernimmt sie beim Cu^{2+} , und nur bei diesem, der Adeninring – kann bei enzymatischen Reaktionen ein anderer Hilfsligand³⁰⁾ bewirken, etwa nach folgenden Schemata für das aktive Zentrum eines ATP^{4-} -umsetzenden Enzyms:



Eine selektive Protonierung der $\beta\text{-PO}_2^-$ -Gruppe käme in XII dadurch zustande, dass diese – ähnlich wie im $\text{Cu}^{2+}\text{-ATP}^{4-}$ – in einen Bereich niedriger Dielektrizitätskonstante gezogen wird, wobei das an $\gamma\text{-PO}_3^{2-}$ -Gruppe und Hilfsligand koordinierte Metallion gleichzeitig die Phosphatkette in dieser Lage verankert. Dass $\text{Me}^{2+}\text{---O-H}$ hierbei als BRÖNSTED-Säure fungiert³¹⁾, würde zugleich erklären, dass oft Mg^{2+} als Aktivator enzymatischer ATP^{4-} -Reaktionen durch zweiwertige 3 d-Metallionen, nicht aber durch Ca^{2+} ersetzt werden kann: Mg^{2+} , Mn^{2+} u. a. m. sind wesentlich stärkere Säuren als Ca^{2+} ³¹⁾.

Herrn Professor H. ERLNMEYER sind wir für sein in vielfältigen Anregungen und Diskussionen erzeugtes Interesse an unseren Untersuchungen zu grossem Dank verbunden.

³⁰⁾ Dieser Hilfsligand kann hier nicht – wie der Adeninring im ATP – eine Selektivität für stark komplexbildende Metallionen wie z. B. Cu^{2+} haben, sondern muss insbesondere auch schwach komplexbildende Ionen wie Mg^{2+} und Mn^{2+} binden; so würde die Bevorzugung dieser Ionen als Aktivatoren enzymatischer ATP^{4-} -Reaktionen (siehe z. B. [26]) verständlich.

³¹⁾ Zur Wirkung hydratisierter Metallionen als BRÖNSTED-Säuren vgl. auch [27].

Beim Zustandekommen der vorliegenden Arbeit haben sich die Herren stud. chem. A. WIEBER und U. GIGER, Frl. E. DALLE CARBONARE, Frl. M. SILBER, Frau E. SCHNEIDER und vor allem Frl. M. DÜRSTELER verdient gemacht. Die Messungen der Rotationsdispersion verdanken wir Herrn Dr. F. BURKHARDT, Fa. HOFFMANN-LA ROCHE, Basel, und die leihweise Überlassung eines Polarimeters dem Physikalisch-Chemischen Institut der Universität Basel. Wertvolle Ratschläge bei der Abfassung des Manuskriptes verdanken wir den Herren Dres. B. PRIJS und G. WAGNIÈRE. Dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG gilt auch an dieser Stelle unser besonderer Dank für die Unterstützung unserer Arbeiten.

5. Experimentelles. – 5.1. *Reagenzien:* Na_3ADP , Na_2HIDP , Na_3HITP und Metallperchlorate, FLUKA A.G., Buchs; Metallchloride E. MERCK, Darmstadt; $\text{Na}_2\text{H}_2\text{ATP}$ SIGMA CHEM. Co., St. Louis, USA. Darstellung von MTP siehe [10].

5.2. *Kinetische Messungen.* Lösungen der Triphosphatester wurden unter den jeweils angegebenen Bedingungen bei $50^\circ \pm 0,2^\circ$ inkubiert. Nach verschiedenen Zeiten wurden Proben zur Phosphatbestimmung entnommen: $5 \cdot 10^{-5}$ bis maximal $5 \cdot 10^{-4}$ mMol Phosphat enthaltende Probe + 0,5 ml HClO_4 65-proz. + 4,0 ml Aceton + 2 ml Molybdatreagenz (2,5 g $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$, $4\text{H}_2\text{O}$ + 0,8 ml HClO_4 65-proz. + 1 l H_2O), mit Wasser auf 10 ml aufgefüllt und bei 320 m μ gegen eine entsprechende Lösung ohne Phosphat gemessen [28]. Unter diesen Bedingungen sind die Triphosphatester relativ stabil, ihre Konzentration in der Messlösung darf jedoch nicht höher als 10^{-4}M sein, da sonst der Phosphomolybdat-Komplex nicht mehr vollständig ausgebildet wird. Den Reaktionslösungen wurden keine Puffer zugesetzt; die Phosphatfreisetzung wurde deshalb im allgemeinen nur bis ca. 0,5 Mol HPO_4^{2-} /Mol Triphosphatester zur Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten ausgewertet, pH-Veränderungen waren so $< 0,2$.

5.3. *Optische Messungen.* UV.-Differenzspektren wie in [10]. IR.-Spektren wie in [9]. Messung der optischen Drehung bei der 546-m μ -Hg-Linie in 40-cm- bzw. 10-cm-Küvetten (visueller Abgleich).

SUMMARY

The rate of hydrolysis of ATP metal ion complexes – as well as the sign of optical rotation of the resulting ADP complexes – are shown to result from special steric arrangements of metal ion, adenine ring and phosphate groups in the respective nucleotide complexes. It is concluded that catalytic – and possibly also enzymatic – enhancement of reactivity of ATP depends on the selective coordination of either a metal ion or a proton to the $\beta\text{-PO}_2^-$ group. Such selective coordination – *versus* the concurrent coordination to the more basic terminal -PO_3^{2-} group – is brought about by the occurrence of an additional ligand in juxtaposition to the $\beta\text{-PO}_2^-$ group, providing a kind of chelate effect in favour of the complex isomer in which the terminal P–O–P bond is labilized.

Institut für Anorganische Chemie
der Universität Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] C. LIÉBECQ & JACQUEMOTTE-LOUIS, Bull. Soc. chim. biol. *40*, 67, 759 (1958); C. LIÉBECQ, *ibid.* *41*, 1181 (1959).
- [2] D. LIPKIN, R. MARKHAM & W. H. COOK, J. Amer. chem. Soc. *81*, 6075 (1959).
- [3] M. TETAS & J. M. LOWENSTEIN, Biochemistry *2*, 350 (1963).
- [4] P. W. SCHNEIDER, H. BRINTZINGER & H. ERLÉNMEYER, Experientia *19*, 623 (1963).
- [5] H. BRINTZINGER, Helv. *44*, 1199 (1961).
- [6] U. HANDSCHIN & H. BRINTZINGER, Helv. *45*, 1037 (1962).
- [7] M. M. TAQUI KHAN & A. E. MARTELL, J. Amer. chem. Soc. *84*, 3037 (1962); J. phys. Chem. *66*, 10 (1962).
- [8] M. COHN & T. R. HUGHES JR., J. biol. Chemistry *237*, 176 (1962).
- [9] H. BRINTZINGER, Biochim. biophys. Acta *77*, 343 (1963).
- [10] P. W. SCHNEIDER, H. BRINTZINGER & H. ERLÉNMEYER, Helv. *47*, 992 (1964).

- [11] H. KROLL, *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 2036 (1952); R. J. P. WILLIAMS, *Biol. Rev. Cambridge philos. Soc.* **28**, 381 (1953); J. M. WHITE, R. A. MANNING & N. C. LI, *J. Amer. chem. Soc.* **78**, 2367 (1956). Siehe auch F. P. DWYER, in *Chelating Agents and Metal Chelates*, New York 1964.
- [12] M. L. BENDER & J. M. LAWLOR, *J. Amer. chem. Soc.* **85**, 3010 (1963); D. M. DROWN & D. A. USHER, *Proc. chem. Soc.* **1963**, 309.
- [13] P. JOB, *C. r. hebd. Séances Acad. Sci.* **196**, 181 (1933). Siehe auch H. L. SCHLÄFER, *Komplexbildung in Lösung*, Berlin 1961.
- [14] O. E. SCHUPP III, P. E. STURROCK & J. I. WATTERS, *Inorg. Chemistry* **2**, 106 (1963).
- [15] E. A. MOELWYN-HUGHES, *The Kinetics of Reactions in Solution*, 2nd Ed., Oxford 1947.
- [16] P. DRUDE, *Lehrbuch der Optik*, Leipzig 1906; siehe auch C. DJERASSI, *Optical Rotatory Dispersion*, New York 1960.
- [17] J. S. GRIFFITH, *The Theory of Transition Metal Ions*, Cambridge 1961.
- [18] R. L. BELFORD & W. A. YERANOS, *Molecular Physics* **6**, 121 (1963).
- [19] A. ALBERT, *Biochem. J.* **54**, 646 (1953).
- [20] J. KRAUT & L. H. JENSSEN, *Acta crystallogr.* **16**, 79 (1963).
- [21] H. BERTHOD & A. PULLMAN, *C. r. hebd. Séances Acad. Sci.* **257**, 2738 (1963); H. DE VOE & I. TINOCO JR., *J. molecular Biology* **4**, 500, 518 (1962).
- [22] T. L. V. ULBRICHT, J. P. JENNINGS, P. M. SCOPES & W. KLYNE, *Tetrahedron Letters* **73**, 695 (1964).
- [23] C. A. BUNTON, D. R. LLEWELLYN, K. G. OLDHAM & C. A. VERNON, *J. chem. Soc.* **1958**, 3574.
- [24] G. SCHWARZENBACH & W. SCHNEIDER, *Helv.* **38**, 1931 (1955).
- [25] F. CRAMER, *Angew. Chem.* **73**, 49 (1961).
- [26] H. BRINTZINGER & S. FALLAB, *Helv.* **43**, 43 (1960).
- [27] R. P. BELL, *Acid-Base Catalysis*, Oxford 1941; A. WELLER & H. LEONHARDT, *Naturwiss.* **47**, 58 (1960).
- [28] A. A. HIRATA & D. APPLEMAN, *Analyt. Chemistry* **37**, 2097 (1959).

188. Optische Messung der Kinetik von simultaner Diffusion und chemischer Reaktion 1. Ordnung in planparallelen Platten

von A. van Tets und Hs. H. Günthard

(8. VII. 64)

1. Einleitung. – Es sind mehrere Verfahren bekannt, welche die Bestimmung des Diffusionskoeffizienten aus Messungen der Diffusion von Substanzen in planparallelen Platten bzw. Filmen erlauben [1]¹⁾. Wir beschrieben kürzlich eine optische Methode [2] zur Bestimmung von Grenzflächen- und Massen-Diffusionskoeffizienten. Bei der Anwendung derselben auf die Diffusion in Kunststoffolien traten Abweichungen von dem einfachen Modell der idealen Diffusion in planparallelen Schichten auf, die Veranlassung zur Untersuchung eines allgemeineren Modells gaben, in welches ein mit der Diffusion simultan verlaufender Zerfall 1. Ordnung der diffundierenden Substanz einbezogen wurde. Das Problem der Bestimmung der wichtigen Konstanten dieses Systems ist schon unter vereinfachenden Voraussetzungen recht verwickelt, und wir geben in dieser Arbeit einige approximative Lösungen dieser Aufgabe an.

¹⁾ Die Zahlen in eckigen Klammern verweisen auf das Literaturverzeichnis, S. 1742.