

## 143. Über Struktur und Aktivität der den $\text{H}_2\text{O}_2$ -Zerfall katalysierenden $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexe

### IV<sup>1a</sup>). Katalatisches und peroxydatisches Verhalten von $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexen mit Adenin-Nucleotiden und DNA

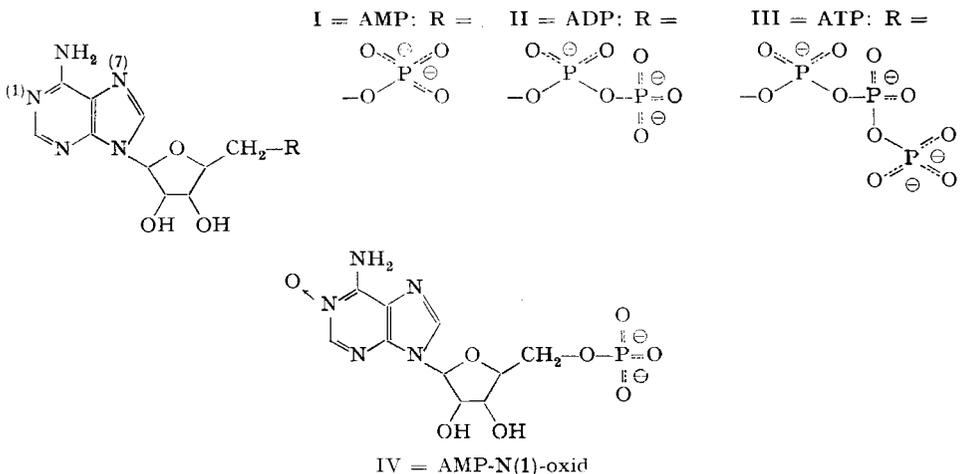
Metallionen und  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 7. Mitteilung<sup>1b</sup>)

von H. Sigel und H. Erlenmeyer

(19. III. 66)

**1. Problemstellung.** –  $\text{Cu}^{2+}$ -Ligand-Systeme katalysieren, wie wir gezeigt haben, den  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Zerfall unter der Voraussetzung, dass am  $\text{Cu}^{2+}$  noch «freie» Koordinationsstellen vorhanden sind, so dass ein ternärer Komplex – wohl mit  $\text{HOO}^-$  [2] – gebildet werden kann [3] [4]. Wie unsere Untersuchungen am  $\text{Cu}^{2+}$ -Polymyxin-B-Komplex zeigten, können neben der katalatischen [1] im gleichen System auch peroxydatische Reaktionen [5] unter Abbau bzw. Umwandlung des Liganden erfolgen<sup>2</sup>).

Um wenigstens in einem bestimmten Fall eine Vorstellung über das Verhältnis zwischen katalatischer und peroxydatischer Aktivität – d. h. Zerfall des  $\text{H}_2\text{O}_2$  bzw. «Zerstörung» des Liganden durch  $\text{H}_2\text{O}_2$  – zu erhalten, wählten wir für unsere Untersuchungen die Adenin-Nucleotide AMP, ADP und ATP<sup>3</sup>) (I–III), die komplexchemisch gut untersucht sind [7] [8] [9]. So ist bekannt, dass diese drei Adenin-Nucleotide  $\text{Cu}^{2+}$  einmal über ihre Phosphatgruppen binden, daneben ist für ADP [10] und ATP [7] [10] gezeigt worden – dieser Befund ist hier wichtig –, dass das  $\text{Cu}^{2+}$



<sup>1a</sup>) III = [1].      <sup>1b</sup>) 6. Mitteilung: [2].

<sup>2</sup>) Vgl. auch Fussnote 11 in [4]; ausserdem ist bekannt, dass z. B. Aminosäuren in Gegenwart von  $\text{Cu}^{2+}$  durch  $\text{H}_2\text{O}_2$  in alkalischem Milieu zu den entsprechenden Ketosäuren oxydiert werden [6].

<sup>3</sup>) AMP = Adenosin-5'-monophosphat; ADP = Adenosin-5'-diphosphat; ATP = Adenosin-5'-triphosphat; AMP-N(1)-oxid = Adenosin-5'-monophosphat-N(1)-oxid; DNA-Desoxyribonucleinsäure.

auch noch koordinativ an den Adeninring gebunden ist. Das Verhalten dieser biochemisch essentiellen Substanzen gegenüber  $\text{H}_2\text{O}_2$  ist, abgesehen von der oben genannten Problemstellung, auch allgemein von Interesse [11].

Neben den  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexen der Adenin-Nucleotide I–III wurden zum Vergleich diejenigen von Orthophosphat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), Pyrophosphat ( $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ ) und AMP-N(1)-oxid (IV)<sup>3)</sup> – das  $\text{Cu}^{2+}$  ist hier über die *o*-Amino-N(1)-oxid-Gruppe gebunden [8] – untersucht. Ebenfalls mit einbezogen wurde das  $\text{Cu}^{2+}$ -DNA-System<sup>3)</sup>.

**2. Ausgeführte Messungen.** – 2.1. Die Ausbildung von ternären Komplexen wurde am Verlauf der Extinktion bei 360 nm in Abhängigkeit vom pH verfolgt (vgl. [3] [4])<sup>4)</sup>.

2.2. Als Mass für die katalatische Aktivität diente wiederum [3] [4] die Anfangsgeschwindigkeitskonstante  $k$  des  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Zerfalls pseudo-erster Ordnung in bezug auf  $\text{H}_2\text{O}_2$ , ebenfalls in Abhängigkeit vom pH ( $k = (2,30/t) \cdot \log([\text{H}_2\text{O}_2]_0/[\text{H}_2\text{O}_2]_t)$ ).

2.3. Das Ausmass der «Zerstörung» – d. h. die peroxydatische Aktivität – lässt sich an der Abnahme der Adenin-Absorptionsbande bei 258 nm verfolgen.

**3. Ergebnisse.** – 3.1. Die bei 360 nm erhaltenen «Extinktionskurven» [1] [3] [4], die die Ausbildung der ternären  $\text{Cu}^{2+}$ -Peroxo-Komplexe anzeigen, sind in Fig. 1 dargestellt. Die Kurven der drei Adenin-Nucleotid-Komplexe sind praktisch identisch, es wurde daher in Fig. 1 nur diejenige des  $\text{Cu}^{2+}$ -ATP-Komplexes (■) dargestellt. Die Werte für alle drei Nucleotid-Komplexe sind in Tabelle 1 wiedergegeben.

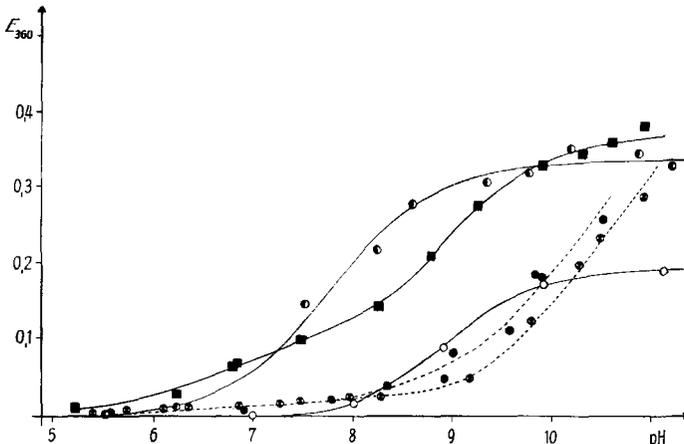


Fig. 1. Ausbildung ternärer Peroxo-Komplexe in  $\text{H}_2\text{O}_2$ -haltigem Milieu ( $8 \cdot 10^{-3}$  M), gemessen an der Extinktionszunahme bei 360 nm (1-cm-Quarzküvetten) in Abhängigkeit vom pH für die  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexe ( $4 \cdot 10^{-4}$  M) von ATP (■), DNA (●)<sup>5)</sup> AMP-N(1)-oxid (○) (durchgezogene Linien)  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$  (●) und  $\text{PO}_4^{3-}$  (⊙) (punktirierte Linien).

Auffallend ist der fast gleiche Verlauf der «Extinktionskurven» (Fig. 1) der ternären  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexe von Phosphat und Pyrophosphat, im Gegensatz zu den unterschiedlichen «Aktivitätskurven» (Fig. 2) dieser beiden Phosphate.

4) Die  $\text{HOO}^-$ -Konzentration beträgt im gesamten untersuchten pH-Bereich immer das ca. 1,2-fache der jeweiligen  $\text{OH}^-$ -Konzentration [4].

5) Die  $\text{Cu}^{2+}$ -Konzentration in diesem System war wie in allen anderen Messlösungen  $4 \cdot 10^{-4}$  M, die Lösung war 0,04-proz. an DNA, d. h. auf ein  $\text{Cu}^{2+}$  kommen ca. 2,5 Nucleotid-Einheiten.

Tabelle 1. *Ausbildung ternärer Peroxokomplexe der Cu<sup>2+</sup>-Komplexe (4 · 10<sup>-4</sup>M) von AMP, ADP und ATP in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-haltigem Milieu, gemessen an der Extinktionszunahme bei 360 nm (1-cm-Quarzküvetten) in Abhängigkeit vom pH*

AMP		ADP		ATP	
pH	E <sub>360</sub>	pH	E <sub>360</sub>	pH	E <sub>360</sub>
5,18	0,013	5,49	0,009	5,23	0,013
6,01	0,010	6,75	0,040	6,24	0,028
6,91	0,039	7,42	0,060	6,73	0,068
7,20	0,069	7,95	0,080	6,82	0,070
7,80	0,139	8,17	0,150	7,51	0,100
8,16	0,179	8,55	0,180	8,25	0,146
8,88	0,274	9,17	0,260	8,80	0,215
9,81	0,369	9,56	0,314	9,25	0,279
10,60	0,401	10,04	0,374	9,90	0,337
11,10	0,419	10,40	0,379	10,32	0,349
		10,70	0,404	10,62	0,369
		10,78	0,409	10,90	0,393

3.2. Die katalatische Aktivität der drei Cu<sup>2+</sup>-Adenin-Nucleotid-Komplexe ist fast dieselbe – sie liegt ab pH > 8,8 zwischen derjenigen der Cu<sup>2+</sup>-Phosphat- und Cu<sup>2+</sup>-Pyrophosphat-Komplexe<sup>6)</sup> –, in Fig. 2 wurde deshalb der besseren Übersicht wegen

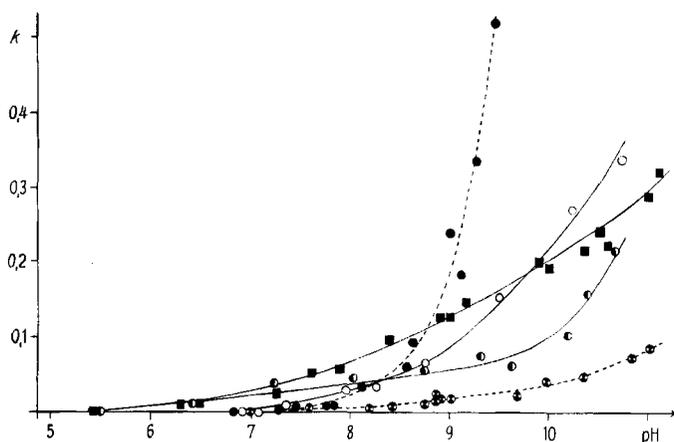


Fig. 2. *Katalatische Aktivität<sup>7)</sup>, bestimmt als Anfangsgeschwindigkeitskonstante k des H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Zerfalls, gemessen als Reaktion pseudo-erster Ordnung in bezug auf H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (8 · 10<sup>-3</sup>M) in Abhängigkeit vom pH für die Cu<sup>2+</sup>-Komplexe (4 · 10<sup>-4</sup>M) von ATP (■), DNA (●)<sup>6)</sup>, AMP-N(1)-oxid (○) (durchgezogene Linien), P<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>4-</sup> (●) und PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (⊙) (punktierte Linien).*

<sup>6)</sup> Der etwas steilere Verlauf der «Aktivitätskurve» des Cu<sup>2+</sup>-Pyrophosphat-Komplexes in Fig. 1, verglichen mit der in [3] dargestellten, rührt von dem kleineren H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Überschuss in unseren Versuchen (20-fach bezogen auf die Komplexkonzentration; in [3] 50-fach) her, d. h. das Verhältnis zwischen Substrat und Katalysator ist günstiger, weshalb der Umsatz etwas schneller erfolgt.

<sup>7)</sup> Aus den «Aktivitätskurven» von Fig. 2 ergibt sich die tatsächliche katalatische Aktivität mittels folgender Korrektur: Gemessene Geschwindigkeit der H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Abnahme minus peroxydatische Aktivität = tatsächliche katalatische Aktivität. Da aber die peroxydatische Aktivität – besonders bei höheren pH – verhältnismässig klein ist, geben die Kurven und Werte von Fig. 2 bzw. Tabelle 2 im wesentlichen die katalatische Aktivität wieder, jedenfalls ab pH > 8,5.

Tabelle 2. *Katalatische Aktivität*<sup>7)</sup>, bestimmt als Anfangsgeschwindigkeitskonstante  $k$  des  $H_2O_2$ -Zerfalls, gemessen als Reaktion pseudo-erster Ordnung in bezug auf  $H_2O_2$  ( $8 \cdot 10^{-3} M$ ) in Abhängigkeit vom pH für die  $Cu^{2+}$ -Komplexe ( $4 \cdot 10^{-4} M$ ) von AMP, ADP und ATP (I–III)

AMP		ADP		ATP	
pH	$k$	pH	$k$	pH	$k$
5,71	0,004	5,59	0,004	5,50	0,004
6,76	0,013	6,71	0,026	6,30	0,010
6,90	0,020	7,21	0,028	6,49	0,010
7,07	0,019	7,31	0,052	7,24	0,027
7,46	0,028	7,87	0,083	7,60	0,055
7,80	0,039	8,24	0,105	7,87	0,058
8,66	0,075	8,51	0,101	8,40	0,098
8,90	0,105	8,83	0,114	8,82	0,130
9,20	0,114	9,40	0,142	8,90	0,130
9,79	0,151	9,96	0,154	9,15	0,160
9,85	0,150	9,97	0,156	9,92	0,199
10,19	0,159	10,43	0,179	10,00	0,192
10,78	0,247	10,98	0,251	10,35	0,215
11,07	0,335			10,54	0,240
				10,62	0,219
				11,00	0,287
				11,13	0,319

wiederum nur die «Aktivitätskurve» [1] des  $Cu^{2+}$ -Komplexes von ATP (III) (■) dargestellt. Die Werte der Anfangsgeschwindigkeitskonstanten  $k$  aller drei Komplexe sind in Tabelle 2 angegeben<sup>7)</sup>.

Im pH-Gebiet  $> 10$  wird die katalatische Aktivität des  $Cu^{2+}$ -AMP-N(1)-oxid-Komplexes<sup>8)</sup> etwas grösser als die der drei Nucleotid-Komplexe, wogegen das  $Cu^{2+}$ -DNA-System<sup>5)</sup> im gesamten untersuchten pH-Bereich etwas weniger aktiv ist.

3.3. *Peroxydatische Aktivität*: Aus der Abnahme der Extinktion bei 258 nm wurde bei den  $Cu^{2+}$ -Komplexen der Adenin-Nucleotide I–III in Abhängigkeit vom pH die «scheinbare»<sup>9)</sup> Anfangsgeschwindigkeitskonstante  $k'$  pseudo-erster Ordnung in bezug auf die «Zerstörung» des Adeninringsystems nach  $k' = (2,30/t) \cdot \log(E_0/E_t)$  berechnet.

Fig. 3 ( $k'$  in Abhängigkeit vom pH) zeigt, dass die «Zerstörung» des Adeninringes durch  $H_2O_2$  in Gegenwart von  $Cu^{2+}$  beim ATP am stärksten, beim AMP am schwächsten ist. Der  $Cu^{2+}$ -AMP-N(1)-oxid-Komplex ist peroxydatisch ebenfalls aktiv; die «Zerstörung» des Adenin-N(1)-oxid-Systems wurde mittels der Abnahme der Extinktion bei 272 nm (vgl. [8]) verfolgt (Fig. 3).

DNA zeigt im UV.-Spektrum ebenfalls ein Maximum (258 nm) [13], so dass eine eventuelle «Zerstörung» der Nucleotid-Basen in Gegenwart von  $Cu^{2+}$  und  $H_2O_2$  eben-

<sup>8)</sup> Vergleichsuntersuchungen mit dem  $Cu^{2+}$ -Komplex von 2-Aminopyridin-N(1)-oxid [12] konnten nicht durchgeführt werden, da Niederschläge auftraten.

<sup>9)</sup> «Scheinbar» deshalb, weil wir nichts über die Extinktion der Zerstörungsprodukte aussagen können, die jeweils von der gemessenen Extinktion abgezogen werden sollte; die Übereinstimmung der einzelnen Werte von  $k'$  zu verschiedenen Zeiten war allerdings recht gut, was auf einen kleinen Extinktionskoeffizienten der Zerstörungsprodukte hindeutet, so dass unsere «scheinbare» Geschwindigkeitskonstante der «wahren» wohl sehr nahe kommt. – Durch dreimalige Zugabe eines 20fachen  $H_2O_2$ -Überschusses wird die Extinktion bis auf ca. 20% ihrer ursprünglichen Grösse gesenkt.

falls gemessen werden könnte. Wie aus Fig. 3 ersichtlich ist, tritt unter unseren Versuchsbedingungen keine Extinktionsabnahme ein, d. h. die Nucleotid-Basen dieses katalatisch aktiven Systems werden offenbar nicht in Mitleidenschaft gezogen<sup>19)</sup>.

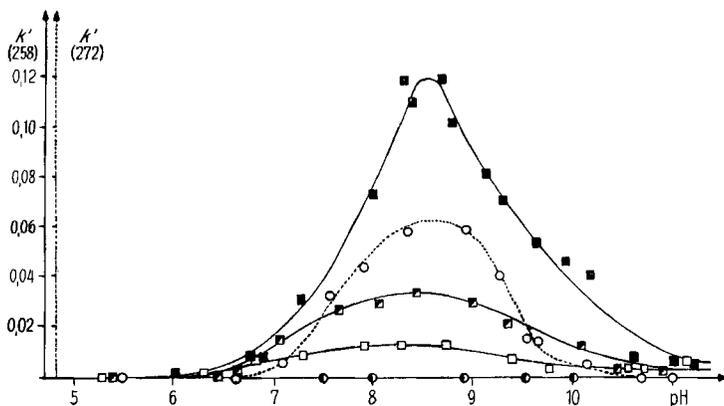


Fig. 3. Peroxydatische Aktivität ( $\text{H}_2\text{O}_2$   $8 \cdot 10^{-3}$  M), bestimmt als Anfangsgeschwindigkeitskonstante  $k'$  der «Zerstörung» des Adeninringes, gemessen als Reaktion pseudo-erster Ordnung in bezug auf die Ligandkonzentration in Abhängigkeit vom pH für die  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexe ( $4 \cdot 10^{-4}$  M) von ATP (■), ADP (□), AMP (◻), DNA (●) (durchgezogene Linien; gemessen bei 258 nm) und AMP-N(1)-oxid (○) (punktirierte Linie; gemessen bei 272 nm) (1-mm-Quarz-Küvetten).

**4. Diskussion.** – Da die Stabilitäten der  $\text{Cu}^{2+}$ -1:1-Komplexe hier wesentlich sind, haben wir die Konzentration an komplex gebundenem  $\text{Cu}^{2+}$  in Abhängigkeit vom pH unter unseren Versuchsbedingungen für die Adenin-Nucleotide und für AMP-N(1)-oxid berechnet (s. Tab. 3).

Tabelle 3. Konzentration an komplex gebundenem  $\text{Cu}^{2+}$  in % (bezogen auf  $[\text{Cu}^{2+}]_{\text{tot}} = 4 \cdot 10^{-4}$  M) in den  $\text{Cu}^{2+}$ -Ligand-1:1-Systemen von ATP, ADP, AMP und AMP-N(1)-oxid (I–IV) bei pH 7, 8 und 10, sowie die zugehörigen Aciditäts- und Stabilitätskonstanten

Ligand	%komplex gebundenes $\text{Cu}^{2+}$ bei			$\text{p}K_{\text{HL}}^{\text{H}}$	$\log K_{\text{MeL}}^{\text{Mc}}$	Lit. a)
	pH 7	pH 8	pH 10			
ATP	96,0	96,5	96,5	6,47	6,30	[7]
ADP	93,9	94,5	94,6	6,44	5,90	[15]
AMP	23,0	24,8	25,0	6,14	3,04	[8]
AMP-N(1)-oxid	97,0	99,0	99,9	12,49	11,87	[8]

a) Der angegebenen Literatur wurden die Konstanten für die Berechnung entnommen.

**4.1. Vergleich der katalatischen und peroxydatischen Aktivität:** Die katalatische Aktivität ist im gesamten untersuchten pH-Gebiet bei einem bestimmten pH für alle

<sup>19)</sup> Nach BERNEIS *et al.* [13] ändert sich (in Metall-freiem Milieu) unter dem Einfluss von  $\text{H}_2\text{O}_2$  bzw.  $\text{H}_2\text{O}_2$ -erzeugenden Methylhydrazinen zwar die Viskosität von DNA-Lösungen, d. h. es werden kleinere Bruchstücke gebildet, die Doppelhelixstruktur der DNA bleibt jedoch – nach spektrophotometrischen Untersuchungen – im wesentlichen erhalten. Mit diesen Beobachtungen stimmt auch der Befund von SCHWEITZ & LUZZATI [14] überein, wonach  $\text{H}_2\text{O}_2$  die Zucker-Basen-Bindungen zerstört.

drei  $\text{Cu}^{2+}$ -Adenin-Nucleotid-Komplexe jeweils ungefähr gleich (Fig. 2/Tab. 2)<sup>11)</sup>, die des  $\text{Cu}^{2+}$ -AMP-N(1)-oxid-Komplexes und des  $\text{Cu}^{2+}$ -DNA-Systems ist fast bei allen untersuchten pH etwas geringer (Fig. 2), nimmt jedoch überall mit steigendem pH zu.

Im Gegensatz hierzu (vgl. Fig. 2 und 3) fällt bei der peroxydatischen Aktivität auf:

1. Die «Zerstörung» des Adeninringes weist bei den drei  $\text{Cu}^{2+}$ -Adenin-Nucleotid-Komplexen, ebenso beim  $\text{Cu}^{2+}$ -AMP-N(1)-oxid-Komplex bei pH 8,5 ein Maximum auf.
2. In den drei  $\text{Cu}^{2+}$ -Adenin-Nucleotid-Komplexen bzw. beim  $\text{Cu}^{2+}$ -AMP-N(1)-oxid-Komplex wird der Adeninring «zerstört», im  $\text{Cu}^{2+}$ -DNA-System bleiben jedoch die Nucleotid-Basen intakt.

4.1.1. Die peroxydatische Aktivität geht der katalatischen nicht parallel. Die «Zerstörung» des Adenringes erfolgt also wohl im wesentlichen nicht durch Folgeprodukte des katalatischen  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Zerfalls; sie hat offenbar zur Voraussetzung, dass der Adeninring komplex gebunden ist, die «Zerstörungs»-Reaktion also in der Koordinationssphäre des Metall-Ions abläuft und nicht durch freie Radikale erfolgt. Da auch die katalatische Reaktion sich in einem Komplexverband abspielt [4] [1], ist zu vermuten, dass abhängig von äusseren Faktoren, die sich auf die Struktur des Komplexes auswirken, entweder eine katalatische oder eine peroxydatische Reaktion eintritt (vgl. 4.2.).

Im Falle der  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexe von ATP und AMP-N(1)-oxid sind bis pH 8,5 die Geschwindigkeiten von  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Verbrauch (Fig. 2/Tab. 2) und Zerstörung des Adeninsystems (Fig. 3) ungefähr gleich gross, d. h. praktisch die gesamte  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Abnahme rührt bei pH < 8,5 von der peroxydatischen Aktivität her<sup>7)</sup>, und erst oberhalb pH 8,5 setzt die katalatische Aktivität ein.

4.1.2. Wie schon erwähnt, liegen bei den  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexen des ATP und ADP in wässriger Lösung im Gleichgewicht mit reinen Phosphatkomplexen auch noch komplexe Partikel vor, bei denen das Metall-Ion auch noch am Adeninring – wahrschein-

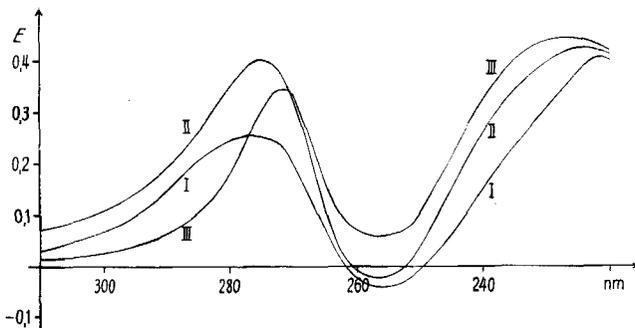


Fig. 4. UV-Differenzspektren [7] [10] von  $\text{Cu}^{2+}$ -AMP<sup>2-</sup> gegen  $\text{Cu}^{2+}$  und AMP<sup>2-</sup> (I) und zum Vergleich von  $\text{Cu}^{2+}$ -ATP<sup>4-</sup> gegen  $\text{Cu}^{2+}$  und ATP<sup>4-</sup> (III), sowie von  $\text{Cu}^{2+}$ -ADP<sup>3-</sup> gegen  $\text{Cu}^{2+}$  und ADP<sup>3-</sup> (II) ( $[\text{AMP}^{2-}] = [\text{ATP}^{4-}] = [\text{ADP}^{3-}] = [\text{Cu}^{2+}] = 2 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ; 1-cm-Quarz-Küvetten) (vgl. auch [7] [10]).

<sup>11)</sup> Die «Extinktionskurven» der drei  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexe verlaufen ebenfalls gleich; dies ist ertaunlich, da sich im  $\text{Cu}^{2+}$ -AMP-System ca. 75% «freies»  $\text{Cu}^{2+}$  befindet, so dass eigentlich ein sehr viel steilerer Anstieg der zugehörigen «Extinktionskurve» zu erwarten wäre (vgl. [4], Fig. 1 b). Möglicherweise rührt die Nivellierung von einer Metall-Ribose-Wechselwirkung (bei höheren pH) her [16].

lich am N(7) – koordiniert ist [7] [10] [17]. Der Adeninkern befindet sich also innerhalb der Koordinationssphäre des Metall-Ions (dasselbe gilt für den  $\text{Cu}^{2+}$ -AMP-N(1)-oxid-Komplex [8]), was ihn für den Angriff von  $\text{H}_2\text{O}_2$  «aktiviert».

Dass auch im  $\text{Cu}^{2+}$ -AMP-Komplex der Adeninring angegriffen wird<sup>12)</sup>, lässt auch hier auf eine Koordination des  $\text{Cu}^{2+}$  an den Adeninring schliessen. Tatsächlich fanden COHN & HUGHES [17] bei Kernspin-Resonanz-Untersuchungen auch bei diesem Komplex eine Wechselwirkung zwischen  $\text{Cu}^{2+}$  und Adeninring. Ausserdem lässt sich die Beteiligung des Adeninringes an der Komplexbildung noch mit Hilfe von «Differenzspektren» (Fig. 4) zeigen, ähnlich wie sie von SCHNEIDER *et al.* [7] [10] zum Nachweis der Beteiligung des Adeninringes an der Komplexbildung bei den  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexen von ADP und ATP aufgenommen wurden.

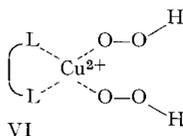
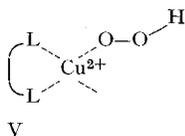
Im Gegensatz zu diesen Komplexen zeigt das  $\text{Cu}^{2+}$ -DNA-System in Gegenwart von  $\text{H}_2\text{O}_2$  bei 258 nm keine Abnahme der Extinktion, d. h. keine «Zerstörung» der Nucleotid-Basen, da die zugefügten Metallionen nicht an diese, sondern nur an die nach aussen stehenden Phosphatgruppen der DNA-Doppelhelix [18]<sup>13)</sup> gebunden sind. Auch dieser Befund spricht gegen das Auftreten freier Radikale, wie z. B.  $\text{HO}^\cdot$ , da diese wohl bis zu den Nucleotid-Basen in die Helix eindringen würden.

Dieses Beispiel stützt – neben der erwähnten Nicht-Parallelität der katalatischen und der peroxydatischen Aktivität – ebenfalls die Annahme, dass es für den Metall-Ionen-katalysierten peroxydatischen Abbau einer Partikel Voraussetzung ist, dass diese sich in der Koordinationssphäre des Metall-Ions befindet (vgl. auch [20]).

4.2. *Zusammenhang zwischen katalatischer und peroxydatischer Wirkung.* – *Mechanismus:* Der «glockenförmige» Verlauf der peroxydatischen Aktivität in Abhängigkeit vom pH (Fig. 3) zeigt, dass es sich nicht um eine Reaktion handeln kann, die über freie Radikale verläuft (vgl. 4.1.). Zu erklären bleibt jedoch der Abfall der peroxydatischen bzw. die Zunahme der katalatischen Aktivität bei höheren pH-Werten.

Im Falle der drei  $\text{Cu}^{2+}$ -Adenin-Nucleotid-Komplexe wäre es denkbar, dass die Abnahme der peroxydatischen Aktivität bei höheren pH von einer Verdrängung des Adeninteils aus der Koordinationssphäre des  $\text{Cu}^{2+}$  z. B. durch  $\text{HOO}^-$  oder  $\text{OH}^-$  herührt, insbesondere da es sich in diesen Fällen nicht um eine sehr stabile N- $\text{Cu}^{2+}$ -Koordination handeln dürfte [7] [10]. Da die peroxydatische Aktivität beim  $\text{Cu}^{2+}$ -AMP-N(1)-oxid-Komplex jedoch genau gleich verläuft (Fig. 3) und eine Verdrängung des  $\text{Cu}^{2+}$  vom heterocyclischen Ringsystem in diesem Falle ausgeschlossen ist [8], kann diese Erklärung nicht richtig sein.

Auf Grund des von uns für die katalatische Aktivität von  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexen in [4] vorgeschlagenen Reaktionsablaufes ergeben sich auf Grund der dort angegebenen Komplexstrukturen V und VI folgende beiden Möglichkeiten:



<sup>12)</sup> Die Werte für die Geschwindigkeitskonstante  $k'$  in Fig. 3 müssen mit ca. 4 multipliziert werden, wenn man sie mit den übrigen angegebenen Werten vergleichen will, da der  $\text{Cu}^{2+}$ -AMP-Komplex nur zu ca. 25% (s. Tab. 3) ausgebildet ist.

<sup>13)</sup> Über einen Basen-Abbau bei *s*-RNA unter der Einwirkung von 6M  $\text{H}_2\text{O}_2$  s. [11]; vgl. auch [19].

4.2.1. Bei tieferen pH-Werten bildet sich wohl der ternäre Komplex V aus, jedoch kaum der «aktive» Komplex VI, so dass – quasi als Ausweichreaktion – ein sich in der Koordinationssphäre befindender *oxydierbarer* Ligand als Substrat verwendet wird, d. h. es erfolgt eine peroxydatische Reaktion. Diese Reaktion wird unterdrückt und von einer katalatischen abgelöst, sobald die HOO<sup>-</sup>-Konzentration für die Ausbildung des «aktiven» Komplexes VI genügend gross ist, d. h. bei höheren pH-Werten.

4.2.2. Gemäss einer zweiten Möglichkeit könnte die Reaktion so verlaufen, dass der «aktive» Komplex VI erst nach Deprotonierung katalatisch aktiv werden kann, d. h. eine der koordinierten HOO<sup>-</sup>-Gruppen müsste ein Proton verlieren, wodurch eine – vielleicht notwendige – Asymmetrie entstünde, was wiederum erst bei höheren pH-Werten der Fall wäre. Bei niedrigeren pH-Werten würde ein Ligand oxydiert, d. h. es würde die peroxydatische Reaktion ablaufen.

Beide Reaktionsmöglichkeiten zeigen die «Verwandtschaft» zwischen katalatischer und peroxydatischer Wirkungsweise der katalytisch aktiven Cu<sup>2+</sup>-Komplexe auf. Interessant ist in diesem Zusammenhang, dass auch die Katalase peroxydatische Eigenschaften zeigt, falls sich im Reaktionsmilieu relativ wenig H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, dafür aber ein H-Donor, d. h. ein oxydierbares Substrat befindet [21]. Auch hier kann also je nach Wahl der Versuchsbedingungen die Reaktion in die eine oder andere Richtung gelenkt werden.

**5. Experimentelles.** – 5.1. *Reagenzien*: AMP-N(1)-oxid und 2-Aminopyridin-N(1)-oxid wurden nach [8] bzw. [22] [12] hergestellt. ADP bzw. ATP wurden von SIGMA CHEM. Co., St. Louis, USA, AMP bzw. DNA (hochpolymerisiert) von THE BRITISH DRUG HOUSES LTD., Poole, England, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O von E. MERCK AG, Darmstadt, und K<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>·3H<sub>2</sub>O (*puriss.*) von Dr. BENDER & Dr. HOBEIN AG, Zürich, bezogen. Übrige Reagenzien vgl. [4].

Eine 0,1-proz. DNA-Stammlösung wurde durch 48stdg. Vorquellen von 100 mg DNA in 60 ml H<sub>2</sub>O und Auffüllen auf 100 ml hergestellt (klare Lösung, kein Rückstand) und dann sofort für die Messungen verwendet. Auf Stabilisierung der DNA-Lösung durch NaCl [23] wurde verzichtet, um die Ausbildung von Chlorokomplexen zu vermeiden.

5.2. *Messungen*: Die Bestimmung der Anfangsgeschwindigkeitskonstanten *k* des H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Zerfalls, sowie die Absorptionsmessung bei 360 nm (ternäre Komplexe) wurden in der in [4] beschriebenen Weise durchgeführt.

Die Anfangsgeschwindigkeitskonstante *k'* der «Zerstörung» des Adeninringes wurde analog *k* bestimmt. Gemessen wurde bei 258 nm (DNA ebenfalls bei 258 nm; AMP-N(1)-oxid bei 272 nm) in 1-mm-Quarzküvetten mit einem BECKMAN-Spektrophotometer DB.

Herrn stud. chem. P. ANDERMATT und FrI. S. REIMANN danken wir für die gewissenhafte Durchführung der experimentellen Arbeit. Den Herren PD Dr. P. HEMMERICH und Dr. B. PRIJS sind wir für ihr Interesse an der vorliegenden Arbeit dankbar.

#### SUMMARY

The catalytic activity of Cu<sup>2+</sup> complexes in the decomposition of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and the formation of ternary peroxy compounds – measured by their absorption at 360 nm – of the following ligands have been investigated: AMP (I), ADP (II), ATP (III), AMP-N(1)-oxide (IV), DNA<sup>3</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> and P<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>4-</sup>.

The catalytic and peroxidative properties of Cu<sup>2+</sup> complexes of the adenosine nucleotides I–III, AMP-N(1)-oxide (IV) and DNA have been compared. In the pH range 5–11 the catalytic activity increases with rising pH, whereas the peroxidative activity shows a maximum at pH 8,5. In the presence of the Cu<sup>2+</sup> complexes of ATP

and AMP-N(1)-oxide, the  $H_2O_2$  concentration decreases at  $pH < 8,5$  at approximately the same rate as the adenine system is degraded.

Evidence is given that both the catalytic and the peroxidative reactions take place within the coordination sphere of  $Cu^{2+}$  and that no free radicals occur. The relationship between the catalytic and the peroxidative properties of the  $Cu^{2+}$  complexes is discussed, and compared with that of catalase.

Institut für anorganische Chemie,  
Universität Basel

#### LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. ERLLENMEYER, U. MÜLLER & H. SIGEL, *Helv.* **49**, 681 (1966).
  - [2] R. ZELL & H. SIGEL, *Helv.* **49**, 870 (1966).
  - [3] H. BRINTZINGER & H. ERLLENMEYER, *Helv.* **48**, 826 (1965).
  - [4] H. SIGEL & U. MÜLLER, *Helv.* **49**, 671 (1966).
  - [5] H. ERLLENMEYER, H. SIGEL, H. CH. CURTIUS & P. ANDERS, *Helv.* **49**, 19 (1966).
  - [6] A. N. RADHAKRISHNAN & A. MEISTER, *J. biol. Chemistry* **226**, 559 (1957); L. MACHOLÁN, *Naturwissensch.* **46**, 357 (1959).
  - [7] P. W. SCHNEIDER, H. BRINTZINGER & H. ERLLENMEYER, *Helv.* **47**, 992 (1964).
  - [8] H. SIGEL & H. BRINTZINGER, *Helv.* **47**, 1701 (1964).
  - [9] H. BRINTZINGER, *Helv.* **48**, 47 (1965); *J. Amer. chem. Soc.* **87**, 1805 (1965).
  - [10] P. W. SCHNEIDER & H. BRINTZINGER, *Helv.* **47**, 1717 (1964).
  - [11] H. PRIESS & W. ZILLIG, *Z. physiol. Chem.* **342**, 73 (1965).
  - [12] H. SIGEL & H. BRINTZINGER, *Helv.* **46**, 701 (1963); H. SIGEL, H. BRINTZINGER & H. ERLLENMEYER, *Helv.* **46**, 712 (1963).
  - [13] K. BERNEIS, M. KOFLER, W. BOLLAG, P. ZELLER, A. KAISER & A. LANGEMANN, *Helv.* **46**, 2157 (1963).
  - [14] H. SCHWEITZ & D. LUZZATI, *J. Chim. phys.* **60**, 1173 (1963).
  - [15] M. M. TAQUI KHAN & A. E. MARTELL, *J. Amer. chem. Soc.* **84**, 3037 (1962).
  - [16] H. BRINTZINGER, *Helv.* **44**, 1199 (1961).
  - [17] M. COHN & T. R. HUGHES JR., *J. biol. Chemistry* **237**, 176 (1962); vgl. auch H. SIGEL, *Experientia* **22** (1966), im Druck.
  - [18] P. A. EDWARDS & K. V. SHOOTER, *Quart. Rev.* **19**, 369 (1965); A. M. MICHELSON, «The Chemistry of Nucleosides and Nucleotides», Academic Press, London and New York 1963; P. KARLSON, «Biochemie», G. Thieme-Verlag, Stuttgart 1962.
  - [19] R. ZELL, H. SIGEL & H. ERLLENMEYER, *Helv.* **49**, 1275 (1966).
  - [20] H. BRINTZINGER, B. PRIJS & H. ERLLENMEYER, *Experientia* **16**, 468 (1960).
  - [21] H. LASER, *Biochem. J.* **61**, 122 (1955); E. FREI & H. AEBI, *Helv.* **41**, 241 (1958); H. AEBI & A. HASSAN, *Helv.* **43**, 544 (1960).
  - [22] A. R. KATRITZKY, *J. chem. Soc.* **1957**, 191.
  - [23] R. SIGNER & H. SCHWANDER, *Helv.* **32**, 853 (1949).
-