

Die elektrophoretische Beweglichkeit von Cu(II)-Chelaten einiger Aminosäuren in der Abhängigkeit von pH

Obwohl die Mehrzahl der Untersuchungen von Chelaten der Aminosäuren sich hauptsächlich mit deren Beständigkeit in wässrigen Lösungen befasst, erlauben die zu diesem Zwecke verwendeten Methoden keine genaue Charakterisierung des Verhaltens von Chelaten in Lösungen mit verschiedenen pH-Werten. In den bisherigen, mit Hilfe der Elektrophorese ausgeführten Untersuchungen, wurden besonders die Trennungsvorgänge berücksichtigt. So z.B. SZWAJ UND KAŃSKI¹ beschrieben die Trennung von Aminosäuren von den entsprechenden Cu(II)-Chelaten, während von WIELAND UND FISCHER² die Bildung eines gemischten Cu(II)-Histidino-Lysinats untersucht wurde. Das Verhalten von Cu(II)-Komplexen von Glycin, bzw. von einigen Peptiden, bei der Elektrophorese, wurde von DOBBIE und Mitarb.³ verfolgt.

Beschreibung der Versuche

Die in der Tabelle I angeführten Chelate wurden durch Reaktionen der entsprechenden Aminosäuren mit Cu(OH)₂, nach den Angaben von ABDERHALDEN UND SCHNITZLER⁴, dargestellt. Die verwendeten Aminosäuren waren elektrophoretisch homogen. Mit der Ausnahme von Chelaten des Norvalins, Leucins, Phenylalanins,

TABELLE I

DIE BEWEGLICHKEIT VON Cu(II)-CHELATEN EINIGER AMINOSÄUREN BEI VERSCHIEDENEN pH-WERTEN

Cu(II)-Chelate	Die Beweglichkeit (cm ² /V·sec) · 10 ⁻⁵					
	pH 1.97	pH 4.10	pH 6.09	pH 7.96	pH 9.91	pH 11.98
Glycin	5.31	3.09	2.02	1.60	1.60	1.42
Sarkosin	4.60	2.71	2.32	2.06	2.70	2.55
α-d,l-Alanin	5.06	3.62	1.74	1.89	1.64	1.66
β-Alanin	4.10	3.14	1.76	1.81	1.69	1.69
α-d,l-Aminobuttersäure	3.14	1.82	1.90	1.43	1.47	1.38
α-d,l-Aminoisobuttersäure	6.05	2.66	2.08	2.30	2.49	2.41
d,l-Norvalin	0	0	0	0	0	0
d,l-Valin	3.38	2.77	2.64	2.12	2.11	2.15
l-Isoleucin*	3.86	2.66	1.78	1.74	1.64	1.72
d,l-Leucin	0	0	0	0	0	0
d,l-Phenylalanin	0	0	0	0	0	0
l-Tyrosin	2.66	2.41	2.07	1.92	1.86	1.84
α,β-l-Diaminopropionsäure*	5.55	4.35	3.30	1.81	1.78	1.70
α,γ-l-Diaminobuttersäure*	6.28	4.83	4.26	4.16	4.14	5.25
l-Ornithin*	5.31	4.83	3.91	3.90	4.25	4.50
d,l-Arginin	4.60	3.87	3.48	3.76	4.40	5.00
l-Lysin	5.50	4.95	5.07	5.20	5.45	6.08
l-Histidin*	4.10	3.62	2.70	2.07	2.05	—2.66 + 2.40
l-Prolin	3.86	2.68	2.42	2.52	2.42	2.56
l-Hydroxyprolin	4.60	2.66	2.11	2.30	2.70	2.66
l-Asparaginsäure	—4.83	—2.42	+6.16	+6.18	+6.90	+7.60
l-Glutaminsäure	—3.38	—1.69	+7.63	+7.55	+7.73	+7.70
d,l-Serin	4.60	3.14	2.10	1.90	1.53	1.62
l-Threonin	3.14	3.00	2.43	2.30	2.42	2.42

* Überlassen von Herrn Prof. J. RUDINGER.

Tyrosins, der Asparagin- und Glutaminsäuren, die im 50%-igem Pyridin gelöst wurden, verwendeten wir wässrige Lösungen.

Die untersuchten Chelate wurden in 3 μM -Proben auf das Whatman-Papier No. 3 aufgetragen. Die Beweglichkeiten wurden im Britton-Robinson Universalpuffer (zehnfach verdünnt, pH-Werte mit einem pH-Meter PHK kontrolliert) untersucht. Zur Elektrophorese diente eine Tatrachema-Apparatur. Potentialgefälle $15 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$, Strom 5 mA. Die Detektion erfolgte mit 0,5%-iger Lösung der Rubeanwasserstoffsäure (Cu^{2+} -Ionen), und mit 0,2%-iger Ninhydrinlösung. Im alkalischen Gebiet war die Ninhydrinlösung mit Essigsäure versetzt.

Bei den in der Tabelle I angeführten Beweglichkeiten wurde der electroosmotische Effekt nicht berücksichtigt, bei den diffusen Flecken bezieht sich die Angabe auf den geometrischen Mittelpunkt.

Ergebnisse und Besprechung

Die Angaben in der Tabelle I zeigen, dass die Beweglichkeiten sämtlicher untersuchten Chelaten mit steigenden pH-Werten abnehmen, während sie im Intervall pH 6...12 (wo die Chelate der neutralen Aminosäuren vorliegen) fast konstant bleiben. Im sauren Gebiete (pH < 6) waren die Flecke diffus und die mit Ninhydrin entwickelten deckten sich nicht mit denjenigen, die mit Rubeanwasserstoffsäure erhalten wurden. BORSOOK UND THIMANN⁵ nehmen zwar die Existenz von Komplexen vom Typus $\text{Cu}(\text{Aminosäure})_2$ auch im sauren Gebiete an. Die Abnahme der Beweglichkeit kann jedoch auf das Vorhandensein von niederen Komplexen zurückgeführt werden, welche bei gegebenen pH-Wert den jeweils möglichen Gleichgewichten entsprechen (siehe z. B. JOKL⁶). Die Abhängigkeit der Beweglichkeit von pH entspricht der von JOKL⁶ angegebenen Abhängigkeit des Kations Cu^{2+} von der Konzentration des Glycinat-Anions, wobei der Glycin-Komplex im Intervall pH 4.1...9.91 eine von der Konzentration des Glycins unabhängige Beweglichkeit besitzt, in Übereinstimmung mit unseren Beobachtungen. Die Bildung von Hydroxokomplexen, etwa $[\text{Cu}(\text{A})_2(\text{OH})_2]^{2-}$ oder $[\text{Cu}(\text{A})(\text{OH})_3]^{2-}$ (A = Aminosäure) wurde nicht beobachtet, da alle Chelate im ganzen Gebiet von pH zu Kathode wanderten. Eine Ausnahme bilden nur die von den Aminodicarbonsäuren sich ableitenden Chelate, die im pH-Intervall 6.09...11.98 zu der Anode wandern (Cu^{2+} und Ninhydrintest positiv), bzw. bei pH 6.09 am Start bleiben.

Diese Aufspaltung lässt sich durch die Struktur des Chelats der Aminodicarbonsäure erklären, welche im Falle der Glutaminsäure mit $\text{Cu}[\text{Cu}(\text{glu})_2]$ formuliert werden kann (PFEIFFER UND WERNER⁷). Bei $\text{Cu}(\text{his})_2$ konnten wir bei pH 11.98 eine Aufspaltung in entgegengesetzt wandernde Anteile feststellen, wobei der zu Kathode wandernde Anteil eine grössere Beweglichkeit besass. Die Unbeweglichkeiten von Chelaten des Norvalins, Norleucins und Phenylalanins sind wohl auf ihre geringe Löslichkeiten in Wasser zurückzuführen.

Auf Grund von ermittelten Beweglichkeiten lässt sich für die von den neutralen Aminosäuren abgeleiteten Chelate ein Existenzgebiet von pH 6.09–11.98 annehmen, im Einklang mit den Ergebnissen von CURCHOD⁸ der ein Optimum bei pH 8 angibt.

Unseren Messungen ist ferner zu entnehmen, dass die Anwesenheit einer Amino-Gruppe, verglichen mit der der Hydroxylgruppe, die Beweglichkeit erhöht (Serin... 2,3-Diaminopropionsäure). Erhöhend wirkt auch die im Ring gebundene Hydroxylgruppe (Prolin... Hydroxyprolin), während die Beispiele der α -Aminobuttersäure

und der α -Aminoisobuttersäure den erhöhenden Einfluss der verzweigten Kohlenstoffkette belegen, wobei die Ursache in einer Erniedrigung der Fähigkeit zur Koordination von Wassermolekülen sein dürfte (vergleiche dazu⁹).

Die im Gebiete von pH 6.09... 11.98 entwickelten Flecke waren kompakt und die Anwendung von Ninhydrin und der Rubeanwasserstoffsäure führte zu gleichen Ergebnissen. Dagegen die Chelate der Aminodicarbonsäuren lieferten im ganzen Gebiet von pH nur diffuse Flecke, was vielleicht auf Adsorptionserscheinungen, bzw. Bidentatbildung¹⁰ zurückzuführen ist. Eine Verdoppelung von Flecken, die auf eine Aufspaltung von geometrischen oder optischen Isomeren hinweisen dürfte, konnte bis auf den noch nicht aufgeklärten Fall von $\text{Cu}(\text{his})_2$ nicht beobachtet werden (vergleiche jedoch¹¹).

Dank

Wir danken Herrn Professor J. RUDINGER und Herrn Dozenten L. ŠŮCHA (von der hiesigen Hochschule) für freundliche Erörterung einiger Ergebnisse, und dem erstgenannten für die Überlassung verschiedener Aminosäuren.

Institut für anorganische Chemie, Chemisch-Technologische Hochschule, Prag (Tschechoslowakei)*

F. JURSIK
F. PETRŮ

- 1 M. SZWAJ UND M. KAŃSKI, *J. Chromatog.*, 3 (1960) 425.
- 2 T. WIELAND UND E. FISCHER, *Naturwiss.*, 35 (1948) 29.
- 3 H. DOBBIE, W. O. KERMACK UND H. LEES, *Biochem. J.*, 59 (1955) 240.
- 4 E. ABDERHALDEN UND E. SCHNITZLER, *Z. Physiol Chem.*, 163 (1927) 94.
- 5 H. BORSOOK UND K. V. THIMANN, *J. Biol. Chem.*, 98 (1932) 671.
- 6 V. JOKL, *J. Chromatog.*, 14 (1964) 71.
- 7 P. PFEIFFER UND H. WERNER, *Z. Physiol. Chem.*, 246 (1937) 212.
- 8 J. CURCHOD, *J. Chim. Phys.*, 53 (1956) 126.
- 9 H. IRVING UND D. L. PETTIT, *Chem. Ind. (London)*, 1960, 1268.
- 10 G. R. BRUBAKER UND D. H. BUSCH, *Inorg. Chem.*, 5 (1966) 2110.
- 11 M. YOSHIMO UND M. MAKI, *Nippon Kagaku Zasshi*, 87 (1966) 706; *C.A.*, 66 (1967) 3302.

Eingegangen den 23. Juni 1967

* Vorstand Prof. Dr. F. PETRŮ.

J. Chromatog., 31 (1967) 296-298