

als der des abgeschirmten. Im Dampfstrahl scheinen also elektrische Ladungen transportiert zu werden, die den isolierten Film aufladen, so daß sich ein zusammenhängender, lückenloser Film schwerer auszubilden vermag als bei dem elektrisch abgeschirmten Träger.

Um die Haftkräfte zwischen Film und Träger zu ermitteln, wurden Filme verschiedener Metalle auf (100)-Flächen von Alkalihalogenid-Kristallen aufgebracht. Die Haftkräfte erwiesen sich als klein und konnten auf *van der Waalsche* Kräfte zurückgeführt werden.

Insgesamt brachte die Konferenz einen umfassenden Überblick über eine Anzahl z.Zt. interessanter Probleme auf dem Gebiet der Adsorption an Metallfilmen. Allerdings konnten nur Grundlagen besprochen werden.

[VB 716]

Untersuchungen über das aktive Zentrum der Ribonuclease

E. A. Barnard, London

Basler Chemische Gesellschaft, am 25. April 1963

Der Histidin-Rest Nr. 119 in Pankreas-Ribonuclease ist praktisch die einzige Gruppe im aktiven Zentrum eines Enzyms, die sich bisher mit einiger Sicherheit identifizieren und lokalisieren ließ. Der Beweis ist schwierig, daß eine Gruppe direkt an einem aktiven Zentrum beteiligt ist und nicht nur deshalb wichtig ist, weil sie beispielsweise eine bestimmte Proteinstruktur aufrechterhält. Für das Histidin der Ribonuclease ergibt sich die direkte Beteiligung aus folgenden Beobachtungen:

Die Reaktion des Enzyms mit Bromessigsäure führt zu spezifischer und vollständiger Inaktivierung, wenn eine Carboxymethylgruppe in das Enzym eintritt [1]. Diese Gruppe befindet sich stets am Histidin-Rest Nr. 119 [2].

Vortr. hat das Derivat durch Ionenaustausch-Chromatographie gereinigt. Es ist nativer Ribonuclease in seinen physikalischen Eigenschaften (z. B. Sedimentationskonstante bei 20 °C, UV-Spektrum) sehr ähnlich.

Bromessigsäure reagiert mit dem Enzym viel schneller als mit freiem Histidin. Die Reaktion mit dem Enzym zeigt eine anomale pH-Abhängigkeit (optimales pH = 5,6).

Die Reaktion mit Jodessigsäure verläuft ähnlich [3]. Mit Jodacetamid reagiert das Enzym nicht [4]. Die Reaktion gelingt nur beim nativen Enzym. Oxydierte oder reduzierte Ribonuclease reagieren nicht. In Harnstoff-Lösung kann die Reaktion in begrenztem Umfang eintreten [5], jedoch nicht bei allen Präparaten [4], eine Beobachtung, die weiterer Untersuchungen bedarf.

Cytidin-2'- und -3'-phosphat sind kräftige kompetitive Inhibitoren des Enzyms. Sie schützen die Ribonuclease auch weitgehend gegen den Angriff der Bromessigsäure. Auch die Photooxydation des Enzyms zeigt, daß Histidin für die Wirkung des Enzyms von Bedeutung ist [6].

Die pH-Abhängigkeit der Kinetik der Ribonuclease-Reaktion [7, 8] und der Reaktion des Enzyms mit Halogenessigsäuren spricht dafür, daß zwei Histidin-Reste beteiligt sind. Daß die

- [1] E. A. Barnard u. W. D. Stein, *J. molec. Biol.* 1, 339 (1959).
- [2] W. D. Stein u. E. A. Barnard, *J. molec. Biol.* 1, 350 (1959).
- [3] H. G. Gundlach, W. H. Stein u. S. Moore, *J. biol. Chemistry* 234, 1754 (1959).
- [4] G. R. Stark, W. H. Stein u. S. Moore, *J. biol. Chemistry* 236, 436 (1961).
- [5] E. A. Barnard u. W. D. Stein, *Biochim. biophysica Acta* 37, 371 (1960).
- [6] L. Weil u. T. S. Seibles, *Arch. Biochem. Biophysics* 54, 368 (1955).
- [7] D. G. Herries, A. P. Mathias u. B. R. Rabin, *Biochem. J.* 85, 127 (1962).
- [8] H. Witzel u. E. A. Barnard, *Biochem. biophys. Res. Commun.* 7, 289, 295 (1962).

zweite basische Gruppe nicht eine NH₂-Gruppe mit niedrigem pK-Wert ist, ergibt sich aus der Umsetzung von guanidinierter [9] Ribonuclease mit Bromessigsäure. Sie zeigt die gleiche pH-Abhängigkeit wie die Reaktion mit nativer Ribonuclease. Kürzlich wurde die Beteiligung des Histidin-Restes Nr. 12 an den Reaktionen des Enzyms direkt nachgewiesen [10].

Ribonuclease mit einer Carboxymethyl-Gruppe am Histidin-Rest Nr. 119 vermag fast kein Cytidin-2'-phosphat mehr zu binden. Das ließ sich durch Messungen in der Ultrazentrifuge zeigen [11] und spricht dafür, daß der Histidin-Rest Nr. 119 an der Stelle des Enzyms steht, die das Substrat bindet. Die Kinetik jedes der beiden Schritte bei der Reaktion zwischen Enzym und Substrat ist für mehrere Substrate gemessen worden. Die Ergebnisse stützen die Annahme, daß zwei Histidin-Reste des Enzyms an der Substrat-Bindung beteiligt sind.

Bromessigsäure ist demnach das einfachste substratähnliche Reagens. Es wird wie die Gruppe $-P-O^-$ der Substrate gebunden und alkyliert eine nucleophile Komponente an der Bindungsstelle des Enzyms. Im Gegensatz zur Ribonuclease wird Lysozym, das Reaktionen mit ungeladenen Substraten katalysiert (wahrscheinlich gleichfalls unter Beteiligung eines Histidin-Restes [12]), durch Bromessigsäure (0,18 M, pH = 4 bis 8,5) nicht inaktiviert. Das aktive Zentrum der Ribonuclease muß weitere Gruppen enthalten. Neuere Untersuchungen [13] zeigten, daß sich ein Lysin-Rest spezifisch acylieren läßt, und ermöglichen die Klärung seiner Beziehungen zum Imidazol-System des Histidins.

[VB 713]

Blitzlichtphotolyse und Fluoreszenz des Ammoniaks

W. Groth, Bonn

GDCh-Ortsverband Mainz-Wiesbaden, am 2. Mai 1963

Nach Arbeiten von Bayes, Becker, Stuhl und Welge wurde eine neue Blitzlichtanordnung für das Vakuum-Ultraviolet bis 1150 Å beschrieben, bei der der Reaktions- vom Entladungsraum durch eine Reihe von LiF-Fenstern getrennt ist und die Gesamtentladungsenergie von 1870 Wsec auf 12 parallele Funkenstrecken verteilt wird, die synchron gezündet werden. Das zeitliche Auflösungsvermögen kann dadurch auf <2 µsec gesteigert werden. (Eine ähnliche Blitzlichtanordnung für das Quarz-Ultraviolet mit fünf parallelen Funkenstrecken hat bei 1440 Wsec Gesamtenergie eine zeitliche Auflösung von 3,7 µsec).

Bei der Blitzlichtphotolyse des Ammoniaks wurde außer dem NH₂-Radikal bei Wellenlängen <1550 Å auch das NH-Radical nachgewiesen ((0,0)- und (1,1)-Banden des $^3\Pi \rightarrow ^3\Sigma^-$ -Übergangs), und die Abhängigkeit der NH-Konzentration von der zeitlichen Verzögerung des Analysenblitzes, vom NH₃-Druck und von Zusatzgasen untersucht. Das NH-Radikal entsteht mit Sicherheit als Primärprodukt der Photolyse nach $\text{NH}_3 + h\nu \rightarrow \text{NH} + \text{H}_2$ bzw. $\text{NH} + 2\text{H}$.

Bei Fluoreszenzuntersuchungen mit den Resonanzwellenlängen des Kryptons (1165 Å, 1235 Å) und des Xenons (1295 Å, 1740 Å) wird nur die (0,0)-Bande des $^1\Pi \rightarrow ^1\Delta$ -Übergangs gefunden, nicht aber der von Neuimin und Terenin vermutete $^3\Pi \rightarrow ^3\Sigma^-$ -Übergang. Für die bei der Blitzlichtphotolyse nachgewiesenen NH-Radikale im $^3\Sigma^-$ -Grundzustand gibt es zwei Entstehungsmöglichkeiten: 1. direkter Übergang in diesen Zustand; 2. Übergang in einen Singulett-

- [9] W. A. Klee u. F. M. Richard, *J. biol. Chemistry* 229, 489 (1957).
- [10] A. M. Crestfield, *Fed. Proc.* 22, 419 (1963).
- [11] E. A. Barnard u. A. Ramel, *Nature (London)* 195, 243 (1962).
- [12] H. Fraenkel-Conrat, *Arch. Biochem. Biophysics* 27, 109 (1950).
- [13] E. A. Barnard u. S. Shall, unveröffentl.

zustand mit anschließendem strahlungslosem Übergang in den $^3\Sigma$ -Grundzustand. Für eine Entscheidung sind Versuche mit größerer Empfindlichkeit der Anordnung erforderlich. Obere Grenzen der Stoßausbeuten von Reaktionen der NH-Radikale lassen sich abschätzen.

Bei der Photolyse des NH_3 mit den Krypton- und Xenon-Linien ist die relative Hydrazin-Ausbeute bei Versuchen mit schnell strömenden Gasen die gleiche wie bei der Hg-Linie bei 1849 Å; die NH-Radikale reagieren also mit NH_3 zu N_2H_4 . Die Quantenausbeute der NH_3 -Zersetzung ist bei den kurzen Wellenlängen um den Faktor 1,3 bis 1,6 größer als bei 1849 Å.

H_2 in großem Überschuß ist ohne Einfluß auf die Quantenausbeute; bei CO-Zusatz konnte nur Formamid als weiteres Reaktionsprodukt nachgewiesen werden. [VB 709]

Strukturchemie kristalliner Phosphate

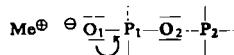
F. Liebau, Würzburg

Anorganisch-chemisches Kolloquium der Universität Göttingen, am 20. Mai 1963

Bei der Betrachtung der Strukturen anorganischer Phosphate kann man entweder von den $[\text{PO}_4]$ -Tetraedern oder von den Koordinationspolyedern der Kationen ausgehen und diese nach und nach zu immer größeren Verbänden verknüpfen. Im ersten Falle kommt man z. B. von den isolierten Tetraedern der Monophosphate über die Doppel- und Dreifachtetraeder der Di- und Triphosphate zu den ring- bzw. kettenförmigen Anionen der Meta- und Polyphosphate. Auch die Verknüpfung der $[\text{PO}_4]$ -Tetraeder zu Schicht- und Gerüstverbänden wurde nachgewiesen. Es ist nicht überraschend, daß es eine ganze Reihe Phosphatstrukturen gibt, die mit Silicaten isotyp sind.

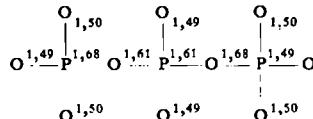
Legt man der Betrachtung die Kationenpolyeder zugrunde, so lassen sich ähnlich z. B. Strukturen mit isolierten $[\text{Me}(\text{O},\text{OH})_6]$ -Oktaedern, mit Doppel- und Dreifachoktaedern, mit Oktaederketten, -schichten oder -gerüsten anführen. Während jedoch die $[\text{PO}_4]$ -Tetraeder über gemeinsame Ecken miteinander kondensiert sind, erfolgt die Verknüpfung der Kationenpolyeder auch über gemeinsame Kanten oder Flächen.

Die P–O-Bindung in den Phosphaten hat teils polaren, teils kovalenten Charakter. Den größten Energiegewinn liefern die vier σ -Bindungen des sp^3 -Hybrids, welches für die tetraedrische Anordnung der Sauerstoffatome um das Phosphoratom herum verantwortlich ist. Die freien Elektronenpaare der Sauerstoffatome werden teilweise in das d_{x^2} - und das $d_{x^2-y^2}$ -Orbital des Phosphoratoms einbezogen unter Ausbildung zweier π -Bindungssysteme, die sich in kondensierten Phosphaten durch die ganze $-\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{P}-\text{O}-$ Kette hindurchziehen. Da die Elektronegativität der Kationen (Me) kleiner ist als die des Phosphors, wirken sie als Elektronendonatoren



und „drücken“ Elektronen des Sauerstoffatoms O_1 in die π -Bindung zum Phosphoratom P_1 hinüber. Dadurch wird die P_1-O_1 -Bindung stärker kovalent und verkürzt. Das P_1 -Atom sucht einen Teil der Elektronenladung an das Brückensauerstoffatom O_2 weiterzugeben, wodurch der polare Charakter der P_1-O_2 -Bindung zunimmt, die dadurch verlängert wird. Der Einfluß der Kationen sollte sich in Form einer, wenn auch geringen Verkürzung der O_2-P_2 -Bindung bemerkbar machen. Dieser Effekt zeigt sich besonders deutlich in den in

Å angegebenen Atomabständen des Natriumtriposphats $\text{Na}_3\text{P}_3\text{O}_{10}$.



Dieser Einfluß der Kationen führt dazu, daß in Poly- und Metaphosphaten der Abstand zwischen dem Phosphoratom und dem Brückensauerstoffatom im Mittel 1,62 Å beträgt, während die übrigen P–O-Abstände mit durchschnittlich 1,49 Å deutlich kürzer sind.

In Übereinstimmung mit dem Charakter der P–O-Bindung schwankt der P–O–P-Valenzwinkel in den bisher untersuchten Strukturen nur wenig um den Mittelwert von 129° . So stehen die Ergebnisse kristallographischer Untersuchungen in gutem Einklang mit der Theorie der chemischen Bindung. [VB 714]

Die oxydative Hydrolyse der Phosphorsulfide

H. Falius, Braunschweig

GDCh-Ortsverband Braunschweig, am 13. Mai 1963

Die von Treadwell und Beeli [1] und von Pernert und Brown [2] erhaltenen Ergebnisse bei der Hydrolyse der Phosphorsulfide ließen wegen eintretender Oxydoreduktionen und Isomerisierungen keine Schlüsse auf den Bau der Sulfide zu. In Gegenwart von Oxydationsmitteln sollten diese Reaktionen weitgehend unterbleiben und die in den Sulfiden vorhandenen P–P-Bindungen, deren Vorliegen durch die vor einigen Jahren gelungene röntgenographische Strukturaufklärung bewiesen wurde, sollten erhalten bleiben. Da die P–P-Bindung in den Oxosäuren des Phosphors in alkalischer Lösung recht beständig ist und um die Gegenwart fremder Ionen zu vermeiden, wurden die niederen Phosphorsulfide, P_4S_3 , P_4S_5 und P_4S_7 , in Lösungen verschiedener Alkalität mit Wasserstoffperoxyd als Oxydationsmittel hydrolysiert. Es entstanden folgende Oxosäuren des Phosphors (die Prozentangaben beziehen sich auf die eingesetzte Phosphormenge und sind ungefähre Durchschnittswerte aller Hydrolysen):

- P_4S_7 : 10 % Phosphit, 55 % Phosphat, 5 % Pyrophosphat, 25 % Hypophosphat, 5 % Triphosphat(V,IV,IV).
- P_4S_5 : 10 % Phosphit, 40 % Phosphat, 10 % Pyrophosphat, 25 % Hypophosphat, 10 % Triphosphat(V,IV,IV), 5 % Triphosphat(IV,III,IV).
- P_4S_3 : 10 % Phosphit, 35 % Phosphat, 5 % Pyrophosphat, 20 % Hypophosphat, 15 % Triphosphat(V,IV,IV), 15 % Triphosphat(IV,III,IV).

Die qualitativen und quantitativen Analysen wurden papierchromatographisch mit anschließender photometrischer Bestimmung vorgenommen. Die Beständigkeit von Phosphit und Hypophosphat in den Reaktionslösungen wurde geprüft und bewiesen. Pyrophosphat und Triphosphat(V,IV,IV) müssen nach einem ähnlichen Reaktionsmechanismus entstanden sein, wie Pyrophosphat aus Thiophosphaten unter den Bedingungen der oxydativen Hydrolyse entsteht, was näher untersucht wurde. Es bildeten sich aus Monothiophosphat 0 %, aus Dithiophosphat 16 % und aus Tetrathiophosphat 12 % Pyrophosphat (bezogen auf den Phosphor). [VB 708]

[1] Helv. chim. Acta 18, 1161 (1935).

[2] J. C. Pernert u. J. H. Brown, Chem. Engng. News 27, 2143 (1949).