

Spektrum (Abb. 1) erscheinen drei Bandenpaare, deren Abständen die Nullfeldparameter der dipolaren Elektron-Elektron-Wechselwirkung zu entnehmen sind^[1-5]: $D = 140$ G und $E = 18$ G. Die Größe von D läßt darauf schließen, daß bei dem Triplet (1) der Abstand zwischen den radikalischen Zentren in der Punkt-Dipol-Näherung etwa 5.8 Å beträgt; das Dreiding-Modell ergibt folgende N—N- bzw. O—O-Abstände: beidseitig Halbsesselform: 4.9–5.1 Å, beidseitig Halbwannenform: 5.0–5.8 Å.

Daß die Mittelpunkte der Bandenpaare nicht zusammenfallen, röhrt von der Anisotropie des g-Faktors her; im Einklang mit Ergebnissen bei Mononitroxiden^[14, 15] ergibt sich für die Diagonalelemente: $g_{xx} > g_{yy} > g_{zz}$ (Abb. 1).

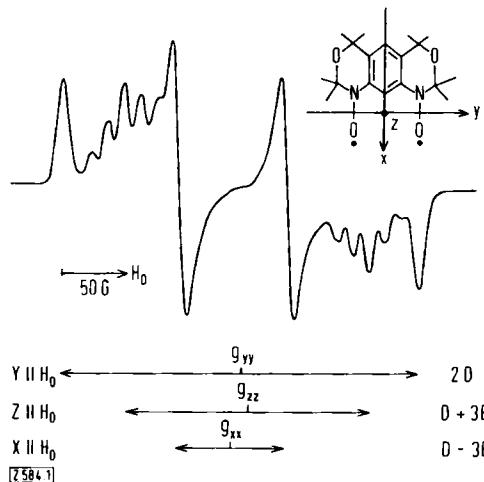


Abb. 1. ESR-Spektrum von (1) in Äthanol-Glas bei -130°C (bei der Definition der Achsen wird das Molekülgerüst in erster Näherung als planar angesehen).

Eine Hyperfeinstruktur durch anisotrope Kopplung mit den N-Kernen ist nur auf den z-Komponenten zu erkennen: fünf äquidistante Banden im Intensitätsverhältnis 1:2:3:2:1. Dies entspricht dem Spektrum eines Diradikals mit $J \gg D$ ^[16] und $A_{zz}/2 = 12$ G. Die Tatsache, daß die Hyperfeinstruktur auf den anderen Bandenpaaren nicht aufgelöst ist, stimmt damit überein, daß für die xx- und yy-Diagonalelemente des als zylindersymmetrisch angenommenen Kopplungstensors der Hyperfeinstruktur wesentlich kleinere Werte zu erwarten sind, als beim zz-Element beobachtet^[15, 16]:

$$A_{xx} = A_{yy} = \frac{3a_N - A_{zz}}{2} = \frac{33 - 24}{2} = 4.5 \text{ G}$$

Untersuchungen an biologischen Systemen mit (1) als „Spin Label“ sind in Gange.

Eingegangen am 8. November 1971 [Z 584]

- [1] A. Rassat, Int. Symp. Conformational Analysis, Brüssel 1969; Pure Appl. Chem. 25, 623 (1971).
- [2] A. Calder, A. R. Forrester, P. G. James u. G. R. Luckhurst, J. Amer. Chem. Soc. 91, 3724 (1969).
- [3] a) J. F. W. Keana u. R. J. Dinerstein, J. Amer. Chem. Soc. 93, 2808 (1971); b) J. Michon u. A. Rassat, Franz. Pat. 7115999 (4. 5. 1971).
- [4] A. R. Forrester u. R. Ramasseul, J. Chem. Soc. B 1971, 1645.
- [5] R. M. Dupeyre, G. Gagnaire, J. Michon, P. Michon, C. Morat, A. Rassat u. J. Ronzaud, unveröffentlicht.

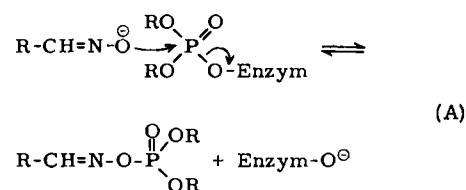
- [6] J. P. C. Smith in J. R. Bolton, D. Borg u. H. Schwarz: Biological Applications of Electron Spin Resonance Spectroscopy. Interscience-Wiley, New York 1971, und zit. Lit.
- [7] G. Kothe, K. H. Denkel u. W. Simmermann, Angew. Chem. 82, 935 (1970); Angew. Chem. internat. Edit. 9, 906 (1970).
- [8] A. R. Forrester, R. H. Thomson u. G. R. Luckhurst, J. Chem. Soc. B 1968, 1311.
- [9] A. Calder u. A. R. Forrester, J. Chem. Soc. C 1969, 1459.
- [10] M. T. Bogert u. A. H. Kropff, J. Amer. Chem. Soc. 31, 841 (1909).
- [11] F. W. Holly u. A. C. Cope, J. Amer. Chem. Soc. 66, 1875 (1944).
- [12] R. Brière, R. M. Dupeyre, H. Lemaire, C. Morat, A. Rassat u. P. Rey, Bull. Soc. Chim. Fr. 1965, 3290.
- [13] E. G. Rozantset: Free Nitroxyl Radicals. Plenum Press, New York-London 1970, S. 139.
- [14] O. H. Griffith, D. W. Cornell u. H. M. McConnell, J. Chem. Phys. 43, 2909 (1965).
- [15] H. Lemaire, Thèse, Grenoble 1967; Rapport C. E. A. n° R3119.
- [16] J. Ronzaud, unveröffentlicht; s. auch K. Itoh, H. Hayashi u. S. Nakakura, Mol. Phys. 17, 561 (1969).

Reaktivierung phosphorylierter Acetylcholin-Esterase – Abhängigkeit von der Aktivator-Acidität

Von Ilse Hagedorn, Irma Stark und Hans Peter Lorenz^[1]

Durch Phosphorylierung inhibierte Acetylcholin-Esterase (AChE) läßt sich mit 2- oder 4-(Hydroxyiminomethyl)pyridinium-halogeniden wie (13)^[11] oder (9)^[12] reaktivieren.

Der erste Schritt der Enzym-Reaktivierung wird als Gleichgewichts-Reaktion (A) formuliert^[3]:



Der Sekundärschritt, in dem das Gleichgewicht (A) zugunsten intakten Enzyms verschoben wird, ist eine cyclische α,β -cis-Eliminierung (B)^[4]:



Um Beziehungen zwischen Oxim-Acidität^[5] und Enzym-Reaktivierung^[6] zu ermitteln, haben wir 60 Hydroxyiminomethyl-pyridinium-halogenide hergestellt. Eine repräsentative Auswahl zeigt Tabelle 1. Die Acidität der Verbindungen wurde durch potentiometrische Titration^[7] bestimmt.

Wir fanden, daß das Optimum der AChE-Reaktivierung mit Oximen erreicht wird, deren pK_a -Wert bei 7.8 liegt. Strukturell ähnliche Stoffe mit $pK_a < 7.5$ und > 8.0 sind unbrauchbar (Tabelle 1).

Die Unwirksamkeit der acideren Oxime (14) bis (18) beruht, wie UV-spektroskopisch festgestellt, darauf, daß die Nucleophilie ihrer Anionen für den Primärschritt (A) zu gering ist: Sie reagieren bei $\text{pH} = 7.8$ sogar in 90 min nicht mit dem als Modell für inhibiertes Enzym gewählten Phos-

[*] Prof. Dr. I. Hagedorn, Dr. I. Stark und Dipl.-Chem. H. P. Lorenz
Chemisches Laboratorium der Universität
78 Freiburg, Albertstraße 21

Tabelle 1. Zusammenhang zwischen der Acidität von Hydroxyiminomethyl-pyridinium-halogeniden und ihrer Fähigkeit, phosphorylierte Acetylcholin-Esterase zu reaktivieren [6].

Verbindung	$pK_a \pm 0.03$	Reaktivierung (%) bei einer Oxim-Konzentration von			Lit.
		7.5×10^{-4}	7.5×10^{-5}	7.5×10^{-6}	
$\text{HON}=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{N}^{\oplus}-\text{CH}_2-\text{R}-\text{Cl}^{\ominus}$					
(1) $\text{R} = \text{O}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_{11}$	8.13	0	0	0	[5]
(2)	8.11	0	0	0	[9]
(3)	8.09	0	0	0	[5]
(4)	8.05	0	0	0	[9]
(5)	8.01	17	0	0	[5]
(6)	7.89	50	14	0	[8]
$\text{HON}=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{N}^{\oplus}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{N}^{\oplus}(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{R}^1-2\text{Cl}^{\ominus}$					
$\text{R}^1 =$					
(7) 3-CONH ₂	7.83	74	29	0	[10]
(8) 4-CONH ₂	7.81	62	40	0	[10]
(9) 4-CH=NOH	7.80	56	49	17	[2, 11]
(10) 3-CO-CH ₃	7.79	53	28	0	[10]
(11) 3-CH=NOH	7.78	50	27	0	[10]
(12) H	7.78	60	50	8	[10]
(13)	7.68	49	14	1	[1]
$\text{C}_6\text{H}_4-\text{N}^{\oplus}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{N}^{\oplus}(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{R}^2-2\text{Cl}^{\ominus}$					
$\text{R}^2 =$					
(14) 3-CONH ₂	7.30	0	0	0	[12]
(15) 4-CONH ₂	7.28	0	0	0	[10]
(16) 3-CH=NOH	7.24	20	0	0	[12]
(17) H	7.20	0	0	0	[12]
(18) 2-CH=NOH	7.09	0	0	0	[12]

Tabelle 2. UV-spektroskopisch ($\lambda_{\text{max}} = 280 \text{ nm}$) bestimmte Zerfallskonstanten benzoylierter Oxime (wässrige Lösung, pH = 8.1).

Benzoesäureester von	(13)	(12)	(8)	(7)	(5)	(19) [a]
$t_{1/2} (\text{min})$	3	570	700	860	1825	3600
$k \times 10^4 (\text{min}^{-1})$ [b]	2310	120	99.0	80	38	1.9
pK_a -Wert der Oximgruppe	7.68	7.78	7.81	7.83	8.01	8.34
Reaktivierung (%) [c]	49	60	62	74	17	0

[a] (19) = 4-(Hydroxyiminomethyl)-1-methylpyridinium-jodid.

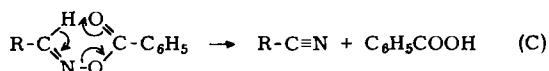
[b] Die Reaktion ist pseudo-erster Ordnung.

[c] Bei einer Oxim-Konzentration von $7.5 \times 10^{-4} \text{ mol/Liter}$.

phorsäure-triäthylester^[8]. Die Reaktion zwischen Oximat-Anion und Phosphorsäure-triester verläuft allgemein recht langsam, was vermuten läßt, daß der durch Oxime ablösbare Phosphoryl-Rest am Enzym in energiereicherer, nicht esterartiger Bindung vorliegt.

Die weniger aciden Oxime (1) bis (5) sind unwirksam, weil die Acidität ihres Methinprotons zu niedrig ist, um Reaktion (B) ausreichend rasch ablaufen zu lassen. Gemessen wurde dieser schon früher beobachtete^[4] Effekt anhand von Reaktion (C).

Da die Geschwindigkeit des Zerfalls (C) mit der kinetischen Methin-Acidität zusammenhängt, kann die Halbwertszeit $t_{1/2}$ als Maß für diese dienen (Tabelle 2).



Rasche Enzymaktivierung tritt also nur dann ein, wenn Nucleophilie des Oximat-Anions und Acidität des Methinprotons eine Mindestgröße haben.

Eingegangen am 31. Januar 1972 [Z 595]

- [1] J. B. Wilson u. S. Ginsburg, Biochim. Biophys. Acta 18, 168 (1955).
[2] A. Lüttringhaus u. I. Hagedorn, Arzneimittel-Forsch. 14, 1 (1964); W. D. Erdmann u. H. Engelhard, ibid. 14, 5 (1964).

[3] C. Fest u. K.-J. Schmidt in R. Wegler: Chemie der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel. Springer-Verlag, Heidelberg 1970, S. 363 u. 411.

[4] I. Hagedorn, W. H. Gündel u. K. Schoene, Arzneimittel-Forsch. 19, 603 (1969).

[5] H. P. Lorenz, Diplom-Arbeit, Universität Freiburg 1970.

[6] Die Werte ermittelte Prof. W. D. Erdmann, Toxikologisches Institut der Universität Göttingen, als maximal erzielbare Enzymaktivität (%) nach Zusatz des Reaktivators zu einer durch Diisopropyl-fluorophosphat (DFP, 1×10^{-6} mol/Liter) vollständig blockierten AChE.

[7] Die Methode von A. Albert u. E. P. Serjeant (Ionization Constants of Acids and Bases. Methuen, London 1962) wurde modifiziert [8].

[8] I. Stark, Dissertation, Universität Freiburg 1971.

[9] W. Hohler, Diplom-Arbeit, Universität Freiburg 1969.

[10] I. Stark, Diplom-Arbeit, Universität Freiburg 1968.

[11] Der pK_a -Wert ergibt sich aus $pK_{a1} = 7.54$ und $pK_{a2} = 8.12$. Beide Oximgruppen der symmetrisch gebauten Verbindung sind im chemischen Charakter gleich, die Nucleophilie ihrer Anionen entspricht der eines Monoxims mit $pK_a = 7.80$.

[12] K. Schoene, Dissertation, Universität Freiburg 1967.

VERSAMMLUNGSBERICHTE

Makromolekulares Kolloquium

Das Makromolekulare Kolloquium – veranstaltet vom Institut für makromolekulare Chemie der Universität Freiburg – fand vom 2. bis 4. März 1972 in Freiburg statt.

Aus den Vorträgen:

Fehler bei der Ermittlung von engen und breiten Molekulargewichtsverteilungen mit der Gelpermeations-chromatographie und ihre mögliche Elimination

Von K. C. Berger^[*]

Exakt bestimmte Molekulargewichtsverteilungen sind außerordentlich informativ über den Bildungsprozeß eines Polymeren und daher ein wichtiges Hilfsmittel für kinetische Untersuchungen. Um zu sicheren Aussagen zu kommen, ist es jedoch notwendig, mögliche Fehler der Methode zu erkennen und zu eliminieren. Diesem Ziel dienen die im folgenden beschriebenen Versuche.

Die gelchromatographische Elutionskurve entsteht durch eine Überlagerung von Strömungsdispersion und Auf trennung nach Polymolekularität. Fängt man deshalb bei der Elution Fraktionen auf und gibt sie erneut in den Gelchromatographen, lassen sich zwei Grenzfälle unterscheiden: Alle Fraktionen haben jetzt das gleiche Elutionsvolumen; dann war die ursprüngliche Elutionskurve nur durch Strömungsdispersion bedingt. Oder aber alle Fraktionen haben das Elutionsvolumen, bei dem sie aufgefangen wurden; dann war die ursprüngliche Elutionskurve nur durch die Auf trennung nach Polymolekularität gegeben. Die praktisch vorkommenden Ergebnisse liegen zwischen diesen Grenzfällen. Besonders anschaulich wird der Sachverhalt bei trimodalen Verteilungen, wie sie bei der anionischen Polymerisation von Styrol entstehen können.

[*] Dr. K. C. Berger
Institut für physikalische Chemie der Universität
65 Mainz, Jakob-Welder-Weg 15

Wichtig ist der Fall der reinen Strömungsdispersion: Sie betrifft bei oben geschilderter Versuchsdurchführung das System Lösungsmittel-Polymerlösung-Lösungsmittel. Hingegen läßt sich die Strömungsdispersion im System Polymerlösung-Polymerlösung-Polymerlösung – die bei breiten Molekulargewichtsverteilungen den mittleren Teil der Elutionskurve beeinflußt – bequem mit radioaktiv markierten Polymeren messen, wie die Versuche zeigten.

Legt man diese Messungen zugrunde, ist das mathematische Konzept zur Bestimmung von Molekulargewichtsverteilungen aus gelchromatographischen Elutionskurven klar umrissen.

Phasenumwandlungen in Polymeren

Von S. Blasenbrey †, A. Baumgärtner (Vortr.), W. Dollhopf und W. Pechhold^[*]

Ausgehend von einem defektfreien Bündel aus Makromolekülen (Idealkristall) erhält man den Real Kristall durch Einführen stabiler Defekte (Kinken, Torsionsfehler, Jogs und Falten), die mit den intra- und intermolekularen Potentialen verträglich sind. Die kooperativ-statistische Behandlung dieses Bündels zeigt unter gewissen Voraussetzungen eine Phasenumwandlung 1. Ordnung, die sich durch eine sprunghafte Änderung der Defektkonzentrationen auszeichnet. Am Beispiel Polyäthylen können die Umwandlungsdaten (T_m , ΔH_m , ΔV_m), der Ausdehnungskoeffizient und die Kompressibilität der Schmelze samt deren Druckabhängigkeiten quantitativ erklärt werden. Die berechnete Nahordnung im Bündelmodell steht im Einklang

[*] Dr. S. Blasenbrey †, A. Baumgärtner, W. Dollhopf und Prof. Dr. W. Pechhold
Universität Ulm, Abteilung für Experimentelle Physik II
7 Stuttgart 80, Pfaffenwaldring 35