

setzung haben die Versuche in stärker alkalischem Gebiet etwas Vorsprung (etwa 90% Verseifung gegenüber etwa 80%). Es mag dies auch an der durch eine andere Pufferzusammensetzung bedingten Milieuänderung liegen (im 100-ccm-Ansatz 3 ccm 2.5 n Puffer mit pH 9.5 bzw. 49.5 ccm 2.5 n Puffer mit pH 8, enthaltend 1.5 ccm 2.5 n  $\text{NH}_4\text{OH}$  und 1.5 ccm 2.5 n  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösg. bzw. 1.5 ccm 2.5 n  $\text{NH}_4\text{OH}$  und 48.0 ccm 2.5 n  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösg.).

Zum Schluß verweisen wir auf die bereits weiter oben belegte Tatsache, daß auch noch bei schwach saurer Reaktion (pH 5.5), bei der das Estersalz praktisch noch ungelöst ist, die Hydrolyse vor sich geht, wenn auch mit verminderter Geschwindigkeit. Ob der Geschwindigkeitsunterschied bei der Verseifung der Präparate S und A (24 Std.: 19.1% bzw. 13.5%) eine Folge des Darstellungsverfahrens ist und reproduziert werden kann oder ob zufällige Einflüsse bei der Darstellung und Entwässerung der Präparate die Ursache sind, ist nicht untersucht.

## 77. Eugen Bamann und Elfriede Nowotny: Über die Auswirkung der Salzbildung auf die Stabilität von Phosphorsäureestern (Zur Kenntnis induzierender Wirkungen auf die Stabilität von Estern)\*).

[Aus dem Pharmazeut. Institut der ehemaligen Deutschen Karls-Universität in Prag.]  
(Eingegangen bei der Redaktion der Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft am 13. Februar 1945.)

Die Untersuchung vermittelt neue Erkenntnisse über die Auswirkung der Salzbildung auf die Stabilität von Phosphorsäureestern. Sie klärt zugleich den Reaktionsmechanismus eines von E. Bamann und M. Meisenheimer im Jahre 1938 aufgefundenen Vorgangs auf, der darin besteht, daß Phosphorsäureester in Anwesenheit gewisser Metallsalze, besonders der seltenen Erden, in wäßrigem alkalischem Medium einer raschen Verseifung unterliegen. Dazu liefert sie einen allgemeinen Beitrag auf dem Gebiet der induzierten Reaktionen.

Diese Abhandlung soll den Mechanismus der von uns vor einigen Jahren als „phosphatatische Wirkung von Hydrogelen“ bezeichneten Erscheinung aufklären, daß Phosphorsäureester bei Anwesenheit gewisser Metallsalze, besonders der seltenen Erden, in alkalischem wäßrigem Medium einer raschen Verseifung unterliegen.

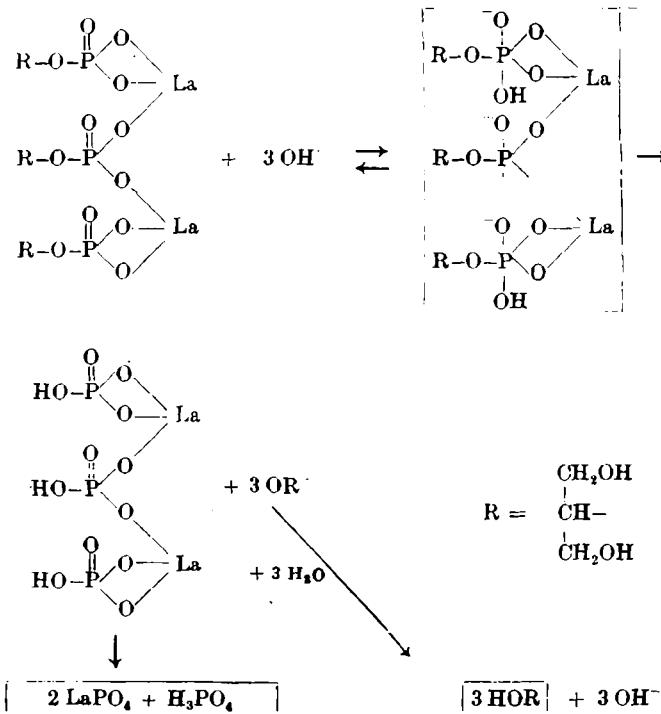
Daß es sich hierbei um einen katalytischen Vorgang handelt, war ein eindeutiges Ergebnis bereits der ersten Untersuchung. Als Katalysator faßten wir die unter den jeweiligen Bedingungen sich bildenden Hydroxyd-Gele bzw. -Sole auf. Die Erscheinung ist als Wirkung „kolloidaler Metallhydroxyde“ in die Literatur eingegangen<sup>1)</sup>. Daß Änderungen der äußeren Reaktionsbedingungen zu Systemen oft beträchtlich veränderter Aktivität führen, erklärten wir mit der (in physikalischer oder chemischer Hinsicht) jeweils verschiedenen Zustandsform des Hydroxyds. Später hat die von E. Heumüller<sup>2)</sup> in unserem Laboratorium durchgeführte Untersuchung Anhaltspunkte dafür erbracht, daß im Reaktionsablauf eine salzartige Verbindung aus dem Metallhydroxyd und dem Phosphorsäureester als Zwischenprodukt auftritt und wahrscheinlich auch das zerfallende Zwischenprodukt ist. Unser Bemühen, diese Verbindung zu gewinnen und in ihren Eigenschaften kennenzulernen, führte zu der präparativen Darstellung von Lanthanglycerinphosphat, dem unab-

\* ) VII. Mitteil. der in B. 71, 1711, 1980, 2086, 2233 [1938], B. 81, 442, 451 [1948] veröffentlichten Untersuchungsreihe.

<sup>1)</sup> G. M. Schwab u. F. Rost in G. M. Schwab, Handb. der Katalyse, III. Bd., Wien 1941, S. 545. <sup>2)</sup> Dissertat. Tübingen, 1941.

hängig von den äußeren Bedingungen der Darstellung die Zusammensetzung  $\text{La}_2(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_6\text{P})_3$  zukommt. Dieses Estersalz unterliegt, wie in der vorstehenden Abhandlung dieser Reihe gezeigt wurde, in der Tat der Verseifung, wenn es im schwach sauren, neutralen oder alkalischen wäßrigen Medium suspendiert wird.

Demnach ist es die Salzbildung<sup>3)</sup> bzw. die damit einhergehende induzierende Wirkung, die das Instabilwerden der Esterbindung in dem Molekül verursacht<sup>4)</sup>. Mit dieser Erkenntnis ist nicht nur der Schlüssel zu dem hier vorliegenden Reaktionsmechanismus, sondern auch ein allgemeiner Beitrag auf dem Gebiete der induzierten Reaktionen gegeben.



Dem eigentlichen Vorgang der Phosphorsäureesterhydrolyse lässt sich der Chemismus zugrunde legen, den der Reaktionsmechanismus von S. C. Datta, I. N. E. Day und Ch. K. Ingold<sup>5)</sup> oder derjenige von Th. M. Lowry<sup>6)</sup> ent-

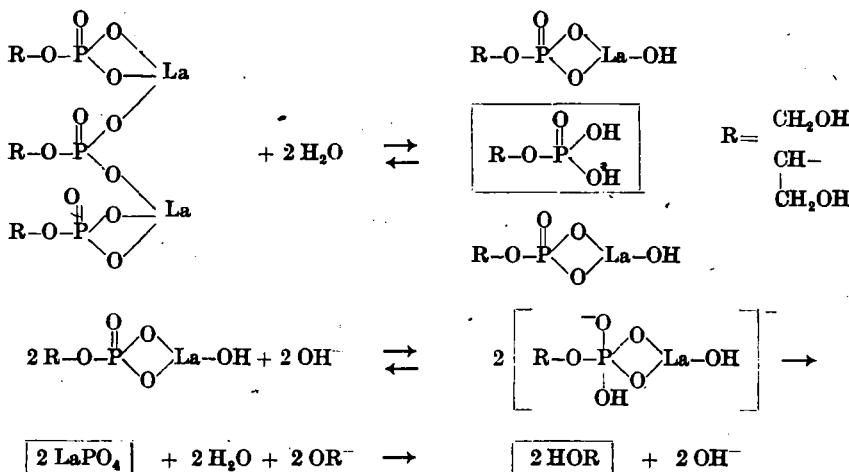
<sup>3)</sup> Über undissozierte Salze als Arrheniussche Zwischenverbindungen bei der homogenen Katalyse in Lösung siehe bei G. M. Schwab, Katalyse vom Standpunkt der chemischen Kinetik, Berlin 1931, S. 77 u. 85.

<sup>4)</sup> Die Reaktion kann wegen Bildung eines hauptvalenzmäßigen Zwischenproduktes der von W. Langenbeck als Hauptvalenzkatalyse bezeichneten Gruppe katalytischer Vorgänge zugerechnet werden (s. W. Langenbeck, B. 60, 930 [1927]; W. Langenbeck, Die organ. Katalysatoren und ihre Beziehungen zu den Fermenten, Berlin 1935; ferner W. Langenbeck in F. F. Nord u. R. Weidenhagen, Handb. der Enzymologie, Leipzig 1940, S. 325 sowie in E. Bamann u. K. Myrbäck, Die Methoden der Fermentforschung, Leipzig 1941, New York 1945, S. 2745; vergl. a. G. Triem in G. M. Schwab, Handb. der Katalyse, Bd. VII, Wien 1943, S. 171).

<sup>5)</sup> Journ. chem. Soc. London 1939, 838; s. a. E. H. Ingold u. Ch. K. Ingold, ebenda 1932, 756. <sup>6)</sup> Journ. chem. Soc. London 1925, 1379.

wickeln. Danach vollzöge sich die alkalische Verseifung des Lanthanglycerinphosphats nach dem Reaktionsschema auf S. 456<sup>7)</sup>.

Da in dem neutralen Salz  $\text{La}_2(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_6\text{P})_3$  alle drei P-Atome die gleiche Anlagerungsmöglichkeit für je ein Hydroxyl-Ion bieten, müßte es zur Abspaltung von 3 Mol. Phosphorsäure, also der gesamten Phosphorsäure, aus 1 Mol.  $\text{La}_2(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_6\text{P})_3$  kommen. Nach den Ergebnissen unserer vorstehenden Untersuchung führt die katalytische Verseifung jedoch nur zur Abspaltung von 2 Mol. Phosphorsäure; dies bedeutet Hydrolyse des Esters zu 66.7% bei 100-proz. Verbrauch des im Lanthanglycerinphosphat vorhandenen Lanthans unter Bildung von Lanthanphosphat. Das neutrale Salz  $\text{La}_2(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_6\text{P})_3$  bzw. sein Hydroxyl-Ionen enthaltendes Anlagerungsprodukt ist demnach nicht das eigentliche, zerfallbare Zwischenprodukt. Dieses geht aber aus ihm hervor. Es ist ein basisches Salz, das sich wie andere basische Lanthansalze<sup>8)</sup> infolge Hydrolyse zu einem bestimmten Anteil bildet und in kolloidalem Zustand die Reaktionsform darstellt. Nachstehendes Reaktionsbild gibt den Mechanismus des Gesamtvorgangs wieder und trägt dem tatsächlichen Endergebnis der Verseifung: 1 Mol. Lanthanglycerinphosphat  $\rightarrow$  2 Mol.  $\text{LaPO}_4$  + 2 Mol. Glycerin + 1 Mol. Glycerinphosphorsäure Rechnung.



In obigem Reaktionsbild kommt zum Ausdruck, daß bei der Verseifung des Phosphorsäureesters die Acyl-Sauerstoff-Bindung gelöst wird, wie dies bei einer Reihe von Carbonsäureestern bewiesen ist. Da nach den Untersuchungen von J. Kenyon und H. Phillips<sup>9)</sup> bei der Spaltung der Sulfonsäureester die Alkyl-Sauerstoff-Bindung aufgeht, bedarf die gemachte Annahme noch der experimentellen Entscheidung.

7) Gegen die Anwendung der Formulierung auf Phosphorsäure-Abkömmlinge besteht, worauf in freundlicher Weise Herr Prof. Dr. R. Klement, fragt, hinwies, allerdings das Bedenken, daß die Koordinationszahl 5 für P nicht bekannt ist. Gleichwohl muß aber doch eine Anlagerung des OH-Ions an das Estermolekül, wenn auch nur für kurze Zeit, zustande kommen, wenn Verseifung eintreten soll.

8) Siehe z.B. D. Krüger u. E. Tschirch, B. 62, 2776 [1929]; J. M. Kolthoff u. R. Elmquist, Journ. Amer. chem. Soc. 53, 1232 [1931] u. a.

9) J. Kenyon, H. Phillips, H. G. Turley, Journ. chem. Soc. London 1925, 399; H. Phillips, ebenda 1925, 2565; G. A. Z. Gough, H. Hunter, J. Kenyon, ebenda 1926, 2052.

Es ist bekannt, daß das Glycerinphosphat-Ion sehr widerstandsfähig gegen die Einwirkung von Hydroxyl-Ionen ist; selbst bei höheren Temperaturen bleibt die Esterbindung starken Laugen gegenüber stabil. Wasserstoff-Ionen dagegen bewirken, besonders bei höherer Temperatur, Hydrolyse<sup>10)</sup>. Die Verseifbarkeit durch H-Ionen und der merkwürdige Stabilitätsunterschied der Esterbindung im Falle des Ions einerseits und des Salzes andererseits gegenüber OH-Ionen sind mit Hilfe der Elektronentheorie der chemischen Bindung zu erklären. Elektronenabstoßende Atome oder Atomgruppen erschweren die Annäherung des Hydroxyl-Ions und erleichtern die Heranbringung des Wasserstoff-Ions an das Estermolekül; sie verzögern oder verhindern also die alkalische und begünstigen die saure Verseifung. Im Falle der Glycerinphosphorsäure kann der für die alkalische Verseifung ungünstige Induktionseffekt der Säuregruppe durch Salzbildung aufgehoben werden; die damit verbundene, geringfügige konstitutionelle Änderung<sup>11)</sup> in dem reagierenden Molekül führt zu leichter Verseifbarkeit. Es ist zu erwarten, daß außer „Salzbildung“ auch andere Abwandlungen des Ester-Ions, welche den Induktionseffekt der Säuregruppe verringern oder aufheben, die Stabilität der Esterbindung gegenüber OH-Ionen herabsetzen. Leichte alkalische Verseifbarkeit ist z.B. zu fordern für Anidophosphorsäureester oder für die Ester vom Typus P(OR)<sub>5</sub>. In Wirklichkeit trifft diese Voraussage auch zu<sup>12)</sup>.

Zur Förderung der Zusammenhänge auf dem Gebiete der Esterhydrolyse sei ein Vergleich dieser Verhältnisse mit den bei den Carbonsäureestern bekannt gewordenen Tatsachen angestellt<sup>13)</sup>. Während nach den Untersuchungen von M. H. Palomaa<sup>14)</sup> sowie von A. Skrabal<sup>15)</sup> und ihren Mitarbeitern bei der sauren Verseifung von Estern der Oxalsäure und ihren Homologen bis zur Sebacinsäure das Verhältnis der Geschwindigkeitskoeffizienten  $k_1/k_2$  durchweg = 2 ist (die Atomgruppen -COOR und -COOH beeinflussen sich gegenseitig nicht), ist nach A. Skrabal und E. Singer<sup>16)</sup> die alkalische Verseifung dieser Ester wesentlich verwickelter: Das Konstantenverhältnis beträgt bei der Oxalsäure mit den unmittelbar benachbarten Carboxylgruppen etwa 17000; mit der Anzahl der zwischen den beiden Carboxylen eingeschobenen Methylengruppen sinkt es anfangs rasch ab, um sich dem Grenzwert 2 allmählich zu nähern. Der Grenzwert würde der unabhängigen und unbeeinflußten Verseifung der beiden identischen Estergruppen entsprechen. Für den großen Unterschied zwischen den Quotienten der Geschwindigkeits-

<sup>10)</sup> Vergl. hierzu u. a. E. Mercks Jahresber. 1894, S. 29; R. H. A. Plimmer, Biochem. Journ. 7, 72 [1913]; P. Fleury u. Z. Sutu, Bull. Soc. chim. France [4], 39, 1716 [1926]; E. Bamann u. M. Meisenheimer, B. 71, 1711 [1938]; P. E. Verkade, J. C. Stoppeleburg u. W. D. Cohen, Rec. Trav. chim. Pays-Bas 59, 886 [1940]; R. Robison u. M. G. Macfarlane in E. Bamann u. K. Myrback, Die Methoden der Fermentforschung, Leipzig 1941, New York 1945, S. 296.

<sup>11)</sup> Über den Einfluß konstitutioneller Änderungen auf Reaktionsgeschwindigkeiten s. A. Skrabal u. A. M. Hugetz, Monatsh. Chem. 47, 37 [1926]; A. Skrabal u. W. Stockmair, ebenda 68, 253 [1933].

<sup>12)</sup> Wir verweisen auf die Untersuchungen von H. N. Stokes, Amer. chem. Journ. 15, 198 [1893]; 16, 123 [1894]; L. Anschütz u. W. Broeker, B. 59, 2848 [1926], in denen die genannten Ester als verhältnismäßig instabil beschrieben sind.

<sup>13)</sup> Einen eindrucksvollen Überblick über das Gesamtgebiet der Säure-Basen-Katalyse, der den Bedürfnissen der organ. Chemie besonders Rechnung trägt, verdanken wir H. Schmid, in G. M. Schwab, Handb. der Katalyse, VII. Bd., Wien 1943, S. 1; vergl. dazu auch die anschließende Übersicht von G. Hesse: Katalyse durch Komplexbildung; s. ferner W. Frankenburger, Katalyt. Umsetzungen, Leipzig 1937.

<sup>14)</sup> Ann. Acad. Sci. fennicae, Ser. A 10, Nr. 16 [1917].

<sup>15)</sup> Monatsh. Chem. 38, 29 [1917]; A. Skrabal u. D. Mrazek, ebenda 39, 495, 697 [1918]; A. Skrabal u. A. Matievic, ebenda 45, 39 [1924].

<sup>16)</sup> Monatsh. Chem. 41, 339 [1920].

koeffizienten  $k_1/k_2$  bei der alkalischen Verseifung der Ester von Oxalsäure und ihren Homologen ist, wie Ch. K. Ingold<sup>17)</sup> zeigen konnte, die abstoßende Wirkung der  $\text{-COO-}$ -Gruppe der Estersäure auf das an der reaktionsfähigen Stelle angreifende Hydroxyl-Ion verantwortlich zu machen.

In bezug auf die enzymatische Esterverseifung hat eine Untersuchung von E. Baumann u. E. Rendlen<sup>18)</sup> Einblick in die entsprechenden Verhältnisse gebracht. Ester, die in ihrer Nachbarschaft eine Säuregruppe (Carboxyl-, Sulfonsäure-Gruppe) haben, werden in alkalischem Milieu durch Esterasen nicht gespalten (z.B. Monoester der Malonsäure und Bernsteinsäure, ferner Laktymilchsäure, Acetylmandelsäure, Acetylsalicylsäure, Salicylsalicylsäure und Monoester der *p*-Sulfo-benzoësäure). Die Nichtspaltbarkeit dieser Ester beruht auf mangelnder Affinität zu den Organlipasen. Hier ist es nun auf verschiedenem Wege möglich, den die Anlagerung der Lipasen verhindern Einfluß der elektro-negativen Säuregruppe bzw. der negativen Ladung der  $\text{-COO-}$ -Gruppe herabzusetzen bzw. auszuschalten, nämlich durch größere Entfernung der induzierenden Gruppe von der Ester-Gruppe, durch die Überführung der freien Carboxyl-Gruppe in die entsprechende Ester-Gruppe (Diester), durch Überführung der freien Carboxyl-Gruppe in ihr entsprechendes Säureamid, durch Begünstigung des undissozierten Zustandes der Carboxyl-Gruppe, also durch Zurückdrängung der elektro-negativen Wirkung dieser Gruppe.

Die Induktionswirkung äußert sich bei der enzymatischen Esterverseifung auch hinsichtlich der Lage des pH-Spaltungsoptimums saurer Ester. Bei sehr großer Entfernung der  $\text{-COO-}$ -Gruppe von der Esterbindung liegt das Optimum der lipatischen Verseifung im schwach alkalischen Bereich, um sich mit Abnehmen der Entfernung in das schwach saure Gebiet zu verschieben. Beispielsweise wird der Monoäthylester der Sebacinsäure bei pH 7.3, derjenige der Korksäure bei pH 6.3 optimal verseift; der Monomethylester der Malonsäure, der in Anbetracht der geringen Entfernung der Carboxyl-Gruppe enzymatisch außerst langsam gespalten wird, hat das Optimum bei pH 4.2.

Aus dieser Gegenüberstellung erkennt man, daß unter den aus der Elektronentheorie der chemischen Bindung sich ergebenden Gesichtspunkten eine einheitliche Betrachtung der erwähnten Vorgänge auf den erörterten Gebieten der Esterhydrolyse möglich ist.

Es ist naheliegend, für den von uns untersuchten Vorgang nun auch die Frage zu prüfen, wie sich die Salzbildung der Glycerinphosphorsäure mit anderen Metallhydroxyden auswirkt. Als Grundlage für die Beantwortung dieser Frage können die Ergebnisse der II. Mitteilung dieser Untersuchungsreihe dienen: „Von der Gruppe der seltenen Erden wurden alle geprüften Hydrogele wirksam gefunden, nämlich die Hydroxyde des Cers, des Praseodyms, des Neodyms, des Samariums und des Erbiums. Wirksam sind ferner die Hydroxyde des Yttriums, weiter des Zirkoniums und des Thoriums.“ Nach unseren jetzigen Kenntnissen des Reaktionsmechanismus müssen aber gewisse Metallsalze, die in den bei pH 8—9.5 durchgeföhrten Versuchen der II. Mitteilung praktisch wirkungslos gefunden wurden, in neutralem oder schwach saurem Medium nicht ebenfalls ohne Einfluß sein. Für bestimmte Metallsalze kann stärker alkalisches Reaktionsmedium durchaus ungünstig sein infolge Ausfällung als Hydroxyd, neutrales oder schwach saures Medium dagegen günstig für die Bildung zum Zerfall neigender Zwischenprodukte. Basische Salze gewisser Metalle sind sogar bis in das stärker saure Gebiet existenzfähig. Große Reaktionsgeschwindigkeiten können in diesen Bereichen allerdings nicht mehr erwartet werden. In der Tat läßt sich auch die gefolgerete Verschiebung der optimalen Wirkung nach der sauren Seite hin und die Ausdehnung der Wirkung bis in das Gebiet stärker saurer Reaktion (pH 2.5) in Versuchen mit Aluminium- und Zinksalzen und besonders eindrucksvoll in solchen mit Ferrisalzen zeigen. Als

<sup>17)</sup> Journ. chem. Soc. London 1930, 1375.

<sup>18)</sup> Ztschr. physiol. Chem. 238, 133 [1936].

praktisch ohne Einfluß kann aber auch weiterhin die Anwesenheit von Lithium-, Natrium-, Calcium-, Strontium-, Barium- und Mangan(II)-Ionen angesehen werden neben weiteren, die wir zur Untersuchung nicht oder nicht nochmals herangezogen haben.

Wegen ihrer fermentähnlichen Wirkung hat man, wie schon eingangs erwähnt, in den wirksamen Metallhydroxyden Phosphatase-Modelle zusehen. Diese Erkenntnis unserer früheren Arbeiten wird durch die jetzige Untersuchung vertieft, indem sie zeigt, daß die Reaktions-Zwischenverbindung ein aus gewissen Metallhydroxyden und dem Substrat hauptvalenzmäßig sich bildendes, undissoziiertes Salz ist, das dann in die Hydrolyseprodukte zerfällt. Die Frage nach dem Zusammenhang der enzymatischen und enzymähnlichen Verseifung erfährt eine willkommene Förderung durch eine Folgerung, die G. E. Delory und E. I. King<sup>19)</sup> aus ihrer jüngsten Untersuchung über enzymatische Hydrolyse von Phosphorsäureestern ziehen: Die Autoren schließen, daß das Enzym die Eigenschaft einer schwachen Base besitzt, deren undissoziiertes Molekül mit dem Substratmolekül die zerfallende Zwischenverbindung liefert. Bei dieser so weitgehenden Übereinstimmung der Ergebnisse liegt es nahe, auch bei der enzymatischen Verseifung von Phosphorsäureestern eine Hauptvalenzkatalyse anzunehmen.

### Beschreibung der Versuche.

Für unsere Versuche dienten nicht, wie in der vorstehenden Untersuchung, die vorher präparativ dargestellten und isolierten Metallglycerinphosphate; wir ließen dieselben vielmehr sich jeweils durch Versetzen der betreffenden Metallsalz-Lösung mit einer Lösung von Natriumglycerinphosphat bilden. Im Anschluß daran erfolgte dann die Einstellung der gewünschten Wasserstoff-Ionen-Konzentration. Die Versuchsreihen sind in zwei verschiedenen Konzentrationen durchgeführt: 0.000115 bzw. 0.0023 Mol Metallsalz auf 100 ccm (Konzentration 1 bzw. Konzentration 20). Das bedeutet 0.0936 g bzw. 1.872 g  $\text{Na}_2\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_6\text{P} + 3\text{H}_2\text{O}$  „Merck“ und beispielsweise 0.1 g bzw. 2.0 g  $\text{La}(\text{NO}_3)_3 + 6\text{H}_2\text{O}$  „Merck“. Diese Substratmengen enthalten 24.59 bzw. 491.8 mg  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Die Verseifung macht jedoch (nach den Ergebnissen der vorstehenden Untersuchung) bei 66.7% Spaltung, entsprechend 16.39 bzw. 327.8 mg  $\text{P}_2\text{O}_5$ , halt. Bei längerer Versuchsdauer wurden den Ansätzen zum Zweck der Sterilhaltung einige Tropfen Toluol zugesetzt.

### Verseifung von Lanthanglycerinphosphat.

In der Tafel 1 sind Versuchsergebnisse wiedergegeben, die ein Bild der Verseifungsgeschwindigkeit des Estersalzes bei einer Konzentration 0.000115 bzw. 0.0023 Mol  $\text{La}_2(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_6\text{P})_3/100\text{ ccm}$  im alkal., neutralen und schwach sauren Bereich vermitteln. Proportionalität des Umsatzes in den Versuchen der Konzentration 1 und 20 kann nicht erwartet werden, weil die äußere Zustandsform der Systeme nicht gleich ist. Bemerkenswert ist, daß bei beiden Konzentrationen die Reaktionsgeschwindigkeit bei  $\text{pH}$  3.5 bedeutend geringer (1500 bis 3000 mal) ist, als bei  $\text{pH}$  8.0. In den diesbezüglichen Versuchen wird bei der Konzentration 1 eine Verseifung entsprechend 0.31 mg  $\text{P}_2\text{O}_5$  bei  $\text{pH}$  3.5 in 30 Tagen, bei  $\text{pH}$  8.0 in 30 Min. erreicht: Der Quotient der Umsatzgeschwindigkeiten ist 1440; in den Versuchen bei der Konzentration 20 beträgt der Quotient 3085 (3.94 mg in 30 Tagen bzw. in 14 Min.). Vergleicht man die Verseifungsgeschwindigkeit von frisch gefälltem Lanthanglycerinphosphat (Versuche dieser Untersuchungsreihe) und zuerst getrockneten und dann suspendierten Präparaten (Versuche der vorstehenden Untersuchung), so ist sie verständlicherweise im ersten Falle beträchtlich größer: In den Versuchen der Konzentration 1 wird bei  $\text{pH}$  8 eine Spaltung entsprechend etwa 0.60 mg  $\text{P}_2\text{O}_5$  im Falle von frischgefälltem Lanthanglycerinphosphat in 1 Stde. (Tafel 1), im Falle des isolierten Trocken-Präparats in 5 Std. (Vers. der Tafel der VI. Mitteil.) erreicht.

<sup>19)</sup> Biochem. Journ. 37, 547 [1943].

Tafel 1. Verseifung von Lanthanglycerinphosphat bei verschiedener Wasserstoff-Ionen-Konzentration.

(Der Vers.-Ansatz von 100 ccm enthält bei der Konzentration 1 0.000115 Mol, bei der Konzentration 20 0.0023 Mol Lanthanglycerinphosphat; zur Einstellung des pH sind zugesetzt: in Vers. 1 bzw. 2 bzw. 5 0.3 bzw. 0.12 bzw. 4.5 ccm  $n$  HCl, in Vers. 3 bzw. 4 bzw. 6 bzw. 7 bzw. 8 1.2 bzw. 2.5 bzw. 4.0 bzw. 6.0 bzw. 20.0 ccm 0.1  $n$  NH<sub>4</sub>OH;  $t$  37°. Die Zahlen bedeuten mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.)

Versuch	1	2	3	4	5	6	7	8
Versuchs-Dauer	Konzentration 1				Konzentration 20			
	pH 3.5 fast klar	pH 4.2 leichte Opalesc.	pH 7.0 Opalesc.	pH 8.0 leicht flockig	pH 3.5 Opalesc.	pH 6.5 Gel	pH 6.8 Gel	pH 8.0 Gel
1/4 Stde.	—	—	—	—	—	—	—	4.50
1/2 "	—	—	0.39	0.32	—	2.05	4.05	7.90
1 "	—	—	0.62	0.59	—	2.85	6.65	13.20
5 Std.	—	—	1.49	1.50	—	—	—	—
5 Tage	0.05	0.19	—	—	0.66	—	—	—
14 "	0.14	0.48	—	—	1.70	—	—	—
30 "	0.31	—	—	—	3.94	—	—	—

Verseifung von anderen Metallglycerinphosphaten.

Die Tafeln 2, 3 und 4 verzeichnen die Ergebnisse der Verseifung von Aluminium-, Zink- und Eisen(III)-glycerinphosphat bei verschiedener Wasserstoff-Ionen-Konzentration. Im Falle des Aluminiumsalzes erfolgt — anders als beim Lanthansalz — die optimale Spaltung nicht bei pH > 7, sondern um pH 6.5. Ähnlich liegen die Verhältnisse beim Zinksalz; hier fällt außerdem die verhältnismäßig noch recht beträchtliche Verseifung in stärker saurem Gebiet, bei pH 3.5, auf. Auch beim Eisen(III)-Salz liegt die optimale Verseifungszone um oder unter pH 7. Bei diesen Versuchen zeigt sich noch, daß das pH-Optimum der Verseifung von der Substratkonzentration bzw. den damit zusammenhängenden äußeren Bedingungen abhängen kann: In den Versuchen der Konzentration 1 ist pH 7.3 günstiger als pH 3.5, in den Versuchen der Konzentration 20 dagegen pH 3.5 günstiger als pH 7. Daß sich in den Versuchen mit hoher Substratkonzentration pH 7 als schon sehr ungünstig erweist, hängt ohne Zweifel mit den äußeren Reaktionsbedingungen zusammen; es bildet sich in diesem Ansatz eine voluminöse, dunkelbraune, sich absetzende Fällung (wohl Ferrihydroxyd), über der eine fast farblose Flüssigkeit entsteht.

Zusatz von Lithium-, Calcium-, Strontium-, Barium- und Mangano-Salzen zu Natrium-glycerinphosphat-Lösungen ändert an der Stabilität der Esterbindung nichts.

Tafel 2. Verseifung von Aluminiumglycerinphosphat bei verschiedener Wasserstoff-Ionen-Konzentration.

(Der Vers.-Ansatz von 100 ccm enthält 0.000115 Mol Aluminiumglycerinphosphat; zur Einstellung des pH sind zugesetzt: in Vers. 1 bzw. 2 bzw. 3 bzw. 4 bzw. 5 bzw. 6 0.0 bzw. 0.8 bzw. 3.4 bzw. 4.5 bzw. 6.6 bzw. 8.0 ccm 0.1  $n$  NH<sub>4</sub>OH;  $t$  37°. Die Zahlen bedeuten mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.)

Versuch	1	2	3	4	5	6
Versuchs-Dauer	pH 4.2 klar	pH 5.0 klar	pH 6.0 opalesc.	pH 6.5 opalesc.	pH 7.5 schwach flockig	pH 8.5 flockig
	0.03	0.05	0.18	0.42	0.30	0.10

Tafel 3. Verseifung von Zinkglycerinphosphat bei verschiedener Wasserstoff-Ionen-Konzentration.

(Der Vers.-Ansatz von 100 ccm enthält 0.0023 Mol Zinkglycerinphosphat; zur Einstellung des pH sind zugesetzt: in Vers. 1 5.9 ccm *n* HCl, in Vers. 3 2.2 ccm *n* NH<sub>4</sub>OH; Vers. 2 ohne Zusatz; t 37°. Die Zahlen bedeuten mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.)

Versuch	1	2	3
Versuchs-Dauer	pH 3.5 klar	pH 6.4 feinkryst. Abscheidung	pH 7.0 flockige, dann kryst. Abscheidung
5 Tage	0.86	1.15	0.39
14 "	2.30	2.00	0.70

Tafel 4. Verseifung von Eisen(III)-glycerinphosphat bei verschiedener Wasserstoff-Ionen-Konzentration.

(Der Vers.-Ansatz von 100 ccm enthält 0.000115 bzw. 0.0023 Mol Ferriglycerinphosphat; zur Einstellung des pH sind zugesetzt: in Vers. 1 10 ccm *n* HCl, in Vers. 3 bzw. 4 bzw. 6 bzw. 7 0.9 bzw. 2.0 bzw. 2.0 bzw. 16.0 ccm *n* NH<sub>4</sub>OH; Vers. 2 und 5 ohne Zusatz; t 37°. Die Zahlen bedeuten mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.)

Versuch	1	2	3	4	5	6	7
Konzentration 1		Konzentration 20					
Versuchs-Dauer	pH 1.0 fast farblose Lösung	pH 3.5 gelbliche Lösung	pH 7.3 orange- farbene Lösung	pH 8.4 dunkel- braune Fällung, Flüssigk. farblos	pH 2.5 weißliche Trübung, Flüssigk. hellgelb	pH 3.5 weißliche Fällung, Flüssigk. hellgelb	pH 7.0 dunkel- braune Fällung, Flüssigk. farblos
5 Tage	0.06	0.42	0.94	0.07	0.31	0.64	0.41
14 "	0.12	0.95	2.58	0.13	0.90	1.71	1.38