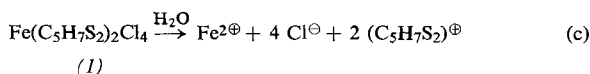
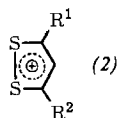


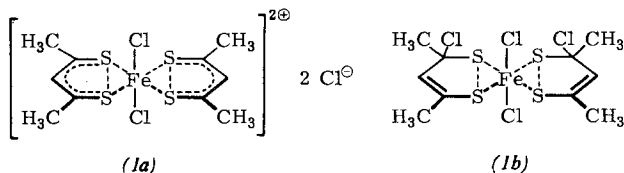
gemäß Gl. (c) unter Entfärbung; das gebildete Fe^{2+} wurde



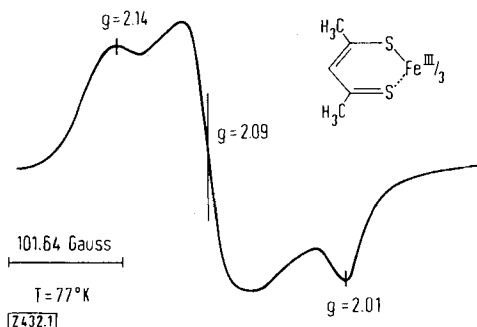
colorimetrisch als $\text{Fe}(\text{bipyridyl})^{2+}$ erfaßt. $(\text{C}_5\text{H}_7\text{S}_2)^+$ wurde als (2), $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{CH}_3$, identifiziert, als erstes stabiles Dithioliium-Kation mit rein aliphatischen Substituenten. Es ist gegen Hydrolyse bei $\text{pH} \leq 4$ stabil. Struktur (2) konnte durch ^1H -NMR-Spektroskopie [nur zwei Signale bei 8,4 bzw. 3,1 ppm; Intensität 1:6], durch Vergleich des UV-Spektrums [$\lambda_{\text{max}} = 288, 265 \text{ nm}$; $\epsilon = 9300, 7200 \text{ mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$] mit dem des bekannten (2), $\text{R}^1=\text{C}_6\text{H}_5$, $\text{R}^2=\text{H}$ [$\lambda_{\text{max}} = 356, 287 \text{ nm}$; $\epsilon = 19000, 3800 \text{ mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$] [6] und durch Isolierung des Pikrats $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{O}_7\text{N}_3\text{S}_2$, $\text{Fp} = 113^\circ\text{C}$, bewiesen werden.



Der schwarzrote kristalline Komplex (1) könnte der Zusammensetzung nach die Struktur $(\text{C}_5\text{H}_7\text{S}_2)_2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4$ haben. Die Farbe weist jedoch auf die $\text{SS}-\text{Fe}^{\text{II}}$ -Koordination hin, da sowohl $\text{C}_5\text{H}_7\text{S}_2^+$ wie auch das tetraedrische, kaum polarisierbare FeCl_4^{2-} -Ion farblos sind. Wir möchten daher die Strukturen (1a) oder (1b) als wahrscheinlichste vorschlagen.



Reduziert man die farblose wäßrige Lösung von (1) (siehe Gl. (c)) mit $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ oder NaBH_4 , so erhält man kristallines rotbraunes $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{C}_5\text{H}_7\text{S}_2)_3$. Dieses löst sich leicht in CHCl_3 und kann durch Schütteln mit wäßrigem $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ weiter zum autoxidablen $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{C}_5\text{H}_7\text{S}_2)_2$ reduziert werden. $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{C}_5\text{H}_7\text{S}_2)_3$ zeigt die für ein asymmetrisches „low-spin“-



d^5 -Oktaeder zu erwartenden ESR-spektroskopischen Eigenschaften (Abb. 1), während $\text{Fe}(\text{C}_5\text{H}_7\text{S}_2)_2$ und (1) ESR-inaktiv sind.

Bei der Reduktion von (1) wird also die formale Oxidationsstufe des Eisens erhöht. Dieser Modellfall könnte zur Erklärung des scheinbaren Paradoxons herangezogen werden, demzufolge die ESR-Signale ($g < 2$) der redoxaktiven Flavoproteine einem „oxidierten“ Fe-Zustand zugehören (low-spin- d^5), obwohl sie erst bei Reduktion des Gesamtsystems auftreten. Die Elektronenbilanz dieser Reduktion wird also nicht so sehr durch das Zentralatom wie durch die Akzeptorliganden bestimmt, eine Tatsache, die beim Studium der

Stöchiometrie der Fe-Protein-Oxidoreduktion stets in Rechnung gestellt werden sollte.

Eingegangen am 26. Januar 1967 [Z 432]

[*] Dipl.-Chem. K. Knauer und Doz. Dr. P. Hemmerich
Institut für Anorganische Chemie der Universität
Basel (Schweiz), Spitalstraße 51
Doz. Dr. J. W. D. van Voorst
Institut für Physikalische Chemie der Universität
Amsterdam (Holland)

[**] Für finanzielle Unterstützung danken wir dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der naturwissenschaftlichen Forschung sowie der Niederländischen Vereinigung für Grundlagenforschung (Z.W.O.), für die Elementaranalysen dem mikroanalytischen Labor der CIBA Aktiengesellschaft Basel (Dr. W. Padowetz).

[1] E. Bayer u. W. Parr, Angew. Chem. 78, 824 (1966); Angew. Chem. internat. Edit. 5, 840 (1966); B. B. Buchanan: Structure and Bonding. Springer-Verlag, Berlin 1966, S. 109.

[2] Zur Übersicht E. C. Slater: Flavins and Flavoproteins. Elsevier, Amsterdam 1966, BBA-Library Vol. 8; P. Hemmerich, C. Veeger u. H. C. S. Wood, Angew. Chem. 77, 699 (1965); Angew. Chem. internat. Edit. 4, 671 (1965).

[3] H. Brintzinger, G. Palmer u. R. H. Sands, Proc. nat. Acad. Sci. USA 55, 397 (1966); J. D. W. van Voorst u. P. Hemmerich in „International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems“, Stockholm 1966, Pergamon, im Druck.

[4] P. Hemmerich, H. Beinert u. T. Vännngard, Angew. Chem. 78, 449 (1966); Angew. Chem. internat. Edit. 5, 442 (1966); P. Hemmerich, P. Aisen, W. E. Blumberg u. J. Peisach in: Biochemistry of Copper. Academic Press, New York 1966, S. 15.

[5] Dithioacetylaceton entsteht aus Acetylaceton + H_2S ; es dimmerisiert bei Raumtemperatur sofort irreversibel, wenn es nicht durch Metall-Ionen abgefangen wird. — Chelate mit anderen Metallen (Ni^{2+} , Co^{2+} , Pd^{2+} , Pt^{2+}) wurden erstmals von R. L. Martin und J. M. Stewart, Nature (London) 210, 522 (1966), beschrieben.

[6] E. Klingsberg, J. Amer. chem. Soc. 83, 2934 (1961).

ESR-Untersuchungen an Modellkomplexen für Nicht-Häm-Eisenproteide

Von A. Röder und Ernst Bayer[*]

Eine Aussage über die Wertigkeit des Eisens in redoxaktiven Nicht-Häm-Eisenproteiden ist schwierig, wenn neben dem Eisen auch der Ligand redoxaktiv ist. In reduziertem Zustand zeigen viele dieser Eisenproteide im ESR-Spektrum g-Werte, die unterhalb dem eines freien Elektrons liegen [1]. Im ESR-Spektrum reduzierter Xanthinoxidase erscheint ein breites Signal bei $g = 1,94$ (-175°C) [1], für reduziertes Ferredoxin aus *Clostridium pasteurianum* liegen die g-Werte bei 1,89, 1,96 und 2,05 (15°K) [2, 3]. Die Bindung des Eisens an Cysteinyreste erscheint für Ferredoxin gesichert [4]. Niedermolekulare Eisenkomplexe mit schwefelhaltigen Liganden sollten daher bei entsprechender Redoxstufe ebenfalls g-Werte unter 2,0 zeigen und damit eine Aussage über die Oxidationsstufe des aktiven Zentrums im reduzierten Nicht-Häm-Eisen zulassen.

Folgende Eisenkomplexe des Cysteins, Cystins und Cysteamins ergaben g-Werte bei 1,94:

a) Oxidation des früher beschriebenen [4] Eisen(II)-Komplexes des Cysteinmethylesters unter folgenden Bedingungen:

1. Zu einer unter Sauerstoffausschluß bereiteten Lösung von Cysteinmethylester in 100 ml 0,5 M Tris-HCl-Puffer ($\text{pH} = 7,0$) werden 392 mg Mohrsches Salz gegeben. Der sofort ausfallende Cysteinmethylestereisen-Komplex wird durch Zugabe von 1 N NaOH bis $\text{pH} = 9,5$ gelöst und im ESR-Probe-röhrchen mit 0,2 ml einer 1-proz. benzolischen Jodlösung 1 Minute geschüttelt, danach sofort eingefroren und gemessen.

2. Zu einer Lösung von 227 mg Cysteamin und 392 mg Mohrschem Salz in 50 ml 1 M Tris-HCl-Puffer ($\text{pH} = 7,0$), deren pH mit 1 N NaOH auf 9,5 eingestellt wurde, gibt man eine

Lösung von 504 mg des Na-Salzes von Riboflavinmonophosphat (FMN) in 25 ml H₂O. Nach 5 Minuten wird das Gemisch in das ESR-Proberöhrchen gefüllt, eingefroren und bei -170 °C gemessen. Hier tritt zusätzlich die Absorption des Flavosemichinons bei $g = 2,00$ auf (vgl. Abb. 1b).

b) Durch Oxidation von Tricarbonyl-cystindimethylester-eisen(0) [5]:

0,2 ml einer 10^{-2} M ätherischen Lösung des Cystindimethylester-eisen(0)-Komplexes werden im ESR-Proberöhrchen mit 5 mg festem Jod versetzt, nach 20 sec Schütteln eingefroren und bei -170 °C gemessen.

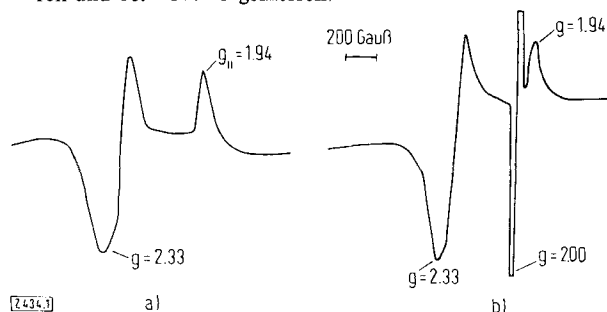
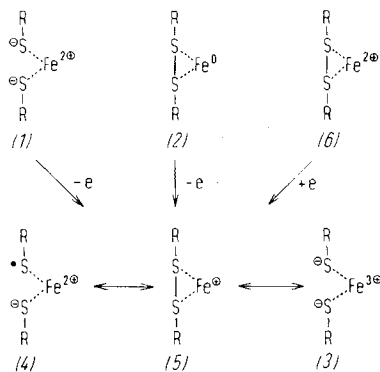


Abb. 1. a) ESR-Spektrum des Cysteinmethylester-eisen(II)-Komplexes nach Oxidation gemäß a) 1. und des Cysteinmethylesters nach Reaktion mit Eisen(III)-chlorid gemäß c), (Mod. 1000, SL 1000, SR 200 Gauß/min). b) ESR-Spektrum des nach a) 2. erhaltenen Radikalkomplexes ($g_{||} = 1,94$; $g_{\perp} = 2,3$) und des Flavosemichinon-Radikals ($g = 2,00$), (Mod. 100, Ampl. 1000, SR 250/min).

Das in Abb. 1a wiedergegebene ESR-Spektrum weist die nach Berechnungen von Kneuenbühl [6] für axiale Symmetrie der Komplexe charakteristische Form auf. Für reduziertes Nicht-Häm-Eisenprotein aus *Azotobacter vinelandii* [1] beobachtet man eine ähnliche Symmetrie.



Die Oxidationsstufen der bei a) und b) verwendeten Ausgangskomplexe sind in den Formeln (1) und (2) wiedergegeben. Der Eisen(II)-Komplex des Cysteinmethylesters (1) ist in seiner Gesamtoxidationsstufe unter Einschluß von Ligand

und Zentralatom dem Tricarbonyl-eisen(0)-Komplex des Cystinesters (2) äquivalent. Beide Komplexe werden durch Oxidation in ESR-aktive Substanzen überführt. Sofern es sich bei der Oxidation um einen Einelektronenschritt handelt, sollte das gleiche ESR-Spektrum auftreten, wenn man Eisen(III)-Salz mit Cysteinmethylester reagieren läßt; dafür kann man Komplex (3) formulieren.

c) Zu 100 ml einer 10^{-2} M Lösung von Cysteinmethylester in 0,5 M Tris-Puffer (pH = 10,5) werden unter Luftausschluß 80 mg wasserfreies Eisen(III)-chlorid gegeben. Mit 1 N NaOH bringt man den pH-Wert auf 9,5. Nach 10 min wird das Gemisch in das ESR-Proberöhrchen gefüllt, sofort eingefroren und bei -170 °C gemessen. Man erhält das gleiche ESR-Spektrum wie nach der Oxidation a) 1. (Abb. 1a).

Damit ist die Gesamtoxidationsstufe des ESR-aktiven Komplexes festgelegt. Er kann als Eisen(III)-mercaptid (3), als Eisen(II)-Radikalkomplex (4) oder als Eisen(I)-Komplex des Disulfids (5) formuliert werden. Das ungepaarte Elektron ist über Zentralion und Ligand delocalisiert. Weder die Wertigkeit des Zentralions noch die Oxidationsstufe des Liganden liegt fest.

Die Ähnlichkeit zwischen den ESR-Spektren der reduzierten Nicht-Häm-Eisenproteide und der synthetischen Eisenkomplexe legt nahe, daß die Formulierungen (3) bis (5) auch für reduziertes Nicht-Häm-Eisen zutreffen. Unterstützt werden diese Vorstellungen durch ESR-spektroskopische Untersuchungen am Bis-hexamethylbenzol-eisen(II)-tetrafluoroborat [7], am $\text{Na}_3[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$ [8] und an Eisen-Sauerstoff-Radikalkomplexen [9]. Für die oxidierte Form der Nicht-Häm-Eisenproteide ergibt sich dann die Struktur (3) eines Eisen(II)-Komplexes des Disulfids, für den auch die mit chemischen Methoden erzielten Ergebnisse sprechen.

Eingegangen am 21. Dezember 1966,
ergänzt am 18. Januar 1967

[Z 434]

[*] Dipl.-Chem. A. Röder und Prof. Dr. Ernst Bayer
Chemisches Institut der Universität
74 Tübingen, Wilhelmstraße 33

[1] H. Beinert in A. San Pietro: Non-Heme Iron Proteins. The Antioch Press, Yellow Springs, Ohio, 1965, S. 23 (dort weitere Literatur).

[2] G. Palmer, R. H. Sands u. L. E. Mortenson, Biochem. biophys. Res. Commun. 23, 357 (1966).

[3] E. Bayer, W. Parr, G. Schwörer u. A. Röder, unveröffentlicht.

[4] E. Bayer, W. Parr u. B. Kazmaier, Arch. Pharmaz., Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 298, 196 (1965); vgl. auch Angew. Chem. 78, 824 (1966); Angew. Chem. internat. Edit. 5, 840 (1966).

[5] E. Bayer u. A. Röder, unveröffentlicht.

[6] F. K. Kneuenbühl, J. Chem. Physics 33, 1074 (1960).

[7] H. Brintzinger, G. Palmer u. R. H. Sands, J. Amer. chem. Soc. 88, 623 (1966).

[8] H. Beinert, P. Hemmerich u. J. D. W. Van Voorst, Biochim. biophysica Acta 96, 530 (1965).

[9] W. E. Blumberg u. J. Peisach in A. San Pietro: Non-Heme Iron Proteins. The Antioch Press, Yellow Springs, Ohio, 1965, S. 101.