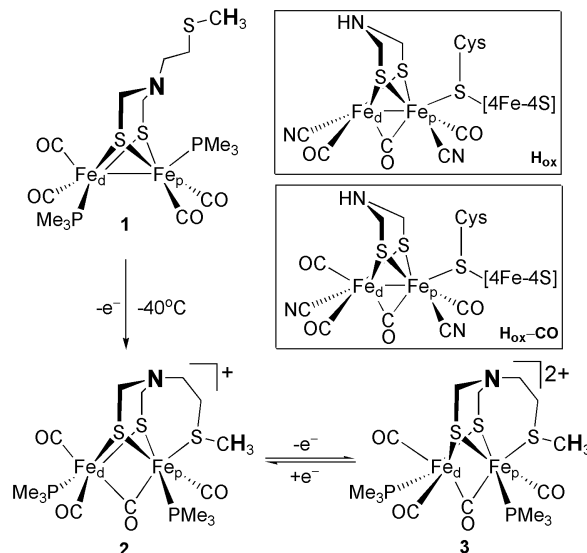


Ein Modell des aktiven Zentrums der [FeFe]-Hydrogenasen mit biologisch relevanter Azadithiolat-Brücke: eine spektroskopische und theoretische Untersuchung**

Özlen F. Erdem,* Lennart Schwartz, Matthias Stein, Alexey Silakov, Sandeep Kaur-Ghumaan, Ping Huang, Sascha Ott,* Edward J. Reijerse und Wolfgang Lubitz*

Das aktive Zentrum der [FeFe]-Hydrogenasen, der so genannte H-Cluster, besteht aus einem [4Fe4S]-Cuban-Cluster und einem [2Fe2S]-Subcluster, die über ein Cystein verknüpft sind.^[1] Diese Hydrogenasen sind überwiegend an der Wasserstoffbildung beteiligt, was sie zu einem interessanten Ausgangspunkt für die Entwicklung von biologisch inspirierten Systemen zur biotechnologischen Wasserstoffproduktion macht.^[2]

Die beiden Eisenzentren des zweikernigen Subclusters in den [FeFe]-Hydrogenasen tragen für Proteine ungewöhnliche zweiatomige Liganden (CN⁻ und CO), die ihre niedrigen Spin- und Oxidationsstufen stabilisieren (siehe H_{ox}, H_{ox}-CO in Schema 1).^[3,4] Das dem Cuban weiter entfernte Eisenatom (Fe_d) hat im H_{ox}-Zustand eine freie Koordinationsstelle, an die Wasserstoff oder CO als Inhibitor binden können. Das zentrale Atom im Dithiolat-Brückenliganden (als NH in Schema 1 dargestellt) konnte in der Röntgenstrukturanalyse als Kohlenstoff, Sauerstoff oder Stickstoff modelliert werden.^[1b] In Hinblick auf den katalytischen Mechanismus bieten sich ein Stickstoff-^[1c] und in gewissem Maße auch ein Sauerstoffligand^[1f] an. Dieser könnte die H₂-Spaltung unterstützen und als Relais^[1b,g] für den Protonentransfer zwischen dem zweikernigen Subcluster und einem benachbarten Cysteinrest wirken, der vermutlich Teil des „Protonenkanals“ ist.^[5] Eine kombinierte Elektronenspinresonanz(EPR)- und Dichtefunktionaltheorie(DFT)-Studie am aktiven Zentrum der



Schema 1. Strukturänderung des Komplexes 1 bei (elektro)chemischer Oxidation bei -40°C ; Isotopenmarkierungen sind fett hervorgehoben. 1: Fe^IFe^I-Ausgangszustand, 2: partiell oxidiertes Fe^IFe^I-Zustand, 3: Fe^{II}Fe^{II}-Zustand. Einschub: H-Cluster der [FeFe]-Hydrogenasen im H_{ox}- und im H_{ox}-CO-Zustand (durch CO inhibiert); beide im Fe^{II}Fe^I-Oxidationszustand.

[FeFe]-Hydrogenase aus *Desulfovibrio desulfuricans*^[6] lieferte kürzlich einen deutlichen Hinweis auf ein Stickstoffatom im verbrückenden Dithiolatliganden. Diese Zuordnung beruhte auf den mithilfe der HYSCORE-Spektroskopie gemessenen ¹⁴N-Quadrupolkopplungen von drei unterschiedlich gebundenen Stickstoffatomen (Amin, Cyanid und Lysinseitenkette).^[6]

Weitere Hinweise auf ein Stickstoffatom im Dithiolatliganden (Azadithiolat, adt) stammen aus Studien an bioanorganischen Modellsystemen.^[7] Es ist bekannt, dass eine N-Protonierung zu Spezies führt, die gegenüber entsprechenden nichtprotonierten Verbindungen mit aliphatischen Kohlenstoffbrücken stark verringerte Reduktionspotentiale aufweisen.^[8] Darüber hinaus kann das adt-Stickstoffatom als ein Protonenrelais in Modellverbindungen agieren, indem es Protonen zur freien Koordinationsstelle leitet und so die Bildung terminaler Hydride ermöglicht.^[9]

Zur weiteren Identifizierung des Zentralatoms im Dithiolat-Brückenliganden des H-Clusters der [FeFe]-Hydrogenasen untersuchen wir hier einen gemischtvalenten Fe^{II}Fe^I-Modellkomplex, der nur ein Stickstoffatom (in der adt-Brücke) trägt. Zu diesem Zweck wurden die „nativen“ CN-

[*] Dr. Ö. F. Erdem, Dr. A. Silakov, Dr. E. J. Reijerse, Prof. Dr. W. Lubitz
Max-Planck-Institut für Bioanorganische Chemie
Stiftstraße 34–36, 45470 Mülheim an der Ruhr (Deutschland)
Fax: (+49) 208-306-3955
E-Mail: erdem@mpi-muelheim.mpg.de
lubitz@mpi-muelheim.mpg.de

Dr. L. Schwartz, Dr. S. Kaur-Ghumaan, Dr. P. Huang, Dr. S. Ott
Department of Photochemistry and Molecular Science
Uppsala University, Box 523, 75120, Uppsala (Schweden)
E-Mail: sascha.ott@fotomol.uu.se

Dr. M. Stein
Max-Planck-Institut für Dynamik komplexer technischer Systeme
Sandtorstraße 1, 39106 Magdeburg (Deutschland)

[**] Gudrun Klihm wird gedankt für technische Unterstützung bei den EPR-Experimenten. Wir danken der Max-Planck-Gesellschaft, dem Swedish Research Council (S.O.), der Wenner Gren Foundation (S.K.-G.), der Schwedischen Energiebehörde, der Knut und Alice Wallenberg-Stiftung, der Klaus Tschira Stiftung (M.S.) und der EU (FP7 Energy 212508 „SOLAR-H2“) für finanzielle Unterstützung.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201006244> zu finden.

Liganden durch elektronisch analoge Trimethylphosphanliganden ersetzt. Wir präsentieren die erste detaillierte Analyse der elektronischen Struktur eines solchen gemischtvalenten biomimetischen Komplexes und vergleichen die Ergebnisse mit denen des nativen Systems. Auf diese Weise können Uneindeutigkeiten bei der Identifizierung des Zentralatoms des Dithiolatliganden ausgeräumt werden. Wie in Schema 1 dargestellt, ist die gemischtvalente Spezies **2**, die strukturell mit $\text{H}_{\text{ox}}\text{-CO}$ eng verwandt ist, aus **1** durch Oxidation bei tiefer Temperatur erhältlich. Der Komplex **1** wiederum wurde – wie zuvor beschrieben^[10] – aus 2-(Methylthio)ethylamin, $[\text{Fe}_2\text{S}_2(\text{CO})_6]$ und Formaldehyd hergestellt. Die ^{15}N - und CD_3 -markierten Komplexe **1** $^{[15]\text{N}}$ bzw. **1** $[\text{S-CD}_3]$ wurden aus den jeweiligen isotenmarkierten Vorstufen in der gleichen Weise synthetisiert (siehe Hintergrundinformationen).

Cyclovoltammetrische Untersuchungen zeigen, dass **1** irreversibel in einem Zwei-Elektronen-Prozess bei Raumtemperatur oxidiert wird (Abbildung 1a). Ein Absenken der Temperatur unter -30°C hat einen starken Einfluss auf das Cyclovoltammogramm, da die Amplitude des Peaks für den irreversiblen Prozess abnimmt, bis sie der Größe nach einem Ein-Elektronen-Prozess entspricht ($\text{Fe}^{\text{I}}\text{Fe}^{\text{I}} \rightarrow \text{Fe}^{\text{I}}\text{Fe}^{\text{II}}$). Zusätzlich entsteht ein zweiter Peak für einen reversiblen Prozess bei etwas höherem positivem Potential ($\text{Fe}^{\text{I}}\text{Fe}^{\text{II}} \rightleftharpoons \text{Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{II}}$). Dieses Verhalten ist in Einklang mit einem irreversiblen chemischen Prozess, bei dem im ersten Schritt durch Oxidation eine Spezies gebildet wird, die reversibel in einem zweiten Prozess oxidiert werden kann. Die chemische Oxidation von **1** durch Ferroceniumhexafluorophosphat (FcPF_6) bei -30°C erfolgte analog und wurde mit In-situ-FTIR-Spektroskopie verfolgt (Abbildung 1b). Die Zugabe eines Äquivalents FcPF_6 verschiebt alle Absorptionen im ν_{CO} -Bereich in Richtung höherer Energie als Folge der Oxidation und damit schwächeren Rückbindung in die π^* -Orbitale der CO-Liganden. Außerdem entsteht eine neue Absorptionsbande bei 1770 cm^{-1} , die charakteristisch für einen verbrückenden $\mu\text{-CO}$ -Liganden zwischen den beiden Fe-Zentren ist.

Das elektrochemische und IR-spektroskopische Verhalten von **2** ähnelt dem einer verwandten gemischtvalenten $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{I}}$ -Spezies, $[\text{2Fe3S}]\text{-Dicyanid}$ (**4**), die von Pickett und Mitarbeitern beschrieben wurde.^[11] Sie enthält CN^- -Liganden anstelle von PMe_3 , es fehlt jedoch der adt-N-Ligand. Während die Form der IR-Spektren aller Verbindungen sehr ähnlich ist, führen die Strukturunterschiede zwischen den beiden Komplexen zu einer Verschiebung der Schwingungsfrequenzen für **2** zu niedrigeren Wellenzahlen. In Analogie zu **4** – und bewiesen durch unsere Untersuchungen – ist es offensichtlich, dass die erste Oxidationsstufe, **2**, durch den Thioethersubstituenten stabilisiert wird, der nach der Oxidation an Fe_{p} koordiniert. Die zweite Oxidation zu **3** ist ein einfacher Elektronenverlust ohne weitere Strukturänderungen.

Die Einkristall-Röntgenstrukturanalyse von **1** (siehe Hintergrundinformationen) zeigt eine apikal/basale Anordnung der PMe_3 -Liganden. DFT-Rechnungen von **1** reproduzieren die aus der Röntgenstrukturanalyse erhaltenen Strukturparameter sehr genau (siehe Hintergrundinformationen). Die Berechnungen liefern auch ein Strukturmodell für den oxidierten $\text{Fe}^{\text{I}}\text{Fe}^{\text{II}}$ -Komplex **2**, in dem die Oxidation

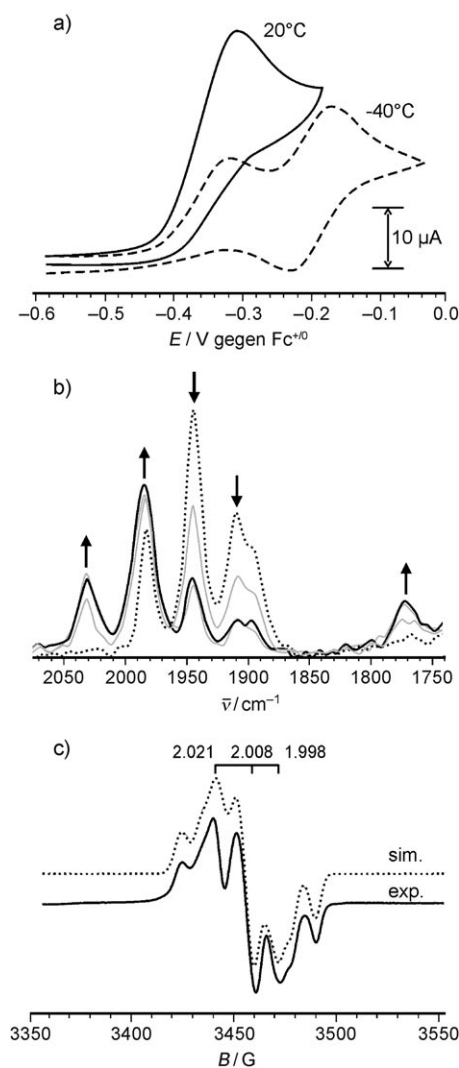


Abbildung 1. a) Cyclovoltammogramme (oxidativer Durchlauf) einer 1 mm Lösung von **1** in CH_3CN bei 20°C (schwarze Linie) und bei -40°C (gepunktete Linie). b) In-situ-FTIR-Spektren, aufgezeichnet alle 5 s nach Zugabe von 1 Äquivalent FcPF_6 zu Lösungen von **1** in CH_3CN bei -40°C . Startspektrum: gepunktet, Endspektrum: schwarze Linie. c) CW-EPR-Spektrum von **2** (in 2-MeTHF/ CH_2Cl_2), aufgenommen im X-Band bei 30 K. Schwarze Linie: Experiment, gepunktete Linie: Simulation (g -Hauptwerte, $g(x,y,z)$: (2.021, 2.008, 1.998); g -Strain: 0.0038, 0.0025, 0.0043; Linienbreite: 0.6 mT).

mit der Bildung einer zusätzlichen, $2,50\text{ \AA}$ langen Fe-Thioether-Bindung und einer CO-Brücke sowie einer Umorientierung der PMe_3 -Liganden einhergeht. Die berechneten IR-Spektren von **1** und **2** sind in guter Übereinstimmung mit den experimentellen FTIR-Daten in Abbildung 1b (siehe auch Hintergrundinformationen). Für den Komplex **2** hat eine *trans*-basal/basale Konformation der PMe_3 -Liganden die niedrigste Energie. Die *cis*-basal/basale und die basal/apikale PMe_3 -Orientierung liegen energetisch um 3 bzw. 5 kcal mol^{-1} höher.

Der gemischtvalente Komplex **2** wurde darüber hinaus durch CW-EPR-Spektroskopie charakterisiert. Für **2**, hergestellt in 2-Methyltetrahydrofuran (2-MeTHF)/ CH_2Cl_2 , ist das X-Band-CW-EPR-Spektrum bei 30 K in Abbildung 1c ge-

zeigt. Die zugehörigen Simulationen wurden durchgeführt unter Annahme einer einzigen paramagnetischen Spezies mit $S = 1/2$ und Hyperfeinkopplungen (HFCs) mit zwei magnetisch unterschiedlichen ^{31}P -Kernen. Das CW-EPR-Spektrum kann sehr gut simuliert werden mit einem rhombischen g -Tensor ($g_x > g_y > g_z$): $g(x,y,z) = (2.021, 2.008, 1.998)$ mit HFC-Werten von $A_1(^{31}\text{P})(x,y,z) = (34, 27, 28)$ MHz und $A_2(^{31}\text{P})(x,y,z) = (50, 26, 47)$ MHz. DFT-Rechnungen zeigen, dass ein rhombischer g -Tensor sowohl für eine basal/basale als auch für eine apikal/basale Orientierung der beiden PMe_3 -Liganden erhalten wird. Allerdings würde eine apikal/basale Orientierung der Liganden zu einer ungewöhnlich großen isotropen Hyperfeinkopplung für den apikalen ^{31}P -Kern führen (siehe Hintergrundinformationen). Eine derartige Situation kann daher für **2** ausgeschlossen werden. Die Tatsache, dass die HFC-Werte für die beiden ^{31}P -Kerne ähnlich sind, deutet auf eine Delokalisierung des ungepaarten Elektrons über beide Eisenzentren im Komplex hin. Die beste Übereinstimmung von gemessenen und berechneten ^{31}P -HFCs wird für eine spindelokalisierte *trans*-basal/basale Anordnung der PMe_3 -Liganden erhalten (siehe Hintergrundinformationen). „Broken-Symmetry“ (BS)-DFT-Rechnungen konvergieren auch zu einem spindelokalisierten Zustand. Die größere isotrope HFC wird für den proximalen ^{31}P -Kern erhalten (Spindichte am proximalen/distalen Eisenzentrum: 0.54 bzw. 0.23; siehe Abbildung 2 und Hintergrundinformationen).^[12,13]

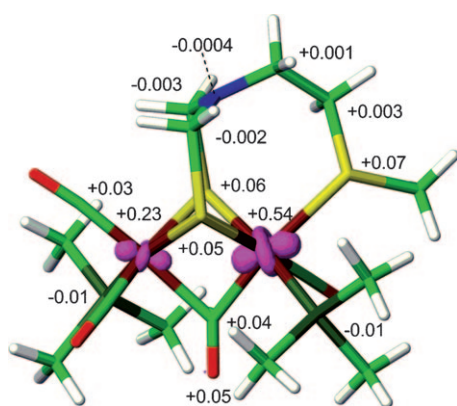


Abbildung 2. Spindichteverteilung in **2**, zusammen mit den Spinpopulationen an den einzelnen Atomen.

Die g -Werte sind weniger stark anisotrop als für die natürliche Hydrogenase im inhibierten Zustand $\text{H}_{\text{ox}}\text{-CO}$: $g(x,y,z) = (2.065, 2.007, 2.001)$.^[6] Im Vergleich dazu liefert das CW-EPR-Spektrum des Cyanid-Komplexes **4**^[11a] g -Werte von $g(x,y,z) = (2.017, 2.006, 1.988)$ mit einer ähnlichen Anisotropie wie für den Komplex **2**. Der Modellkomplex für H_{ox} von Darenbourg und Mitarbeitern,^[14] $[\text{Fe}_2(\text{dmpdt})(\text{CO})_4(\text{PMe}_3)_2]^+$ ($\text{dmpdt} = \mu\text{-}2,2\text{-Dimethyl-1,3-propandithiolat}$), zeigt einen g -Tensor von $g(x,y,z) = (2.086, 2.025, 2.007)$ und einen ^{31}P -HFC-Tensor $A(x,y,z) = (27, 25, 25)$ MHz. Die Autoren schlossen aus den CW-EPR-spektroskopischen Daten auf eine Spinlokalisierung auf einem der Eisenatome. Für den H-Cluster im H_{ox} -Zustand wurde jedoch eine Delokalisierung über beide Eisenatome gefunden, während die Daten für den

$\text{H}_{\text{ox}}\text{-CO}$ -Zustand auf eine Lokalisierung am proximalen Eisenzentrum hindeuten.^[4] Vermutlich sind diese Unterschiede auf die Anwesenheit des $[\text{4Fe4S}]$ -Subclusters im H-Cluster zurückzuführen, der in den Modellkomplexen fehlt.

Die Koordination des S-CH_3 -Thioetherliganden an das proximale Fe_p in **2** wurde durch einen spektroskopischen Vergleich mit dem Komplex **2** $[\text{S-CD}_3]$, der eine deuterierte S-CD_3 -Gruppe trägt, untersucht. Die relativ schwachen Hyperfeinkopplungen der Methylprotonen sind nicht im CW-EPR-Spektrum aufgelöst. Wir haben daher Elektron-Kern-Doppelresonanz(ENDOR)^[15a]-Experimente durchgeführt, um die Auflösung zu verbessern.

In Abbildung 3 werden die Q-Band- ^1H -ENDOR-Ergebnisse für **2** $[\text{S-CD}_3]$ und **2** $[\text{S-CH}_3]$ verglichen. Die Linien der S-CH_3 -Protonen im Differenzspektrum (Abbildung 3c) können mit HFC-Werten von $A(x,y,z) = (2.6, -2.6, -3.6)$

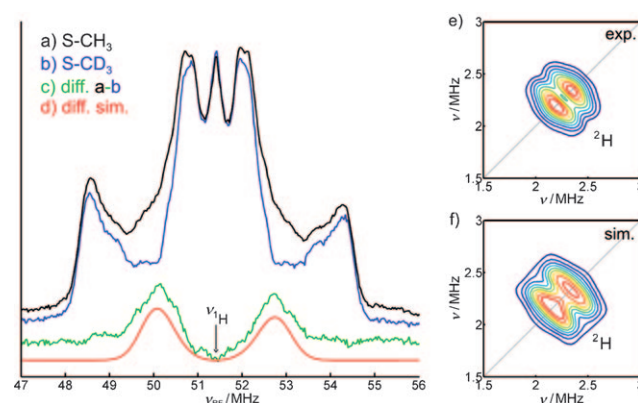


Abbildung 3. Q-Band-Davies-ENDOR-Spektren von a) **2** und b) **2** $[\text{S-CD}_3]$ (beide in 2-MeTHF/ CH_2Cl_2); c) Differenzspektrum; d) Simulation für das Differenzspektrum bei Feldposition g_y , $T = 30$ K. e) X-Band-HYSCORE-Spektrum von **2** $[\text{S-CD}_3]$, aufgenommen mit $\tau = 212$ ns bei $T = 30$ K, Feldposition: g_y (siehe Hintergrundinformationen); f) entsprechende Simulation für (e).

MHz und $A_{\text{iso}}(^1\text{H}) = -1.2$ MHz simuliert werden. Zusätzlich wurde ein ^2H -HYSCORE-Experiment an **2** $[\text{S-CD}_3]$ durchgeführt (Abbildung 3e). Für die entsprechende Simulation mithilfe des Spin-Hamilton-Operator-Ansatzes^[15a-c] (Abbildung 3f) sind die Parameter wie folgt: $A_{\text{iso}}(^2\text{H}) = -0.2$ MHz; $K = 0.06$ MHz; $\eta = 0.01$. $K = e^2 q Q / 4h$ ist hier die Quadrupolkopplung, und η ist der Asymmetrieparameter.^[16] Die gemessenen ^2H - und ^1H -HFCs sind unter Berücksichtigung des Skalierungsfaktors der Larmor-Frequenzen (6.514) konsistent. Die ungepaarte Spindichte an der S-CH_3 -Gruppe ist klein, aber signifikant und kann nur durch die vorgeschlagene Strukturänderung im metastabilen $\text{Fe}^{\text{I}}\text{Fe}^{\text{II}}$ -Zustand erklärt werden, in dem die S-CH_3 -Gruppe direkt an das proximale Eisenatom koordiniert (Schema 1). Die DFT-Vorhersagen für die HFC- und NQC-Werte für S-CH_3 und S-CD_3 sind in guter Übereinstimmung mit den gemessenen Daten und stützen damit die spektrale Zuordnung (siehe Hintergrundinformationen und Tabelle 1).

Abbildung 4 zeigt die X-Band-Matched-HYSCORE^[15a]-Spektren für **2** $[\text{N}^{14}]$ sowie für den ^{15}N -markierten Komplex **2** $[\text{N}^{15}]$. Die Larmor-Frequenz von ^{14}N im X-Band liegt bei

Tabelle 1: Vergleich von experimentellen und mit DFT berechneten HFC- und NQC-Hauptwerten [MHz] für das *trans*-basal/basale Isomer von **2** (PMe₃, adt-N und S-CD₃) und für H_{ox}.^[6]

	2 (DFT)	2 (exp.)	H _{ox} ^[6]
A _{iso1} (³¹ P)	−37	41 ± 2	−
A _{iso2} (³¹ P)	−28	30 ± 2	−
A _{iso} (¹⁴ N)	1.0	0.6 ± 0.2	1.43
K	1.32	1.28 ± 0.01	1.23
η	0.03	0.11 ± 0.05	0.13
A _{iso} (² H)	−0.3	−0.2 ± 0.1	−
K	0.05	0.06 ± 0.05	−
η	0.03	0.01 ± 0.05	−

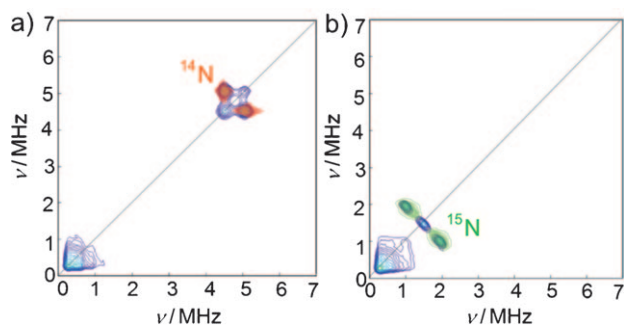


Abbildung 4. Matched-HYSCORE^[15a]-Spektren für a) **2**[¹⁴N] und b) **2**[¹⁵N] (jeweils in 2-MeTHF/CH₂Cl₂), aufgenommen mit $t_{\text{matching}} = 72$ ns, $\tau = 128$ ns bei $g_y = 2.008$ (wie in Abbildung 1 c gezeigt) und 30 K im X-Band. Entsprechende Simulationen für **2**[¹⁴N] (orange) und **2**[¹⁵N] (grün) sind ebenfalls gezeigt (siehe die Hintergrundinformationen und Tabelle 1).

1.062 MHz. Es ist bekannt, dass für Systeme mit starken Quadrupolkopplungen und schwacher Anisotropie des HFC-Tensors entsprechende Quantenübergänge im HYSCORE nicht detektierbar sein könnten.^[15a,c] Die beiden ¹⁴N-Korrelationspeaks (Abbildung 4 a) sind zentriert um etwa 4.8 MHz. Ihre Positionen sind typisch für die ¹⁴N(*I*=1)-Doppelquantenübergänge eines schwach gekoppelten Stickstoffkerns mit relativ großer Quadrupolwechselwirkung. Für die Matched-HYSCORE-Spektren können die Signale simuliert werden mit HFC-Hauptwerten von $A(^{14}\text{N})(x,y,z) = (0.3, 0.8, 0.7)$ MHz und Quadrupolparametern von $K = 1.28$ MHz und $\eta = 0.11$ (siehe Tabelle 1). Im entsprechenden Matched-HYSCORE-Spektrum von **2**[¹⁵N] (Abbildung 4 b) fehlen die Korrelationspeaks um 4.8 MHz. Stattdessen treten Resonanzen zentriert um 1.489 MHz auf, d.h. bei der Larmor-Frequenz von ¹⁵N. Diese Signale resultieren von Spinübergängen für einen *I* = 1/2-Kern und können mit demselben HFC-Tensor simuliert werden, der für **2**[¹⁴N] erhalten wurde (skaliert mit dem Faktor 1.402 in der Larmor-Frequenz für ¹⁵N relativ zu ¹⁴N).

Die erhaltenen Kopplungskonstanten sind zusammen mit denen für den H-Cluster im H_{ox}-Zustand^[6] in Tabelle 1 zusammengefasst. Die mit DFT berechneten ¹⁴N-HFC- und -NQC-Werte sind in guter Übereinstimmung mit den simulierten Werten. Der Asymmetrieparameter η wird jedoch in den DFT-Rechnungen leicht unterschätzt (siehe z.B. Lit. [17a,b]). Im Prinzip sind die NQC-Werte empfindlich für den Protonierungszustand der Aminogruppe. Eine Proto-

nierung, die zu einer sekundären Ammoniumgruppe führen würde, kann jedoch aufgrund des dafür erwarteten sehr geringen *K*-Werts ausgeschlossen werden. In Quantenverfeinerungsuntersuchungen von Modellen des aktiven Zentrums der [FeFe]-Hydrogenasen wurde dies noch als eine Möglichkeit diskutiert.^[17c] Eine explizite Wasserstoffbrücke (Koordination eines externen Wassermoleküls an das Amin-Stickstoffatom) hat nur einen geringen Einfluss auf die ¹⁴N-HFC- und -NQC-Werte (Details siehe Hintergrundinformationen).

Im Allgemeinen zeigen die DFT-Rechnungen, dass sich die Verteilung der ungepaarten Spindichte für **2** deutlich von der für den H-Cluster im H_{ox}-CO-Zustand unterscheidet. Während in **2** beide Eisenatome ungepaarte Spindichte tragen – was auch aus den ähnlichen ³¹P-HFC-Werten folgt –, ist die Spindichte im H_{ox}-CO-Zustand im zweikernigen Subcluster zum proximalen Eisenzentrum hin verschoben.^[4] Im H_{ox}-CO-Zustand des natürlichen Systems ist aufgrund der starken Austauschwechselwirkung zwischen dem Cuban und dem zweikernigen Subcluster der größte Teil der Spindichte zum [4Fe4S]-Cluster hin verschoben. Sehr wenig Spindichte verbleibt auf dem [2Fe]_H-Cluster. Daher sind die ¹⁴N-Kopplungen der CN[−]-Liganden und des verbrückenden Azadithiolats zu klein, um detektierbar zu sein. In der Tat ähnelt die ungepaarte Spindichteverteilung von **2** der des nativen H_{ox}-Zustands, in dem die Schwächung der Austauschwechselwirkung zwischen dem Cuban und dem [2Fe]-Cluster zu einer größeren effektiven Spindichte am [2Fe]_H-Subcluster führt, sodass die ¹⁴N-Signale des Azadithiolats detektierbar werden.^[6] Die ¹⁴N-Kernquadrupolwechselwirkungen für **2** und H_{ox} (Tabelle 1) sind sich sehr ähnlich. Ihr Quadrupolparameter, *K*, ist charakteristisch^[16b] für ein schwach wasserstoffbrückegebundenes Amin-Stickstoffatom.

Zusammenfassend zeigen unsere Untersuchungen, dass bei der Oxidation von **1** zum gemischvalenten Zustand **2**

- a) ein terminales CO in die verbrückende Position wandert;
- b) sich der „freie“ Thioetherligand dem proximalen Eisenzentrum nähert und dieses koordiniert;
- c) sich die Ligandensphäre umorientiert und einer der PMe₃-Liganden in eine basale Stellung wandert, was wahrscheinlich zu einer *trans*-basal/basalen Konfiguration der beiden PMe₃-Gruppen führt; und
- d) die HFC-Komponenten, die für das Amin-Stickstoffatom der Azadithiolatbrücke von **2** erhalten werden, dem H_{ox}-Zustand des Enzyms ähneln. Dies zeigt, dass Spindichte an der Aminogruppe des verbrückenden adt-Liganden vorliegt.^[16b] Die gemessene NQC für das ¹⁴N-Stickstoffatom in **2** ähnelt ebenfalls der des H-Clusters. Die Werte sind für eine schwach wasserstoffbrückegebundene Aminogruppe charakteristisch. Diese Befunde liefern überzeugende Beweise für das Vorhandensein eines Stickstoffatoms in der Dithiolatbrücke des aktiven Zentrums von natürlichen [FeFe]-Hydrogenasen. Dieses Ergebnis ist von großer Bedeutung für ein Verständnis des Mechanismus der Wasserstoffkonversion und -produktion und erklärt wahrscheinlich auch die sehr hohe Aktivität dieser Enzyme.^[8,9]

Eingegangen am 5. Oktober 2010

Online veröffentlicht am 5. Januar 2011

Stichwörter: Dichtefunktionalrechnungen ·
ENDOR-Spektroskopie · Enzymmodelle · EPR-Spektroskopie ·
Hydrogenasen

- [1] a) Y. Nicolet, B. J. Lemon, J. C. Fontecilla-Camps, J. W. Peters, *Trends Biochem. Sci.* **2000**, 25, 138–143; b) J. C. Fontecilla-Camps, P. Amara, C. Cavazza, Y. Nicolet, A. Volbeda, *Nature* **2009**, 460, 814–822; c) Y. Nicolet, A. L. de Lacey, X. Vernède, V. M. Fernandez, E. C. Hatchikian, J. C. Fontecilla-Camps, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 1596–1601; d) Y. Nicolet, C. Piras, P. Legrand, C. E. Hatchikian, J. C. Fontecilla-Camps, *Structure With Folding & Design* **1999**, 7, 13–23; e) J. W. Peters, W. N. Lanzilotta, B. J. Lemon, L. C. Seefeldt, *Science* **1998**, 282, 1853–1858; f) A. S. Pandey, T. V. Harris, L. J. Giles, J. W. Peters, R. K. Szilagy, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 4533–4540; g) H.-J. Fan, M. B. Hall, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 3828–3829.
- [2] a) R. Cammack, M. Frey, R. Robson, *Hydrogen as a Fuel. Learning from Nature*, Taylor & Francis, London, **2001**; b) D. A. J. Rand, R. M. Dell, *Hydrogen Energy. Challenges and Prospects*, RSC, Cambridge, **2008**.
- [3] W. Roseboom, A. L. De Lacey, V. M. Fernandez, E. C. Hatchikian, S. P. J. Albracht, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2006**, 11, 102–118.
- [4] A. Silakov, E. J. Reijerse, S. P. J. Albracht, E. C. Hatchikian, W. Lubitz, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 11447–11458.
- [5] J. C. Fontecilla-Camps, A. Volbeda, C. Cavazza, Y. Nicolet, *Chem. Rev.* **2007**, 107, 4273–4303.
- [6] A. Silakov, B. Wenk, E. Reijerse, W. Lubitz, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2009**, 11, 6592–6599.
- [7] Übersichten: a) C. Tard, C. J. Pickett, *Chem. Rev.* **2009**, 109, 2245–2274; b) J. F. Capon, F. Gloaguen, F. Y. Pétillon, P. Schollhammer, J. Talarmin, *Coord. Chem. Rev.* **2009**, 253, 1476–1494; c) G. A. N. Felton, C. A. Mebi, B. J. Petro, A. K. Vannucci, D. H. Evans, R. S. Glass, D. L. Lichtenberger, *J. Organomet. Chem.* **2009**, 694, 2681–2699; d) D. M. Heinekey, *J. Organomet. Chem.* **2009**, 694, 2671–2680; e) F. Gloaguen, T. B. Rauchfuss, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 100–108; f) R. Lomoth, S. Ott, *Dalton Trans.* **2009**, 45, 9952–9959.
- [8] a) L. Schwartz, G. Eilers, L. Eriksson, A. Gogoll, R. Lomoth, S. Ott, *Chem. Commun.* **2006**, 520–522; b) S. Ott, M. Kritikos, B. Åkermark, L. Sun, R. Lomoth, *Angew. Chem.* **2004**, 116, 1024–1027; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 1006–1009; c) F. Wang, M. Wang, X. Liu, K. Jin, W. Dong, G. Li, B. Åkermark, L. Sun, *Chem. Commun.* **2005**, 3221–3223.
- [9] B. E. Barton, M. T. Olsen, T. B. Rauchfuss, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 16834–16835.
- [10] a) J. D. Lawrence, H. X. Li, T. B. Rauchfuss, *Chem. Commun.* **2001**, 1482–1483; b) J. D. Lawrence, H. X. Li, T. B. Rauchfuss, M. Bénard, M.-M. Rohmer, *Angew. Chem.* **2001**, 113, 1818–1821; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 1768–1771; c) S. Ott, M. Kritikos, B. Åkermark, L. Sun, *Angew. Chem.* **2003**, 115, 3407–3410; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 3285–3288.
- [11] a) M. Razavet, S. C. Davies, D. L. Hughes, C. J. Pickett, *Chem. Commun.* **2001**, 847–848; b) S. J. George, Z. Cui, M. Razavet, C. J. Pickett, *Chem. Eur. J.* **2002**, 8, 4037–4046; c) A. Silakov, J. L. Shaw, E. J. Reijerse, W. Lubitz, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 17578–17587.
- [12] F. Neese, *Coord. Chem. Rev.* **2009**, 253, 526–563.
- [13] „Broken-symmetry“(BS)-DFT-Rechnungen mit den BP86- und B3LYP-Funktionalen konvergierten zum delokalisierten $S = 1/2$ -Zustand und lieferten identische Resultate.
- [14] M. L. Singleton, N. Bhuvanesh, J. H. Reibenspies, M. Y. Darensbourg, *Angew. Chem.* **2008**, 120, 9634–9637; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 9492–9495.
- [15] a) A. Schweiger, G. Jeschke, *Principles of Pulsed Electron Paramagnetic Resonance*, Oxford University Press, New York, **2001**; b) W. Lubitz, E. Reijerse, M. van Gastel, *Chem. Rev.* **2007**, 107, 4331–4365; c) S. A. Dikanov, Y. D. Tsvetkov, *Electron Spin Echo Envelope Modulation (ESEEM) Spectroscopy*, CRC, Boca Raton, FL, **1992**.
- [16] a) Der Kernquadrupolkopplungsparameter K , definiert durch $e^2 q Q/h = 4K$, enthält das elektrische Kernquadrupolmoment, eQ , und den elektrischen Feldgradienten, eq , am Ort des Kerns. Der Asymmetrieparameter, $\eta = (P_x - P_y)/P_z$, gibt die Abweichung des Quadrupoltensors \mathbf{P} von der axialen Symmetrie an (mit der Konvention $|P_z| \geq |P_y| \geq |P_x|$ und $0 \leq \eta \leq 1$). Details siehe: b) E. A. C. Lucken, *Nuclear Quadrupole Coupling Constants*, Academic Press, London, **1969**.
- [17] a) S. Sinnecker, F. Neese, *J. Comput. Chem.* **2006**, 27, 1463–1475; b) J. N. Latosinska, *Int. J. Quantum Chem.* **2003**, 91, 284–296; c) U. Ryde, C. Greco, L. De Gioia, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 4512–4513.