

- [4] D. L. SCHOENE & V. S. CHAMBERS, U.S. RUBBER CORP., USP 2524399 (1950).  
 [5] O. A. STAMM, *Helv.* **46**, 3008, 3019 (1963).  
 [6] Advance Technical Information Bulletin F-40351 (1959), MONSANTO CHEM. CORP.  
 [7] A. H. FORD-MOORE, *J. chem. Soc.* **1949**, 2433.  
 [8] G. C. TESORO, *Text. Res. J.* **32**, 189 (1962).  
 [9] P. RYS, Diss. ETH, Zürich 1965.  
 [10] S. H. FOSTER & I. TASHLICK, *Text. Res. J.* **32**, 574 (1962); C. R. WILLIAMS & E. H. ROSSIN, *Amer. Dyest. Rep.* **57**, 31 (1962).  
 [11] T. ABEND, Diss. ETH, Zürich 1965.  
 [12] E. HÄGGLUND & L. C. BRATT, *Svensk Kemisk Tidskr.* **48**, 125 (1936).  
 [13] J. F. SAEMAN, W. E. MOORE & M. A. MILLETT, «Methods in Carbohydrate Chemistry», R. L. WHISTLER ed., New York 1963, III, S. 57.  
 [14] R. U. LEMIEUX, C. T. BISHOP & G. E. PELLETIER, *Canad. J. Chemistry* **34**, 1365 (1956).  
 [15] R. L. WHISTLER & J. N. BEMILLER, «Methods in Carbohydrate Chemistry», R. L. WHISTLER & M. L. WOLFROM, ed., New York 1962, I, S. 44.  
 [16] F. MICHEEL, «Chemie der Zucker und Polysaccharide», 2. Aufl., Leipzig 1956, S. 38, 41.  
 [17] W. SIMON & C. TOMLINSON, *Chimia* **14**, 301 (1960).  
 [18] U. MEYER, Diss. ETH, Zürich 1965; H. U. RUDOLF, Diss. ETH, Zürich 1966.  
 [19] W. SCHÖNIGER, *Microchem. Acta* **1956**, 869; H. MALISSA & L. MACHHERNDL, *ibid.* **1962**, 1089.  
 [20] K. H. LAUBE, Diss. ETH, Zürich 1965; W. SAUR, Diss. ETH, Zürich 1965.  
 [21] S. M. PARTRIDGE, *Nature* **164**, 443 (1949).  
 [22] E. STAHL & U. KALTENBACH, *J. Chromatog.* **5**, 351 (1961).  
 [23] H. ERTL & L. HORNER, *J. Chromatog.* **7**, 268 (1962).  
 [24] F. CRAMER, «Papierchromatographie», 4. Aufl., Weinheim 1958, S. 117.  
 [25] G. N. KOWKABANY, *Adv. Carbohydrate Chemistry* **9**, 303 (1954).

## 157. Über die Elektronenspinresonanzspektren einiger $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexe in wässriger Lösung

von K. Wüthrich<sup>1)</sup>

(11. II. 66)

Die Elektronenspinresonanz(ESR.)-Spektren wässriger Lösungen von  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexen mit Pyridinderivaten (PYR), in denen ein Teil der Wasserstoffatome des Pyridins durch Methylgruppen ersetzt ist, wurden bei  $-196^\circ$  untersucht. Wie im experimentellen Teil gezeigt wird, sind die unter den gewählten Bedingungen in den gefrorenen Lösungen beobachteten Spektren den Komplexen der Zusammensetzung  $\text{Cu}(\text{PYR})_4^{2+}$  zuzuschreiben. Die experimentellen Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Die ESR.-Spektren von  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexen können unter Voraussetzung eines Ligandfeldes axialer Symmetrie durch den Spinhamiltonoperator (1) beschrieben werden [1].  $g_{\parallel}$  und  $g_{\perp}$  sind die spektroskopischen Aufspaltungsfaktoren oder «g-

$$\mathcal{H}_s = g_{\parallel} \beta H_z S_z + g_{\perp} \beta (H_x S_x + H_y S_y) + A_{\parallel} I_z S_z + A_{\perp} (I_x S_x + I_y S_y) \quad (1)$$

Werte»,  $A_{\parallel}$  und  $A_{\perp}$  die Kopplungskonstanten der Cu-Hyperfeinstruktur (HFS),  $\beta$  ist das BOHR'sche Magneton,  $H_x$ ,  $H_y$  und  $H_z$  sind die Komponenten des von aussen

<sup>1)</sup> Gegenwärtige Adresse: Lawrence Radiation Laboratory, University of California, Berkeley 4, California 94720.

angelegten Magnetfeldes im intramolekularen orthogonalen Koordinatensystem,  $S_x$ ,  $S_y$  und  $S_z$  die Komponenten des Elektronenspins und  $I_x$ ,  $I_y$ ,  $I_z$  die Komponenten des Kernspins. Die ersten zwei Terme in (1) beschreiben die Wechselwirkungen des ungepaarten Elektrons mit dem äusseren Magnetfeld, der dritte und vierte Term die Aufspaltung der Absorptionsbanden in die 4 Cu-HFS-Linien ( $I = 3/2$  für  $^{63}\text{Cu}$  und  $^{65}\text{Cu}$ ). Die Wechselwirkungen mit den Kernen der Ligandatome sind in (1) nicht berücksichtigt. Aus dem ESR.-Spektrum der gefrorenen Lösung einer  $\text{Cu}^{2+}$ -Verbindung, welches theoretisch aus 4 schwachen Linien mit Abstand  $A_{\parallel}$  um  $g_{\parallel}$  und 4 intensiveren Linien mit Abstand  $A_{\perp}$  um  $g_{\perp}$  besteht [2] (s. Fig. 1a), können die Parameter  $A_{\parallel}$ ,  $g_{\parallel}$ , « $g_{max}$ » [3] und oft auch die Kopplungskonstante  $A_{N\perp}$  der von den Wechselwirkungen mit den Ligandatomen herrührenden Hyperfeinstruktur ermittelt werden. « $g_{max}$ », der die Lage der durch Überlappung der HFS-Linien um  $g_{\perp}$  entstandenen breiten Absorptionsbande beschreibt, ist im allgemeinen etwas verschieden von  $g_{\perp}$ , was auf das Auftreten von sog. «Extraabsorptionsbanden» [2], die ebenfalls zur breiten Bande um  $g_{\perp}$  beitragen können, zurückzuführen ist.

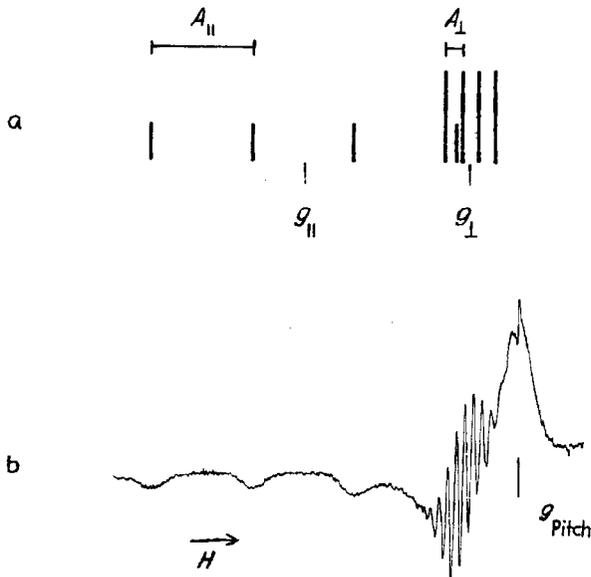


Fig. 1. a) Strichdiagramm des ESR.-Spektrums von  $\text{Cu}(\text{Pyridin})_2^{2+}$  in gefrorener Lösung (ohne Stickstoffhyperfeinstruktur). b) ESR.-Spektrum von  $\text{Cu}(\text{Pyridin})_2^{2+}$  in wässriger Lösung bei  $-196^\circ$ .  $[\text{CuSO}_4] = 8 \cdot 10^{-4}\text{M}$ ,  $[\text{Pyr}] = 1\text{M}$ ,  $[\text{PyrHCl}] = 1\text{M}$ . Eichsubstanz ist «Pitch» ( $g = 2,0028$ ).

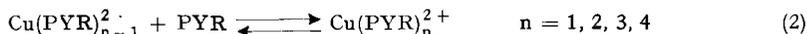
**Experimentelles.** – Die ESR.-Messungen wurden mit einem 3-cm-Varian V-4500 Spektrometer (100 KHz Magnetfeldmodulation, 6" Magnet) unter Verwendung der Varian Standard-Kühlvorrichtung durchgeführt. Die Bestimmung der  $g$ -Werte erfolgte durch Vergleichsmessungen mit «Pitch» ( $g = 2,0028$ ), das Magnetfeld wurde mit einer Probe  $\text{Mn}^{2+}$  in  $\text{MgO}$  (totale Signalbreite 450,76 Gauss geeicht<sup>2)</sup>). Die Messproben wurden bei Zimmertemperatur in Quarzröhrchen mit ca. 3 mm innerem Durchmesser gegeben und dann in flüssigem Stickstoff auf  $-196^\circ$  abgekühlt. – Zur Ermittlung von ESR.-Spektrern bei Zimmertemperatur untersuchten wir die Lösungen in

<sup>2)</sup> Herrn Prof. Dr. P. HUBER sei für die Erlaubnis zur Benützung der ESR.-Apparatur und Herrn Dr. H. LOELIGER für die Überlassung der genau ausgemessenen  $\text{Mn}^{2+}$ -Probe bestens gedankt.

flachen Quarzzellen Varian V-4548. – Für pH-Messungen verwendeten wir ein Metrohm Potentiometer E 187.

Es wurden folgende Substanzen verwendet:  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , Salzsäure und  $\text{KCl}$  *p.a.* MERCK, Pyridinbasen *puriss.* oder *purum* FLUKA. Für die ESR.-Untersuchungen wurden die Lösungen mit Salzsäure auf den dem  $pK_s$ -Wert der Pyridinbase entsprechenden pH-Wert eingestellt, enthielten also äquimolare Konzentrationen  $\text{PYR}$  und  $\text{PYR}\cdot\text{HCl}$ . Die  $\text{Cu}^{2+}$ -Konzentration betrug  $8 \cdot 10^{-4}\text{M}$  für Tieftemperaturmessungen und  $8 \cdot 10^{-3}\text{M}$  für Untersuchungen bei Zimmertemperatur. – Die  $pK_s$ -Werte der Pyridinbasen wurden durch Titration von  $0,1\text{M}$   $\text{PYR}$ -Lösungen mit  $0,1\text{N}$   $\text{HCl}$  ermittelt.

Die Komplexbildungsgleichgewichte (2) in wässrigen Lösungen von  $\text{Cu}^{2+}$  und Pyridin sind bei  $25^\circ$  eingehend untersucht worden [4]: In Lösungen mit kleiner  $\text{Cu}^{2+}$ -Konzentration steigt der mittlere Komplexbildungsgrad  $\bar{n}$  von etwa 1,2 bei einer Pyridinkonzentration  $[\text{Pyr}] = 0,05\text{M}$  auf etwa  $\bar{n} = 3,7$  bei  $[\text{Pyr}] = 1\text{M}$ . Die maximale Koordinationszahl ist  $n = 4$ . – Die Abhängigkeit des  $\bar{n}$  von  $[\text{Pyr}]$  lässt sich im ESR.-Spektrum bei Zimmertemperatur gut verfolgen. Während bei



kleinen Pyridinkonzentrationen nur eine breite Absorptionsbande, die durch Überlagerung der Signale von Komplexen verschiedener Zusammensetzung entstehen dürfte, auftritt, ist bei  $[\text{Pyr}]$  um  $1\text{M}$  ein ziemlich gut aufgelöstes Spektrum, das dem 1:4-Komplex zuzuschreiben ist, zu beobachten (s. Fig. 2). Das Tieftemperaturspektrum wird durch Veränderung der  $[\text{Pyr}]$  im Bereich  $0,05\text{M}$

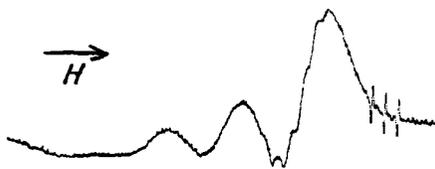


Fig. 2. ESR.-Spektrum von  $\text{Cu}(\text{Pyridin})_4^{2+}$  in wässriger Lösung,  $T = 20^\circ$ .

$[\text{CuSO}_4] = 8 \cdot 10^{-3}\text{M}$ ,  $[\text{Pyr}] = 1\text{M}$ ,  $[\text{PyrHCl}] = 1\text{M}$ . Eichsubstanz ist «FREMY-Salz» ( $g_0 = 2,0055$ ,  $a_0 = 13,0$  Gauss). Das Spektrum ergibt folgende Werte für die «isotropen» Parameter:  $g_0 = 2,12$ ,  $a_0 = 74$  Gauss,  $a_{\text{N}0} = 13$  Gauss.

bis  $1\text{M}$  nicht beeinflusst. Dies weist darauf hin, dass die Lösungen bei  $-196^\circ$  unabhängig von der Ligandenkonzentration immer Komplexe derselben Zusammensetzung enthalten. Es ist naheliegend, das beobachtete Tieftemperaturspektrum dem Komplex  $\text{Cu}(\text{Pyridin})_4^{2+}$  zuzuordnen, denn während des Abkühlens der Lösungen dürfte zuerst praktisch reines Wasser ausfrieren und dadurch die  $[\text{Pyr}]$  in der flüssigen Phase erhöht und die Gleichgewichte (2) nach höheren Werten von  $n$  verschoben werden. Auch in Lösungen, die bei  $25^\circ$  nur eine relativ geringe  $[\text{Pyr}]$  enthalten, wird so während des Abkühlens vorwiegend der 1:4-Komplex ausgebildet. Wie auf Grund dieser Überlegungen zu erwarten war, ergaben weitere Versuche eine Veränderung der Tieftemperaturspektren, wenn  $[\text{Pyr}]$  auf mit  $[\text{Cu}^{2+}]$  vergleichbare Werte verkleinert wurde.

Aus den ESR.-Spektren der  $\text{Cu}(\text{Pyridin})_4^{2+}$ -Lösungen bei  $-196^\circ$  (s. Tabelle 1) und bei Zimmertemperatur (s. Fig. 2) haben wir folgende Parameter ermittelt<sup>3)</sup>:  $g_{\parallel} = 2,22$ ,  $g_{\perp} = 2,07$ ,  $A_{\parallel} = 174$  Gauss,  $A_{\perp} = 24$  Gauss,  $A_{\text{N}\parallel} = 11$  Gauss und  $A_{\text{N}\perp} = 14$  Gauss. Die gute Übereinstimmung mit den aus Einkristalluntersuchungen von  $\text{Cu}(\text{Pyridin})_4\text{X}_2$  [6] bestimmten Werten zeigt, dass die im vorhergehenden Abschnitt begründete Zuordnung der Spektren unserer Lösungen zum Komplex der Zusammensetzung  $\text{Cu}(\text{Pyridin})_4^{2+}$  zutreffend ist.

Die  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexe mit 4-Picolin sind etwas stabiler als diejenigen mit Pyridin [7], für die Stabilitätskonstanten der Komplexe mit den übrigen in Tabelle 1 aufgeführten Pyridinderivaten

<sup>3)</sup> Zwischen den Parametern  $g_0$  und  $a_0$  des Raumtemperaturspektrums und  $g_{\parallel}$ ,  $g_{\perp}$ ,  $A_{\parallel}$  und  $A_{\perp}$  gelten die Beziehungen:  $g_0 = (g_{\parallel} + 2g_{\perp})/3$  und  $a_0 = (A_{\parallel} + 2A_{\perp})/3$  [5]. – Die Bezeichnungen  $A_{\text{N}\parallel}$  und  $A_{\text{N}\perp}$  beziehen sich wie diejenigen der übrigen Parameter auf die axiale Symmetrie des Komplexes. Die geringe Anisotropie der Stickstoff-HFS liegt innerhalb der Fehlergrenzen unserer Messungen.

konnten wir keine Angaben finden. Eine Abschätzung der zu erwartenden Werte ist schwierig, da durch Ersatz eines oder mehrerer H-Atome durch Methylgruppen die Basizität des Pyridinstickstoffs (s. Tabelle 1) und damit die Komplexbildungstendenz erhöht, bei Substitution in 2- und 6-Stellung die Komplexbildung aber gleichzeitig sterisch gehindert wird. Die ESR.-Untersuchungen weisen darauf hin, dass alle untersuchten Liganden unter den beim Abkühlen der Lösungen auf  $-196^\circ$  herrschenden Bedingungen 1:4-Komplexe ausbilden: Das Tieftemperatur-spektrum von Lösungen der  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexe mit 2,6-Dimethylpyridinen, bei denen die sterisch Hinderung maximal ist, stimmt vollständig mit dem  $\text{Cu}(\text{Pyridin})_4^{2+}$ -Spektrum überein (s. Tabelle).

*ESR.-Spektren der wässrigen Lösungen von  $\text{Cu}(\text{PYR})_4^{2+}$  bei  $-196^\circ$*

$$[\text{CuSO}_4] = 8 \cdot 10^{-4} \text{ M}, [\text{PYR}] = 1 \text{ M}, [\text{PYRHCl}] = 1 \text{ M}$$

PYR	$\text{p}K_s^a)$	$g_{\parallel}^b)$	$g_{\text{max}}^b)$	$A_{\parallel}$ (Gauss) <sup>c)</sup>	$A_{N\perp}$ (Gauss) <sup>d)</sup>
Pyridin	5,3	2,22	2,04	174	14
4-Picolin	6,1	2,21	2,03	174	14
3-Picolin	5,7	2,21	2,03	177	15
2-Picolin	6,1	2,25	2,05	146	– <sup>e)</sup>
2,3-Lutidin	6,5	2,25	2,06	142	– <sup>e)</sup>
2,4-Lutidin	6,8	2,23	2,05	153	– <sup>e)</sup>
2,5-Lutidin	6,5	2,25	2,04	153	– <sup>e)</sup>
2,6-Lutidin	6,8	2,21	2,03	174	14
2,4,6-Collidin	7,5	2,21	2,04	176	14

<sup>a)</sup>  $I = 0,4 \text{ M KCl}$ ,  $T = 20^\circ$     <sup>b)</sup>  $\pm 0,01$     <sup>c)</sup>  $\pm 3$  Gauss    <sup>d)</sup>  $\pm 1$  Gauss    <sup>e)</sup> keine Stickstoffhy-perfeinstruktur beobachtet.

**Diskussion.** – Die Tabelle zeigt, dass eine Veränderung der Basizität des Pyridinstickstoffs durch Ersatz der H-Atome in 3-, 4- oder 5-Stellung des Pyridins keinen messbaren Einfluss auf das ESR.-Spektrum der  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexe hat. Die Unterschiede zwischen den Spektren der Komplexe mit Pyridin, 3-Picolin und 4-Picolin liegen innerhalb der Fehlergrenzen unserer Messungen. Dies stimmt mit den Ergebnissen von Einkristalluntersuchungen [6] überein, die zeigten, dass die ESR.-Spektren von Verbindungen der Zusammensetzung  $\text{Cu}(\text{PYR})_4\text{X}_2$  durch Variation der Substituenten in 4-Stellung des Pyridins nur wenig beeinflusst werden.

Interessant ist der Einfluss der Substituenten in 2- und 6-Stellung, die die Komplexbildung sterisch beeinflussen können. Die Liganden PYR lassen sich auf Grund der ESR.-Spektren der  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexe in zwei Klassen aufteilen, in welchen die Pyridinderivate auch in bezug auf die 2,6-Substituenten gemeinsame Merkmale haben: (i) 3-Picolin, 4-Picolin, 2,6-Lutidin und 2,4,6-Collidin, deren  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexe ein mit dem des  $\text{Cu}(\text{Pyridin})_4^{2+}$  übereinstimmendes Spektrum ergeben, enthalten wie Pyridin in 2- und 6-Stellung identische Gruppen. (ii) 2-Picolin, 2,3-, 2,4- und 2,5-Lutidin, deren  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexe ESR.-Spektren aufweisen, die sich vom  $\text{Cu}(\text{Pyridin})_4^{2+}$ -Spektrum vor allem durch auffallend kleine  $A_{\parallel}$ -Werte und durch das Fehlen der Stickstoffhyperfeinstruktur unterscheiden, enthalten in 2- und 6-Stellung je eine H- und eine  $\text{CH}_3$ -Gruppe, sind also «asymmetrisch» substituiert. Beobachtungen an Kalottenmodellen zeigen, dass auch die Struktur der  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexe mit den Liganden (i) und (ii) wesentlich verschieden sein dürfte: Bei quadratisch planarer Konfiguration, die allgemein für  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexe charakteristisch ist [8], können die Pyridinringe im  $\text{Cu}(\text{Pyridin})_4^{2+}$  aus sterischen Gründen nicht in der durch die 4  $\text{Cu}^{2+}$ -N-Bindungen festgelegten  $x, y$ -Ebene liegen, wohl aber annähernd senkrecht dazu. Nach Einbau

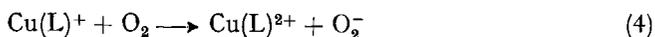
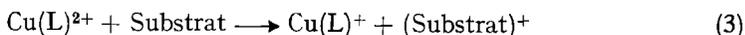
von Methylgruppen in 2- oder in 2- und 6-Stellung des Pyridins ist auch die Koordination des  $\text{Cu}^{2+}$  mit vier Ligandmolekeln, die senkrecht zur  $x, y$ -Ebene stehen, nur nach Überwindung einer beträchtlichen sterischen Hinderung möglich. Währenddem eine Deformation der planaren Konfiguration für 2,6-Dimethylpyridine keine sterisch günstigere Struktur ergibt, können die 2-Methylpyridine in einem tetraedrisch deformierten  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplex der sterischen Hinderung weitgehend ausweichen.

Da die Unterschiede in der Basizität des Pyridinstickstoffs die ESR.-Spektren nicht messbar beeinflussen und die verschiedenen Liganden PYR sich weiter nur in bezug auf die sterische Beeinflussung der Komplexbildung mit  $\text{Cu}^{2+}$  wesentlich unterscheiden, ist es naheliegend, die beobachteten Abweichungen auf die auf Grund der Beobachtungen an den Kalottenmodellen für 2-Methylpyridine zu erwartende tetraedrische Verzerrung der planaren Struktur zurückzuführen. Eine entsprechende Deutung der  $\text{Cu}(\text{PYR})_4^{2+}$ -Spektren ergibt sich aus einem Vergleich mit früheren Untersuchungen: Die Unterschiede zwischen den ESR.-Spektren von  $\text{Cu}(\text{Cl})_4^{2-}$  [9] und  $\text{Cu}(\text{Cl})_4^{2-}$  [10], die unter den in [9] und [10] gewählten Bedingungen eine tetragonale bzw. tetraedrische Struktur aufweisen, entsprechen weitgehend den für die Spektren der  $\text{Cu}(\text{PYR})_4^{2+}$  gefundenen Abweichungen. Die  $g$ -Werte stimmen annähernd überein, aber das  $\text{CuCl}_4^{2-}$ -Spektrum ergibt sehr kleine Werte für die Cu-HFS.-Kopplungskonstanten und weist im Gegensatz zum  $\text{Cu}(\text{Cl})_4^{2-}$ -Spektrum keine Ligandenhyperfeinstruktur auf. Auf die Möglichkeit, dass das  $\text{Cu}^{2+}$ -Ion in Komplexen mit organischen Liganden durch sterische Hinderung der Ausbildung einer planaren Struktur in eine annähernd tetraedrische Konfiguration gezwungen werden kann, wurde schon mehrmals hingewiesen [8] [11] [12]. ESR.-Messungen an solchen annähernd tetraedrischen  $\text{Cu}^{2+}$ -Verbindungen ergaben ebenfalls sehr kleine Kopplungskonstanten der Cu-HFS. [12]. Eingehende theoretische Untersuchungen der verschiedenen Kupferverbindungen zeigten, dass die beobachteten Unterschiede in den ESR.-Spektren vorwiegend auf Beimischung von 4  $p$ (Cu)-Orbitalen zum Grundzustand der tetraedrisch koordinierten  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexe zurückzuführen sind [10] [12].

Die an verschiedenen niedermolekularen  $\text{Cu}^{2+}$ -Verbindungen beobachtete Abhängigkeit der Parameter der ESR.-Spektren von der Symmetrie des Ligandfeldes ist besonders interessant im Hinblick auf eine mögliche Deutung der ESR.-Spektren gefrorener wässriger Lösungen von kupferhaltigen Elektronentransferoxydasen, z. B. Ceruloplasmin und Laccase, die auffallend kleine Cu-HFS.-Kopplungskonstanten  $A_{\parallel}$  aufweisen [3]. Die kleinen  $A_{\parallel}$ -Werte sind den enzymatisch aktiven Verbindungen zuzuschreiben, denn die Spektren der denaturierten Enzyme unterscheiden sich nicht wesentlich von den allgemein für  $\text{Cu}^{2+}$ -Komplexe gefundenen [3]. Da die spektralen Besonderheiten zumindest für einige der kupferhaltigen Proteine durch die Struktur eines einzelnen  $\text{Cu}^{2+}$ -Ions zu erklären sind [13], ist es denkbar, dass auch die kleinen  $A_{\parallel}$ -Werte<sup>4)</sup> dieser Verbindungen auf einer annähernd tetraedrischen Koordination des  $\text{Cu}^{2+}$  beruhen. Die tetraedrische Konfiguration hätte weiter eine thermodynamische Stabilisierung der  $\text{Cu}^+$ -Stufe zur Folge [8] und würde so auch das im Vergleich zu  $E_{\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}}^0$  in wässrigen Lösungen von  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen stark erhöhte Redoxpotential in Lösungen von Laccase [14] verständlich machen.

<sup>4)</sup> Die Messgrösse  $A_{\parallel}$  (s. Fig. 1) hat für einen tetraedrisch verzerrten Komplex natürlich nicht mehr die durch Gleichung (1) definierte physikalische Bedeutung.

Frühere Untersuchungen [15] [16] zeigten, dass die katalytische Wirkung von  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen auf die Autoxydation von aromatischen Polyaminen<sup>5)</sup> durch Koordination des  $\text{Cu}^{2+}$  mit niedermolekularen Liganden, die die  $\text{Cu}^+$ -Stufe stabilisieren, um etwa einen Faktor 50 gesteigert werden kann. Dies ist darauf zurückzuführen, dass durch den Einfluss dieser Liganden der Ablauf der Oxydation nach einem «Zweitaktmechanismus» (3)–(4) [17] ermöglicht wird, während die Katalyse durch freie  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen



nicht auf einer intermediären Reduktion des  $\text{Cu}^{2+}$  zu  $\text{Cu}^+$  beruht [15]. Die thermodynamische Stabilisierung der  $\text{Cu}^+$ -Stufe durch das Ligandfeld ist demnach offenbar eine wesentliche Voraussetzung dafür, dass eine durch  $\text{Cu}^{2+}$ -Verbindungen katalysierte Reaktion mit molekularem Sauerstoff über einen «Zweitaktmechanismus» verläuft. Da für die Wirkungsweise der durch kleine  $A_{\parallel}$ -Werte<sup>4)</sup> charakterisierten kupferhaltigen Elektronentransferoxydasen ein zu (3)–(4) weitgehend analoger Reaktionsmechanismus charakteristisch ist (z. B. [18]), wäre auf Grund der oben vorgeschlagenen Interpretation der ESR.-Spektren auch verständlich, dass bei der Denaturierung dieser Enzyme gleichzeitig die enzymatische Aktivität und die Besonderheiten des ESR.-Spektrums verschwinden: In den denaturierten Verbindungen fehlt die für die kleinen  $A_{\parallel}$ -Werte<sup>4)</sup> der ESR.-Spektren und für die Stabilisierung der  $\text{Cu}^+$ -Stufe verantwortliche tetraedrische Symmetrie der Koordinationssphäre des  $\text{Cu}^{2+}$ .

Die Durchführung der vorliegenden Untersuchungen wurde durch ein Stipendium der STIFTUNG FÜR STIPENDIEN AUF DEM GEBIETE DER CHEMIE ermöglicht. Herrn Prof. Dr. S. FALLAS danke ich für viele anregende Diskussionen über diese Arbeit.

#### SUMMARY

The e.s.r. spectra of aqueous solutions of  $\text{Cu}^{2+}$ -complexes with a series of methylpyridines (PYR) have been investigated at liquid nitrogen temperature. The experimental data indicate that the formula  $\text{Cu(PYR)}_4^{2+}$  holds for the compounds in the frozen solutions. The marked decrease of the copper hyperfine coupling constant for some of the complexes is explained in terms of a distortion of the square planar structure towards a tetrahedral environment of the  $\text{Cu}^{2+}$ . An analogous interpretation of the e.s.r. spectra of some copper containing electron-transfer-oxidases, e. g. ceruloplasmin and laccase, presents a possible explanation of the experimentally observed connections between the spectra and the enzymatic activity of these compounds.

Institut für anorganische Chemie  
Universität Basel

#### LITERATURVERZEICHNIS

- [1] D. KIVELSON & R. NEIMAN, J. chem. Physics 35, 149 (1961).  
 [2] R. NEIMAN & D. KIVELSON, J. chem. Physics 35, 156 (1961).  
 [3] B. G. MALMSTRÖM & T. VÄNNGÅRD, J. mol. Biol. 2, 118 (1960).

<sup>5)</sup> In [16] wurde über die Autoxydation von *o*-Phenylendiamin berichtet. Entsprechende Versuche mit *p*-Phenylendiamin, das oft als Substrat für die Untersuchung der enzymatischen Aktivität von kupferhaltigen Elektronentransferoxydasen verwendet wird [18], ergaben weitgehend analoge Resultate.

- [4] J. BJERRUM, *Acta chem. scand.* **18**, 843 (1964).  
 [5] H. M. MC CONNELL, *J. chem. Physics* **25**, 709 (1956).  
 [6] W. SCHNEIDER & A. V. ZELEWSKY, *Helv.* **48**, 1529 (1965).  
 [7] R. J. BRUEHLMANN & F. H. VERHOEK, *J. Amer. chem. Soc.* **70**, 1401 (1948); C. J. HAWKINS & D. D. PERRIN, *J. chem. Soc.* **1962**, 1351.  
 [8] A. F. WELLS, «*Structural Inorganic Chemistry*» (3. Aufl. 1962), p. 857ff.  
 [9] J. M. H. THORNLEY, B. W. MANGUM, J. H. E. GRIFFITHS & J. OWEN, *Proc. physic. Soc. (London)* **78**, 1263 (1961).  
 [10] M. SHARNOFF, *J. chem. Physics* **42**, 3383 (1965).  
 [11] F. LIONS & K. V. MARTIN, *J. Amer. chem. Soc.* **79**, 1273 (1957).  
 [12] C. A. BATES, W. S. MOORE, K. J. STANDLEY & K. W. H. STEVENS, *Proc. physic. Soc. (London)* **79**, 73 (1962).  
 [13] H. S. MASON, *Biochem. biophysic. Research Comm.* **10**, 11 (1963).  
 [14] T. NAKAMURA, *Biochim. biophysica Acta* **30**, 44 (1958).  
 [15] K. WÜTHRICH & S. FALLAB, *Helv.* **47**, 1440 (1964).  
 [16] K. WÜTHRICH & S. FALLAB, *Helv.* **47**, 1609 (1964).  
 [17] S. FALLAB, *Z. naturw.-med. Grundlagenforsch.* **7**, 333 (1963).  
 [18] T. NAKAMURA, *Biochim. biophysica Acta* **30**, 538, 640 (1958); H. BEINERT, D. E. GRIFFITHS, D. C. WHARTON & R. H. SANDS, *J. biol. Chemistry* **237**, 2337 (1962); J. PEISACH & W. G. LEVINE, *Biochim. biophysica Acta* **77**, 615 (1963); E. WALAAS, O. WALAAS & S. HAAVALDSEN, *Arch. Biochemistry Biophysics* **100**, 97 (1963).

## 158. Zur Berechnung der Aciditätskonstante von Sorbit aus der Sorbitolysekinetik von Reaktivfarbstoffen

4. Mitteilung über reaktionsmechanistische Untersuchungen an Reaktivfarbstoffen<sup>1)</sup>

von P. Rys und Hch. Zollinger

(27. IV. 66)

Diskussionen mit den Herren Drs. J. R. ASPLAND und A. JOHNSON (College of Science and Technology, Universität Manchester) veranlassten uns, die Grundlagen des von uns aus der Sorbitolysekinetik eines Monochlortriazinreaktivfarbstoffes bestimmten  $pK$ -Wertes von *D*-Sorbit [1] zu überprüfen. Unsere Berechnungen setzten für alle Reaktionslösungen mit verschiedenen Sorbitkonzentrationen aber gleicher Pufferzusammensetzung den gleichen pH-Wert von 11,57 voraus. Wie jedoch aus der Kolonne der berechneten Hydroxylionenkonzentrationen von Tab. 2 [1] hervorgeht, nimmt diese mit steigender Sorbitkonzentration ab. Daraus ergibt sich ein etwas veränderter  $pK$ -Wert des Sorbits (vgl. Tabelle; nach [1]:  $pK = 13,14$ ).

Daraus ergeben sich folgende grundsätzlich unwesentlichen Änderungen bei der Berechnung der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten in der 3. Mitteilung [1]:

$${}_1k_1^{OR} = 1,31 \cdot 10^{-1} \quad (\text{statt } 1,81 \cdot 10^{-1}) \quad [s^{-1} \cdot \text{Mol}^{-1} l];$$

$$\frac{{}_1k_1^{OR}}{{}_1k_1^{OH}} = 26,8 \quad (\text{statt } 37,0).$$

<sup>1)</sup> 3. Mitteilung vgl. [1].