

Dicyano-bis(pyridin-2,6-dicarbothioato)-ferrat (II)/ferrat (III), ein weiteres eisenhaltiges Redoxsystem aus der Kulturlösung eines *Pseudomonas*-Stammes [1]

Dicyano-bis(pyridin-2,6-dicarbothioato)-ferrate (II)/ferrate (III), a Further Fe Containing Redox System from the Culture Medium of *Pseudomonas* sp.

U. Hildebrand, K. Taraz und H. Budzikiewicz,

Institut für Organische Chemie der Universität, Greinstraße 4, D-5000 Köln 41, Bundesrepublik Deutschland

H. Korth und G. Pulverer,

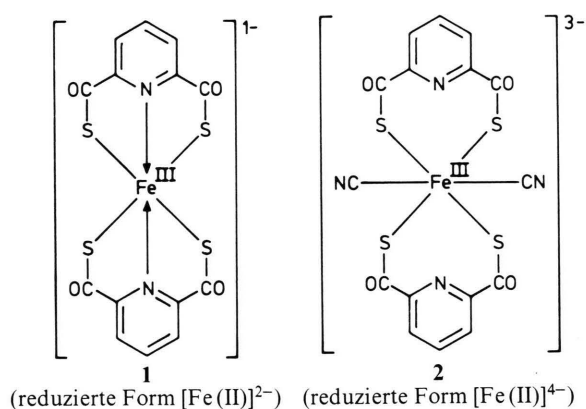
Hygiene-Institut der Universität, Goldenfelsstr. 21, D-5000 Köln 41, Bundesrepublik Deutschland

Z. Naturforsch. **40 c**, 201–207 (1985); received December 3, 1984

Redox System, Fe Complex, Thio Acids, Electron Transport, *Pseudomonas*

From the culture medium of *Pseudomonas* sp. a further Fe containing complex, viz. dicyano-bis(pyridin-2,6-dicarbothioato)-ferrate(III) (**2**) has been isolated which participates in a ferrate(II)/ferrate(III) redox system (normal potential of -0.013 V) in the range of the redox potentials of cytochromes. Pyridine-2,6-di(monothiocarboxylic acid) which originally has been considered to be characteristic for *Pseudomonas putida* has been found recently as a metabolite of other bacterial strains (two of which have been characterized in this paper) as well.

In früheren Arbeiten [2] haben wir berichtet, daß *Pseudomonas putida* Pyridin-2,6-di(monothiocarbonsäure) – eine Verbindung, die bei systematischer Prüfung neuerdings bei immer mehr Bakterienstämmen nachgewiesen werden kann – in das Kulturmedium abgibt, welche mit Fe^{2+} -Ionen einen Bis-(pyridin-2,6-dicarbothioato)ferrat(II)-Komplex bildet, der an der Luft schnell zum entsprechenden Ferrat(III)-Komplex (**1**) oxidiert wird. Aus der Kulturlösung eines verwandten Bakterienstammes (NST, s. Tab. I) konnte nun neben **1** ein zweiter Eisenkomplex in der oxidierten (in der Kulturlösung liegt z.T. auch die reduzierte Form vor) Form isoliert und als Dicyano-bis(pyridin-2,6-dicarbothioato)-ferrat(III) (**2**) identifiziert werden. Auch dieser Komplex bildet ein reversibles Ferrat(II)/Ferrate(III)-Redoxsystem. Bemerkenswert ist, daß die Redoxpotentiale (s.u.) der beiden Komplexe im Bereich der am Elektronentransport der Atmungskette beteiligten Cytochrome liegen. Die Bildung von CN^- -Ionen durch *Pseudomonas*-Arten ist mehrfach beschrieben worden [3].



Strukturermittlung

Der Komplex **2** läßt sich aus dem angesäuerten Kulturmedium an Polyamidpulver adsorbieren und nach Waschen mit H_2O und CH_3OH zur Entfernung von Salzen und organischen Säuren (insb. Fettsäuren) mit verdünnter NH_3 -Lösung wieder eluieren, wodurch auch eine Trennung von dem bedeutend stärker adsorbierten **1** möglich ist. Weitere Reini-

Reprint requests to Prof. Dr. H. Budzikiewicz.
0341-0382/85/0300-0201 \$ 01.30/0



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

gung erfolgt durch Chromatographie an Kieselgel sowie durch Kristallisation des durch Kationenaustausch erhaltenen K_3^+ - bzw. $[(C_2H_5)_4N^+]_3$ -Salzes aus Butanol.

Während die Salze stabil sind, spaltet H_3^+ – **2** schon beim leichten Erwärmen HCN ab und geht in **1** über, wobei allerdings auch teilweise Hydrolyse der Thiocarbonsäure-Liganden beobachtet wird. Glatter verläuft der Zerfall der reduzierten Form (Zusatz von $Na_2S_2O_4$ zur wäßrigen Lösung), der bei 29 °C in 6 Std. abgeschlossen ist. Der Prozeß läßt sich UV/VIS-spektroskopisch verfolgen; das Auftreten von drei isosbestischen Punkten zeigt, daß dabei keine stabilen Zwischenprodukte durchlaufen werden (Abb. 1).

Umgekehrt kann man **2** durch Zugabe von CN^- -Ionen zu einer Lösung von **1** synthetisieren. Präparativ am günstigsten ist die Umsetzung von $[(C_2H_5)_4N^+]_3$ –**1** in Dimethylsulfoxid/ H_2O mit einem dreifachen Überschuß an KCN. Als Nebenprodukte entstehen dabei allerdings $[Fe(CN)_6]^{3-}$ und Pyridin-2,6-di(monothiocarbonsäure). Sauberer verläuft die Reaktion bei Umsetzen des Pyridinium-Salzes von **1** [2] mit KCN in wäßriger Lösung. Das Auftreten von isosbestischen Punkten (Abb. 2) zeigt wieder, daß stabile Zwischenstufen nicht auftreten.

Die durch die geschilderten Versuche nahegelegte strukturelle Verwandtschaft von **2** und **1** wird durch spektroskopische Untersuchungen bestätigt. So zeigen die IR-Spektren der $(C_2H_5)_4N^+$ -Salze beider Verbindungen (1617 und 1585 (ν_{CO}), 1487, 1400, 1261, 928, 827, 756 cm^{-1} für **2**, 1618, 1586, 1490, 1404, 1255, 921, 823, 751 cm^{-1} für **1**) weitestgehende Übereinstimmung. Wären die Pyridin-2,6-di(monothiocarbonsäure)-Liganden nicht über die Schwefelatome oder nur über eine COS^- -Funktion mit dem Eisen koordiniert, würde sich dies insbesondere im Carbonylbereich bemerkbar machen (ν_{COS^-} 1538 und 1488 cm^{-1} beim Pyridiniumsalz der unkomplexierten Säure [4]).

Das Vorliegen von zwei Pyridin-2,6-di(monothiocarbonsäure)-Liganden ergibt sich aus den UV-Spektren der $(C_2H_5)_4N^+$ -Salze von **1** und **2** (die Extinktionskoeffizienten der kürzestwelligen Bande, die dem Pyridinsystem zuzuordnen ist, stimmen überein: λ (log ϵ) 248 nm (4,46) bei **2**, 240 nm (4,54) bei **1**) sowie dem 1H -NMR-Spektrum (Integration 1:6:4 für 6 aromatische und 36 bzw. 24 aliphatische H der drei $(CH_3CH_2)_4N^+$ -Kationen).

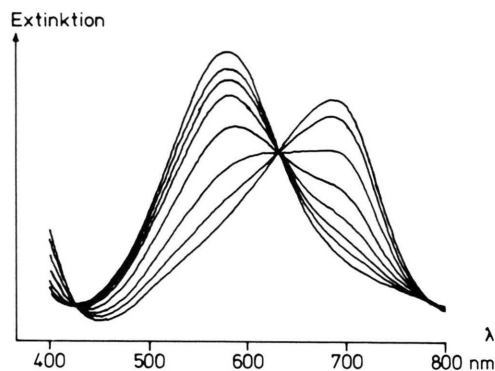


Abb. 1. Änderung des UV/VIS-Spektrums während des Zerfalls von H_4^+ -Dicyano-bis(pyridin-2,6-dicarbothioato)-ferrat(II) ($\lambda_{max} = 573$ nm) in die reduzierte Form von **1** ($\lambda_{max} = 683$ nm) und 2HCN.

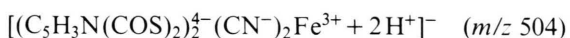


Abb. 2. Änderung des UV/VIS-Spektrums während der Reaktion von Pyridinium – **1** mit KCN; das Spektrum der Ausgangssubstanz ist dick gezeichnet.

Die Anwesenheit von koordinativ gebundenen Cyanogruppen bestätigt eine IR-Bande bei 2100 cm^{-1} : Die CN-Schwingungen liegen z. B. bei $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ bei 2120 und 2042 cm^{-1} , bei Nitrilen im Bereich von 2200 bis 2290 cm^{-1} [5]. Dies schließt eine Substitution am Pyridinring aus. Das Vorliegen von zwei Cyanogruppen je Komplexanion ergab schließlich eine argentometrische Bestimmung (s. Exp. Teil) sowie das verbrennungsanalytisch bestimmte Verhältnis $\text{Fe}:\text{N} = 1:4$.

Im Einklang mit der vorgeschlagenen Struktur **2** stehen auch die Wanderungsgeschwindigkeiten bei der Papierelektrophorese ($\text{HCOOH}/\text{CH}_3\text{COOH}$ -Puffer): **2** wandert dreimal so schnell wie **1**, was bei der etwa gleichen Molekülgröße einem Ladungsverhältnis von $3:1$ entspricht.

Das FAB-Massenspektrum (neg. Ionen, Matrix Glycerin) des K_3^+ -Salzes von **2** ist im oberen Massenbereich unübersichtlich.



ist zu erkennen, aber es findet sich im Bereich von $m/z\ 450$ bis 600 eine Reihe weiterer ähnlich intensiver Ionen, die durch Anlagerung von H^+ , K^+ und Glycerin an Fragmentionen entstanden sind [6].

Charakteristischer sind die Bruchstücke im unteren Massenbereich, die in analoger Weise auch bei **1** beobachtet worden sind [2], wie z. B.



$[m/z\ 253 + \text{CN}]^-$ ($m/z\ 279$, 100%), $[m/z\ 253 + \text{CN} + \text{K}]^-$ ($m/z\ 318$), $[m/z\ 253 + 2\text{CN}]^-$ ($m/z\ 305$), $[m/z\ 253 + 2\text{CN} + \text{K}]^-$ ($m/z\ 344$), $[m/z\ 344 + \text{K}]^-$ ($m/z\ 383$) sowie $[(\text{C}_5\text{H}_3\text{N}(\text{COS})_2)_2\text{Fe} - 2\text{COS} + \text{H} + \text{K}]^-$ ($m/z\ 370$) und $[m/z\ 370 + \text{K}]^-$ ($m/z\ 409$). Bei Messung des $[(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{N}^+]_3$ -Salzes erfahren die Ionen $m/z\ 318$, 344 , 383 , 370 und 409 eine entsprechende Verschiebung ihrer Massen (um 91 u für $\text{K}^+ \rightarrow (\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{N}^+$ bzw. 182 u für $2\text{K}^+ \rightarrow 2(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{N}^+$).

NMR-spektroskopische Untersuchungen

Die ^1H -NMR-Spektren bedürfen noch einer Anmerkung. In $[(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{N}^+]_3 - \mathbf{2}$ besitzt das Fe^{3+} ein ungepaartes Elektron, was neben der Kontakt- bzw. Pseudokontaktverschiebung zu Linienverbreiterung der Pyridinsignale führt. Ihre Lage verschiebt sich bei Temperaturveränderung proportional zu $1/T$ [7, 8] (s. Abb. 3). Daß gegenüber **1** die Signale deutlich schärfer sind [2], erklärt sich aus dem durch die

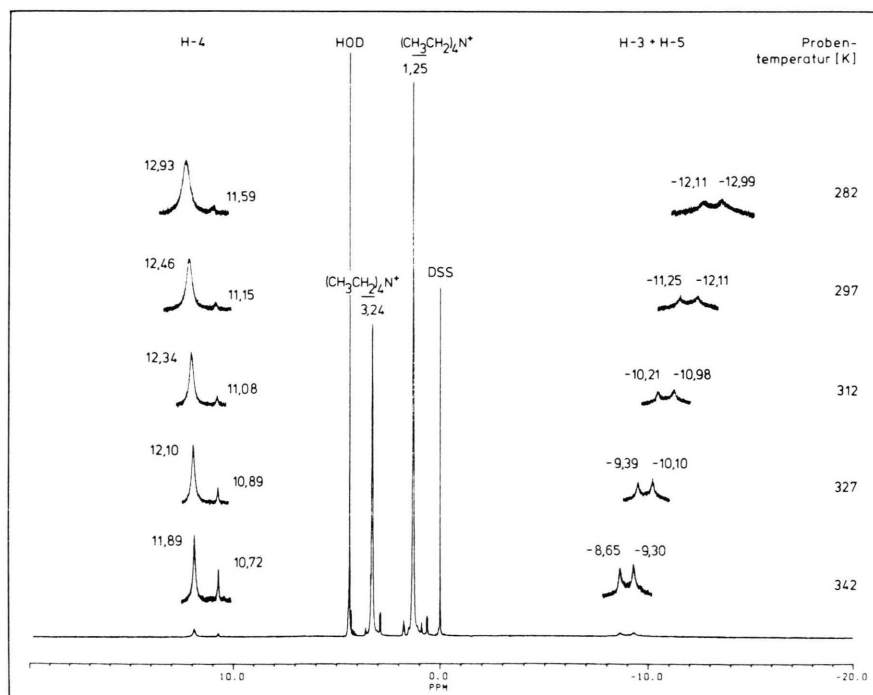


Abb. 3. ^1H -NMR-Spektrum von $[(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{N}^+]_3 - \mathbf{2}$ in D_2O bei verschiedenen Temperaturen. DSS als interner Standard.

Cyanid-Liganden verstärkten low-spin-Charakter [9]. Reduktion des Komplexes führt wegen der weitgehenden Aufhebung der paramagnetischen Störung zu einer Verschiebung der Signale in den Aromatenbereich (Abb. 4a). Die Lage der Signale ist wieder temperaturabhängig (vgl. das erste Spektrum in Abb. 4b), es zeigt sich aber auch ein starker Lösungsmiteinfluß: Mit steigendem DMSO-Anteil tritt zunehmend ein gut aufgelöstes A_2X -System in Erscheinung, während die Intensität der beiden verbreiterten Signale abnimmt (Abb. 4b). Möglicherweise verringert die Solvatisierung der Komplexanionen durch DMSO die paramagnetische

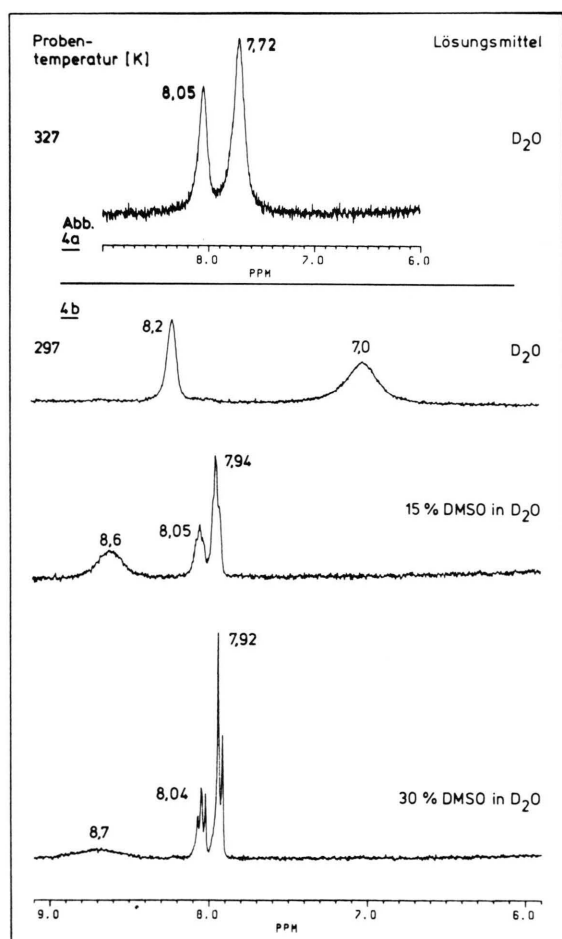


Abb. 4. ^1H -NMR-Spektrum von Natrium-tris(tetraethylammonium)-dicyano-bis(pyridin-2,6-dicarbothioato)-ferrat (II) bei 327 K in D_2O (a) sowie bei 297 K in D_2O bzw. in verschiedenen D_2O /DMSO-Gemischen (b). Interner Standard DSS ($\delta = 0,00$ ppm).

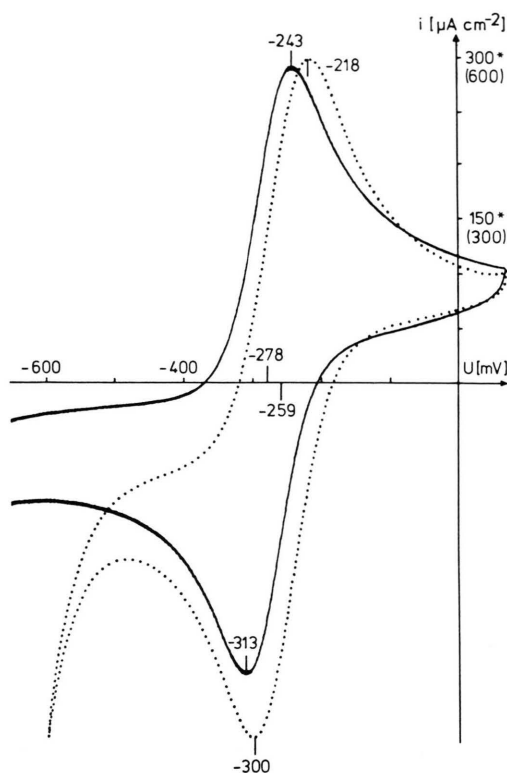


Abb. 5. Cyclovoltammogramme von **2** (gepunktete Linie) und **1** (durchgezogene Linie); i-Werte ohne Klammern gelten für **1**, in Klammern für **2**.

Wechselwirkung zwischen den einzelnen Molekülen. Integration (Abb. 4a) und Lösungsmiteffekte erlauben eine Zuordnung des Hochfeldsignals (4H; Dublett) zu den Pyridinprotonen an C-3 und C-5 und des Tieffeldsignals (2H; Triplet) zu dem an C-4. Die reduzierte Probe erleidet – wie schon bei **1** beobachtet – rasche Reoxidation. Da sich dabei die Verschiebung der beiden Signale bis zu den für $[(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{N}^+]_3 - \mathbf{2}$ beobachteten Werten verfolgen läßt, ist auch hier das Hochfeldsignal (~ -12 ppm) H-3 + H-5 und das Tieffeldsignal ($\sim +12$ ppm) H-4 zuzuordnen (siehe Abb. 3). Bezüglich der beobachteten alternierenden Verschiebung vgl. Ref. [10].

Cyclovoltammetrische Untersuchungen

Um die Redoxsysteme von **1** und **2** näher zu untersuchen und damit auch möglicherweise Anhaltspunkte für die Bedeutung der Komplexe für Mikroorganismen zu erhalten, wurden ihre Cyclovoltammogramme aufgenommen. Dabei erwies sich **1** als

stabiler und zeigte im gesamten Bereich zwischen H_2 - und O_2 -Abscheidung nur einen Redoxvorgang; **2** dagegen geht irreversible Reaktionen ein, wenn der Scan-Bereich zu groß gewählt wird (s. Abb. 5).

Die Messungen wurden in Wasser/DMSO-Lösungen mit einer gesättigten Kalomelelektrode (GKE) als Bezugselektrode durchgeführt. Bezogen auf die GKE ergibt sich für **1** ein Redoxpotential von $-0,278$ V, für **2** ein Potential von $-0,259$ V. Da die Oxidations- und die Reduktionskurven annähernd symmetrisch [11] und die Redoxzyklen unverändert wiederholbar sind, kann das gemessene Ruhepotential unter Berücksichtigung des Umrechnungsfaktors für den Bezug auf die Normal-Wasserstoffelektrode (NHE) als Normalpotential angegeben werden, und zwar für **1** $E_0 = -0,032$ V und für **2** $E_0 = -0,013$ V.

Wird das Potential nicht auf die NHE, sondern – wie in der Biochemie üblich [12] – auf eine Wasserstoffelektrode bei pH 7 bezogen, ergibt sich für **1** $E'_0 = +0,381$ V und für **2** $E'_0 = +0,400$ V. Damit liegen die Potentiale in einem Bereich, in dem auch die einiger Cytochrome liegen. Direkt vergleichbar ist das Potential E'_0 von membrangebundenem Cytochrom a_3 ($+0,385$ V) [12]. Eine Beteiligung von **1** (eventuell auch von **2**) an dem Elektronentransport zur Energiegewinnung der Bakterien ist also denkbar, sofern die Komplexe an den entscheidenden Stellen der Membranen eingebaut werden können.

Der Abstand der Maxima des Oxidations- und des Reduktionspotentials beträgt bei **1** 70 mV (Scan-Geschwindigkeit 100 mV/s), so daß diesem Prozeß ein Einelektronenübergang zugeschrieben werden kann (theoretischer Wert: 59 mV). Bei **2** variieren die Werte zwischen 70 mV bei 25 mV/s Scan-Geschwindigkeit und 95 mV bei 200 mV/s. Der Wert des Ruhepotentials bleibt jedoch dabei konstant. Die leichtere Reduzierbarkeit von **2** gegenüber **1** deckt sich mit theoretischen Überlegungen, die sich aus dem UV-Spektrum ableiten lassen: In der reduzierten Form zeigt **2** ein Absorptionsmaximum bei 573 nm und **1** bei 683 nm. Diesen Wellenlängen entsprechen die Term aufspaltungsenergien von $1/\lambda = 17452$ cm^{-1} für **2** und 14641 cm^{-1} für **1**. Durch die Einführung der Cyanidliganden wird also die Term aufspaltungsenergie größer, was – wie das NMR-Experiment verdeutlicht – eine Verstärkung des low-spin-Charakters und damit eine Erschwerung der Elektronenabgabe bei Oxidationsprozessen zur Folge hat [13].

Taxonomische Einordnung der untersuchten Bakterienstämme

Der bisher [2] untersuchte Bakterienstamm To 8 ist nach seinen morphologischen Merkmalen und Stoffwechselleistungen der Art *Pseudomonas putida* zuzuordnen. Inzwischen isolierte weitere Stämme, die gleichfalls Pyridin-2,6-di(monothiocarbonsäure) bilden – so auch der hier beschriebene NST – zeigen jedoch z.T. unterschiedliches Stoffwechselverhalten wie z.B. die Fähigkeit zum Abbau von Gelatine, und gehören daher nicht zu *Pseudomonas putida* sensu stricto [14]. Die wichtigsten morphologischen und Stoffwechselmerkmale sind in Tab. I zusammengestellt.

Tab. I. Morphologische Merkmale und Stoffwechselleistungen einiger Pyridin-2,6-di(monothiocarbonsäure)-bildender Bakterienstämme

Stamm	To 8 ^a NST ^b O6		
Zellform	Stäbchen, z. T. schwach gekrümmt, polar begeißelt		
Beweglichkeit	+	+	+
Gram-Reaktion	–	–	–
Sporenbildung	–	–	–
anaerobes Wachstum	–	–	–
Bildung von fluoreszierenden Pigmenten	+	–	–
Bildung von Poly- β -hydroxybutyrat	–	–	–
H_2S -Bildung	–	–	–
Gasbildung aus Glucose	–	–	–
Voges-Proskauer-Reaktion	–	–	–
Levan-Bildung	–	–	–
Nitrit-Bildung aus Nitrat	+	+	+
Oxidase	+	+	+
Katalase	+	+	+
Urease	+	+	–
Gelatinase	–	+	+
Substratverwertung:			
Glucose	+	+	+
Gluconat	+	+	+
Sorbose	–	–	–
Saccharose	–	+	+
l-Arabinose	+	+	+
d-Arabinose	–	–	–
Sorbit	–	+	+
Mannit	–	+	+
meso-Inosit	–	+	+
Glucuronsäure	+	–	–
Malonsäure	+	+	–
Chinasäure	+	+	+
Acetat	+	+	+
Citrat	+	+	+
Oxalat	–	–	–
Ethanol	+	+/–	–
Phenylalanin	–	–	–
Tryptophan	–	–	+

^a Für die Untersuchungen in Ref. [2] und den dort zitierten vorausgehenden Arbeiten verwendet (*Pseudomonas putida* sensu stricto).

^b Bildet **2** (s. diese Arbeit).

Experimenteller Teil

Geräte

MS (FAB): Kratos MS 50 S (9 kV, Xe, Auflösung 5000) und VG 7070 E (6 kV, Xe, Auflösung 1500).

IR: Perkin Elmer 283 (CsI-Preßling).

UV: Beckman Spectrophotometer 25.

NMR: Bruker WM 300 und AM 300 (jeweils 300 MHz), δ -Werte, DSS als innerer Standard.

Cyclovoltammetrie: Beschreibung der Meßzelle und Meßanordnung s. Ref. [15]. Bezugselektrode: GKE, Gegenelektrode Pt, Meßelektrode Pt (0,16 cm²).

Elektrophorese: CAMAG-Hochspannungs-Elektrophorese-System 60600, Elektrophoresepapier MN 261 der Firma CAMAG.

Bakterienzucht

Der Stamm NST wurde in 250 ml-Kulturen (12 g Natrium-Gluconat, 4 g KH₂PO₄, 3,2 g (NH₄)₂SO₄, 0,5 g MgSO₄ · 7H₂O und 50 mg Eisencitrat je Liter, mit KOH auf pH 7,3–7,4 eingestellt) still bei 22 °C gezüchtet. Nach ca. zwei Tagen war die maximale Komplexkonzentration erreicht.

Dicyano-bis(pyridin-2,6-dicarbothioato)-ferrat (III), **2**

a) Isolierung von **2** aus dem Kulturmedium

Das zentrifugierte Kulturmedium wurde nach Ansäuern auf pH 1–3 auf eine mit HCl äquilibrierte Polyamidsäule (160 cm³; Polyamid zur Chromatographie der Firma M. Woelm) aufgetragen, diese mit H₂O salzfrei gewaschen und zur Abtrennung der Fettsäuren mit 150 ml CH₃OH eluiert. Anschließend ließ sich **2** mit 300 ml 0,6-prozentiger wäßriger NH₃-Lösung und darauf **1** mit 250 ml NH₃ (konz.)/CH₃OH 1/1 eluieren. Dieses Verfahren eignet sich zur Abtrennung von bis zu 300 mg **2** aus mehreren Litern Medium.

Nach Entfernen des Lösungsmittels bei 30 °C i. V. läßt sich **2** durch Chromatographie an Kieselgel (100 g, Merck, Korngröße 0,040–0,063 mm) weiter reinigen. Als Laufmittel verwendet man 2000 g eines linearen CH₂Cl₂/CH₃OH-Gradienten (von 98% bis 70% CH₂Cl₂). Hierbei wird zunächst **1**, dann [Fe(CN)₆]^{3–} und Pyridin-2,6-di(monothiocarbonsäure) und schließlich **2** eluiert.

b) Synthese und Zerfall von **2**

100 mg (0,17 mmol) (C₂H₅)₄N⁺ – **1** wurden in 15 ml DMSO gelöst, mit 67,2 mg (1,03 mmol) KCN in 25 ml H₂O versetzt, nach 45-stündigem Rühren azeotrop mit Butanol i. V. entwässert und – wie oben beschrieben – chromatographiert. Neben **2** fielen 11% Pyridin-2,6-di(monothiocarbonsäure) an, 3% Ausgangssubstanz blieben erhalten. Die Gewinnung eines einheitlichen Produktes erfordert noch Kationenaustausch: Bei Verwendung von (C₂H₅)₄N⁺ (s. u.) ließen sich 71 mg (47%) kristalline Substanz gewinnen.

Für die UV-spektroskopische Beobachtung der Synthese wurde eine wäßrige Lösung von Pyridinium-bis(pyridin-2,6-dicarbothioato)-ferrat (III) [**2**] mit ca. 5 mg KCN versetzt und in regelmäßigen Zeitabständen vermessen. – Die Verfolgung des Zerfalls von **2** erfolgte nach Reduktion der wäßrigen Lösung mit 5 mg Na₂S₂O₄ in einer gut verschlossenen Meßzelle bei 29 °C.

Tris(tetraethylammonium)-dicyano-bis(pyridin-2,6-dicarbothioato)-ferrat (III), [(C₂H₅)₄N⁺]₃ – **2**

Einer wäßrigen Lösung von **2** wurden mittels Ionenaustausch (Dowex 50 WX 8 der Firma Serva, Heidelberg) die Kationen entzogen und das saure Eluat wurde mit zweifachem Überschuß an Tetraethylammoniumchlorid versetzt. Zur Entwässerung empfiehlt sich die azeotrope Destillation mit Butanol i. V. bei 30 °C; nach erneutem Lösen in Methanol und dem Zusetzen einer geringen Menge Butanol (1–2 ml) kristallisiert das Produkt innerhalb einiger Tage aus und kann filtriert, mit trockenem Butanol und Ethylacetat nachgewaschen und i. V. getrocknet werden.

Wie NMR-Untersuchungen gezeigt haben, bleibt das überschüssige Tetraethylammoniumchlorid in Butanol in Lösung, so daß es das Produkt nicht verunreinigt.

Der Versuch, das Ionenaustauscher-Eluat direkt azeotrop i. V. zu entwässern, führte zur etwa 30-prozentigen Zersetzung von **2** in **1** und HCN.

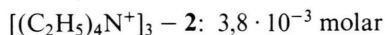
UV (CH₃OH): λ (log ϵ) 248 (4,46), 270 (4,26) sh, 290 (4,16) sh, 345 (3,87) sh, 440 (3,61), 485 (3,35) sh, 625 (3,81).

IR: 354, 415, 615, 678, 756, 787*, 827, 928, 1002*, 1176*, 1261, 1400, 1413*, 1465*, 1487, 1585 (sh), 1617, 2122, 2990* cm^{–1}; die mit * gekennzeichneten Banden sind den (C₂H₅)₄N⁺-Ionen zuzuordnen.

MS (FAB): Matrix Glycerin + Triethylenglycol, s. Text.

$^1\text{H-NMR}$: s. Text.

Cyclovoltammetrie: Konzentration von



in DMSO/ H_2O = 1/1 mit KClO_4 (0,24 molar) als Leitelektrolyt, Meßtemperatur: 25 °C, pH 7. Weitere Angaben s. Text. Konzentration von $(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{N}^+ - \mathbf{1}$: $3,2 \cdot 10^{-3}$ molar im gleichen Medium. Meßtemperatur: 22 °C.

Zur quantitativen Bestimmung der Cyanoliganden wurden 17,9 mg (20,1 μmol) $[(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{N}^+]_3 - \mathbf{2}$ in 1,7 g H_2O und 0,1 g DMSO gelöst und innerhalb von zwei Tagen in mehrfachen Portionen mit insgesamt ca. 50 mg $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ versetzt. Während dieser Zeit kristallisierten in dem geschlossenen Gefäß 10,3 mg (17,8 μmol) $(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{N}^+ - \mathbf{1}$ aus. Die Cyanidionen wurden nach Filtration der Reaktionslösung und Alkalisierung auf pH 9 mittels einiger Tropfen 2 n KOH-Lösung argentometrisch bestimmt [16]. Die Cyanidionenkonzentration betrug 41,0 μmol . Daraus ergibt sich ein Verhältnis von $\mathbf{1}$ zu CN gleich 1 : 2.

Trikalium-dicyano-bis(pyridin-2,6-dicarbothioato)-ferrat (III), $\text{K}_3 - \mathbf{2}$

Dieses Salz ließ sich in analoger Weise gewinnen, jedoch wurde das saure Ionenaustauscher-Eluat über eine mit K^+ -Ionen beladene Ionenaustauschersäule geleitet.

IR: 355, 417, 616, 758, 834, 937, 1156, 1267, 1416, 1574, 1589, 1622, 1631, 2100, 3092 cm^{-1} .

MS (FAB): Matrix Glycerin, s. Text.

Elementaranalyse: Fe 9,4%, N 9,8% (ber. für $\text{C}_{16}\text{H}_6\text{FeK}_3\text{N}_4\text{O}_4\text{S}_4$ Fe 9,0%, N 9,0%).

Natrium-tris(tetraethylammonium)- und Trikalium-natrium-dicyano-bis(pyridin-2,6-dicarbothioato)-ferrat (II)

In der Oxidationsstufe Fe(II) ist der Komplex unter atmosphärischen Bedingungen nicht stabil, sondern wird leicht oxidiert; nur in Lösungen mit überschüssigem Reduktionsmittel ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) läßt sich die Substanz charakterisieren.

UV (H_2O): λ (log ϵ): 573 (3,80).

$^1\text{H-NMR}$: $[(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{N}^+]_3 - \mathbf{2}$ (DMSO/ D_2O = 1 : 3, T = 308 K): 1,24 ppm (t, 36 H): $(\text{CH}_3 - \text{CH}_2)_4\text{N}^+$; 3,23 ppm (q, 24 H): $(\text{CH}_3 - \text{CH}_2)_4\text{N}^+$; 7,2–8,3 ppm (6 H): aromatische H, weitere Angaben s. Text.

Danksagung

Für die Aufnahme der Cyclovoltammogramme möchten wir Herrn Prof. Dr. W. Vielstich und Herrn U. Vogel, Institut für Physikalische Chemie der Universität Bonn, für die FAB-Messungen den Herren Dr. L. Grotjahn, Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH, Braunschweig, und Dr. M. Linscheid, Institut für Spektrochemie, Dortmund, sehr danken. Gleichfalls danken wir der Deutschen Forschungsgemeinschaft sowie dem Verband der Chemischen Industrie für großzügige Förderung.

Die Elementaranalyse wurde im Mikroanalytischen Labor Pascher, Bonn, durchgeführt.

- [1] Teil XXIII der Reihe „Bakterieninhaltsstoffe“. Für Teil XXII s. U. Hildebrand, K. Taraz und H. Budzikiewicz, J. Labelled Compd. Radiopharm., im Druck.
- [2] U. Hildebrand, J. Lex, K. Taraz, S. Winkler, W. Ockels u. H. Budzikiewicz, Z. Naturforsch. **39b**, 1607 (1984) und dort zitierte Arbeiten.
- [3] Z. B. R. A. Askeland u. S. M. Morrison, Appl. Environ. Microbiol. **45**, 1802 (1983); L. R. Freeman, P. Angelini, G. J. Silverman u. C. Merritt, jr., Appl. Microbiol. **29**, 560 (1975).
- [4] U. Hildebrand, W. Ockels, J. Lex u. H. Budzikiewicz, Phosphorus and Sulfur **16**, 361 (1983).
- [5] Ch. J. Pouchert, The Aldrich Library of Infrared Spectra, 2nd Ed. Milwaukee 1975.
- [6] H. Budzikiewicz, Spectra **9**, 44 (1983).
- [7] E. Becker, High Resolution NMR, S. 81, 2nd Ed., Academic, New York 1980.
- [8] I. Morishima, S. Ogawa, T. Yonezawa u. T. Iizuka, Biochim. Biophys. Acta **532**, 48 (1978).
- [9] E. Uhlemann, Einführung in die Koordinationschemie, S. 54 u. 65, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1977.
- [10] R. A. Dwek, NMR in Biochemistry, S. 57, Clarendon, Oxford 1975.
- [11] B. Speiser, Chemie in unserer Zeit **15**, 62 (1981).
- [12] A. L. Lehninger, Biochemie, 2. Aufl., S. 392, Verlag Chemie, Weinheim 1979.
- [13] Ref. [9], S. 52 u. 62.
- [14] Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed., S. 220, Williams and Wilkins Company, Baltimore 1974.
- [15] W. Vielstich u. W. Schmickler, Grundzüge der Physikalischen Chemie IV (Elektrochemie II), S. 107f., Dietrich Steinkopf, Darmstadt 1976.
- [16] G. Jander, K. F. Jahr u. H. Knoll, Maßanalyse, 13. Aufl., S. 234f., Walter de Gruyter, Berlin 1973.