

Р. РАУДСЕПП, И. АРРО

МЁССБАУЭРОВСКИЕ СПЕКТРЫ НЕКОТОРЫХ КОМПЛЕКСОВ АМИНОКИСЛОТА—ЖЕЛЕЗО

Введение

Известно, что очень многие белки содержат железо. Все железосодержащие белки можно разделить на два больших класса:

гемопротейны, в которые железо входит в виде комплекса с порфирином;

металлопротейны, которые характеризуются тем, что атомы железа непосредственно связаны с белком, содержащим большое число атомов с неподеленными парами электронов (N, S, O) [1].

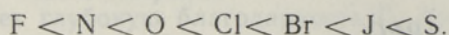
Раскрытие биологической функции белков, содержащих атомы металла (в том числе железа), требует детальных сведений о структуре активного центра и об электронных состояниях атома металла на разных стадиях биохимического процесса. Среди других методов эффект Мёссбауэра позволяет нам изучать железосодержащие белки и комплексные соединения железа. Анализ важнейших параметров мёссбауэровских спектров — изомерного сдвига (δ), квадрупольного расщепления (ΔE_Q) и их температурных зависимостей — позволяет во многих случаях получить уникальную информацию об электронной структуре входящего в блок железа и в некоторых случаях о его ближайшем окружении. Измерение величины резонансного эффекта (ϵ) в образцах, находящихся в различных температурных условиях и агрегатных состояниях, часто дает возможность сделать выводы относительно прочности связи атома железа с другими атомами или молекулярными группами. Эффект Мёссбауэра уже с успехом использован для исследования гемопротейнов [2] и ряда негеминных белков [3, 4].

Кроме исследования железосодержащих белков, большой интерес представляет определение электронного состояния атома железа и структуры его ближайшего окружения в комплексах аминокислота—железо. Во-первых, последние интересны как модели более сложных белковых комплексов, и, во-вторых, они дают возможность выявить состояние железа до его включения в различные биологические структуры. Пока эти комплексы исследованы весьма недостаточно [5, 6]. Данная работа является продолжением исследований комплексов аминокислота—железо, начатых в предыдущей работе [7].

Первый мёссбауэровский параметр, изомерный сдвиг (δ), обусловлен электростатическим взаимодействием между зарядом, распределенным по ядру, и зарядом электронов, характеризующихся конечной величиной вероятности их нахождения в области ядра. Таким образом, изменение плотности s -электронов на ядре железа в поглотителе приводит к изме-

нению изомерного сдвига. Так как плотность *s*-электронов зависит от степени ковалентности атомной связи, то по изменению изомерного сдвига можно судить о характере ковалентности этой связи [8].

Известно, что в комплексах переходных металлов облако электронного заряда центрального атома более диффузионно, чем в свободном ионе — это так наз. нефелоксетический эффект лигандов [9]. Обычный порядок расположения лигандов в нефелоксетическом ряду соответствует возрастанию их поляризуемости, понижению электроотрицательности и усилению тенденции к образованию ковалентных связей, т. е.



В [10] показано, что в случае высокоспиновых соединений двух- и трехвалентного железа (электронная конфигурация $t_{2g}^4 e_g^2$ и $t_{2g}^3 e_g^2$ соответственно) порядок изменения изомерных сдвигов в ряду соединений из перечисленных донорных атомов часто совпадает с порядком этих же атомов в нефелоуксетическом ряду. Это дает некоторые возможности для проведения корреляции между ними [11].

Второй мёссбауэровский параметр, квадрупольное расщепление (ΔE_Q), связан с асимметрией электрического поля на ядре железа. Основной вклад в градиент электрического поля дают частично заполненные *d*-оболочки: в случае трехвалентного железа внешняя оболочка имеет конфигурацию $3d^5$ и состояние $^6S_{1/2}$. Наполовину заполненная $3d$ -оболочка образует сферически симметричное расщепление заряда и, следовательно, не дает вклада в градиент электрического поля. Само наличие градиента в месте расположения атома свидетельствует о том, что симметрия его положения ниже кубической, а величина градиента дает информацию о силе поля лигандов или позволяет судить о структуре непосредственного окружения атома железа. Температурная зависимость квадрупольного расщепления отражает изменения структуры и электронных плотностей в молекуле [12].

Экспериментальная часть

Синтез образцов. Для исследования мёссбауэровских спектров были синтезированы комплексные соединения D-, L-глицина, D-, L-лейцина, D-, L-метионина, D-, L-лизина и D-, L-триптофана с небогащенным FeIII (содержание ^{57}Fe — 2,17%).

Синтез комплекса глицин—железо проводился в солянокислом растворе хлорного железа путем обработки его раствором глицина, наполовину нейтрализованного едким натром, в отношении Гли Н : Fe = 3 : 1. Полученный комплекс осаждался добавлением ацетона. Осадок промывался эфиром для удаления избытка хлорного железа и высушивался над серной кислотой [13].

Комплексы лейцина и метионина были синтезированы из соответствующих водных растворов натриевых солей названных кислот и хлорного железа [14]. Молярные отношения аминокислоты и железа были 2 : 1. Раствор комплекса выпаривался досуха и экстрагировался эфиром для выделения хлорного железа. Комплекс растворялся в абсолютном метаноле и выпаривался в вакууме досуха. Полученные кристаллы высушивались над пятиокисью фосфора.

Комплексы D-лизина, L-лизина и триптофана синтезировались по вышеуказанной методике, но из свободных аминокислот.

Методика исследования. Мёссбауэровские спектры поликристаллических комплексов аминокислота—железо для γ -перехода в

^{57}Fe (14,4 кэв) измерялись на спектрометре постоянного ускорения, сконструированном в Институте физики и астрономии АН ЭССР на базе многоканального анализатора LP 4050. Калибровки спектров проводились относительно нитропрусида натрия ($\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Источником служил ^{57}Co в палладии (активность ~ 5 мкюри). В случае комплекса метионин—железо использовался источник ^{57}Co в нержавеющей стали (активность ~ 2 мкюри). Источник поддерживался при комнатной температуре. Спектры были измерены при температурах поглотителей 82 и 295 °К. Толщина поглотителя, помещенного в пенопластовый криостат, выбиралась такой, чтобы обеспечить концентрацию $^{57}\text{Fe} \sim 0,35 \text{ мг/см}^2$.

Обсуждение результатов

Параметры мёсбауэровских спектров, полученные нами и взятые из литературы, собраны в таблице. (Все литературные данные изомерных сдвигов, полученные с применением различных источников, пересчитаны относительно нитропрусида натрия согласно [15].)

При всех температурах в спектрах исследованных нами комплексов аминокислота—железо наблюдался дублет. В случае лизин—железо и триптофан—железо, кроме основного дублета, имеется еще малинтенсивный дублет с параметрами, характерными для двухвалентного высокоспинового железа ($\delta \approx 1,1 \div 1,5$ и $\Delta E_Q \approx 2,3 \div 2,9 \text{ мм/сек}$). Появление двухвалентного железа, по-видимому, обяза-

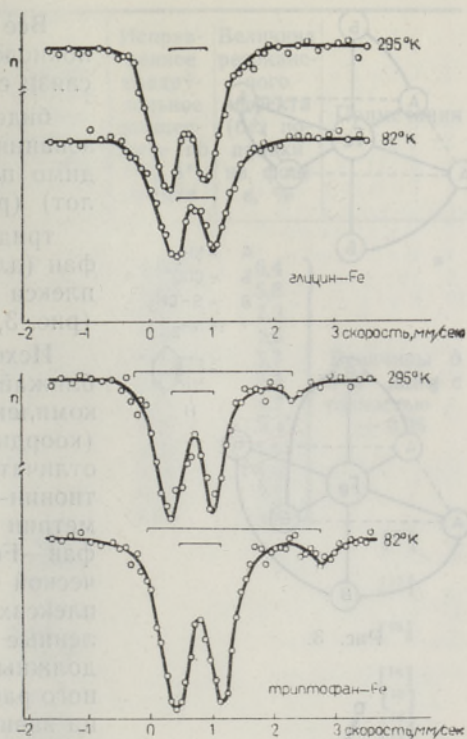


Рис. 1.

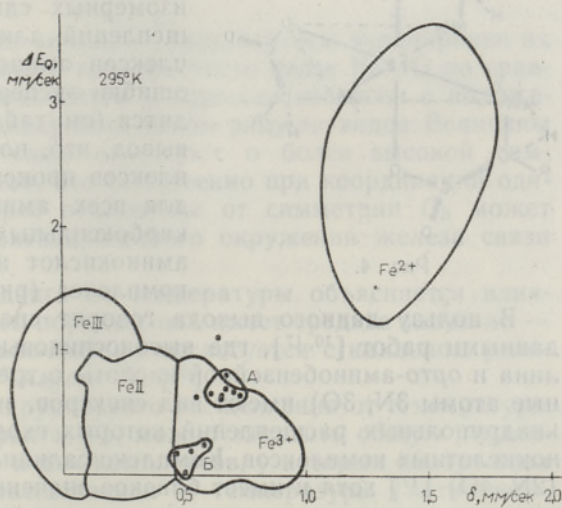


Рис. 2.

но восстановлению части трехвалентного железа в ходе синтеза комплексного соединения. Примеры некоторых спектров приведены на рис. 1.

Из корреляционной диаграммы $\delta/\Delta E_Q$ [19], составленной на основании параметров полученных мёсбауэровских спектров, видно, что аминокислотные комплексы железа образуют самостоятельную область в районе высокоспиновых трехвалентных соединений железа (рис. 2, А).

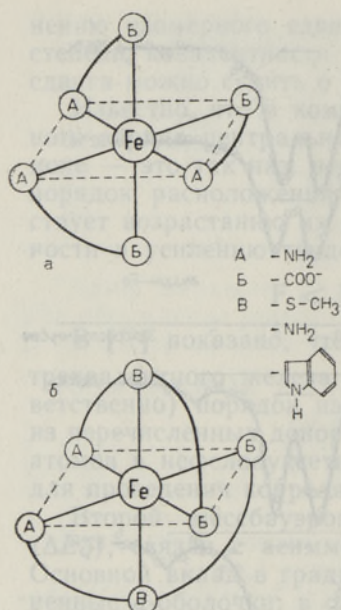


Рис. 3.

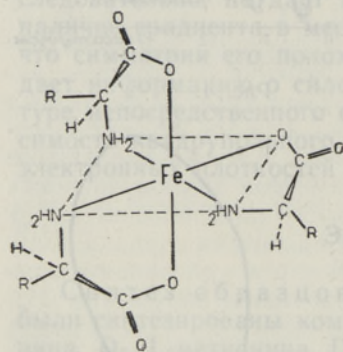


Рис. 4.

Все исследованные в данной работе аминокислоты по их способности образовывать связи с атомом железа можно разделить на

бидентатные: глицин, лейцин (для образования октаэдрического комплекса необходимо присутствие трех молекул аминокислот) (рис. 3, а) и

тридентатные: метионин, лизин, триптофан (для образования октаэдрического комплекса достаточно двух аминокислот) (рис. 3, б).

Исходя из этого деления, симметрия ближайшего окружения атома железа в комплексах глицин—FeIII, лейцин—FeIII (координирующие атомы 3N и 3O) должна отличаться как от симметрии комплекса метионин—FeIII (2N, 2O, 2S), так и от симметрии комплексов лизин—FeIII, триптофан—FeIII (4N, 2O). Отклонения от кубической симметрии в октаэдрических комплексах трехвалентного железа, обусловленные наличием различных лигандов, должны привести к появлению квадрупольного расщепления, величина которого должна зависеть от степени искаженности октаэдрического окружения центрального атома комплекса. По нашим данным, величины изомерных сдвигов и квадрупольных расщеплений для всех изученных нами комплексов аминокислота—железо в пределах ошибки эксперимента ($\pm 0,05$ мм/сек) сходятся (см. таблицу). Отсюда можно сделать вывод, что, по-видимому, образование комплексов происходит с участием одинаковых для всех аминокислот-лигандов амино- и карбоксильных групп, притом боковые цепи аминокислот не причастны к образованию комплекса (рис. 4).

В пользу данного вывода говорит сравнение наших результатов с данными работ [10, 17], где высокоспиновые комплексы 8-гидроксииндолина и орто-аминобензойной кислоты с трехвалентным железом (донорные атомы 3N, 3O) имеют вид спектров, значения изомерных сдвигов и квадрупольных расщеплений которых сходны со значениями для аминокислотных комплексов. Комплекс салицилиденаминофенола с железом (2N, 4O) [17] хотя и имеет близкое значение изомерного сдвига, но значительно отличается по величине квадрупольного расщепления, что, по-видимому, связано со стерическими затруднениями, вследствие которых октаэдрическое окружение атома железа значительно искажается.

Комплексы трехвалентного железа с двухосновными карбоновыми кислотами (6 атомов O) [18] различаются как по величинам изомерных сдвигов, так и по квадрупольным расщеплениям от аминокислотных комплексов железа. Они также образуют на корреляционной диаграмме $\delta/\Delta E_Q$ отдельную область (см. рис. 2, Б). Величина изомерных сдвигов для этого класса соединений меньше, что соответствует возрастанию

Соединения	Температура поглощения, °К	Изомерный сдвиг δ , мм/сек	Квадрупольное расщепление Δ , мм/сек	Исправленное квадрупольное расщепление по [16] Δ^* , мм/сек	Величина резонансного эффекта (без поправки на фон) ε , %	Примечания	
D-, L-глицин—FeIII	82 295	0,71 0,61		0,65 0,65	6,4 5,8	} Величины δ и Δ^* даны с точностью $\pm 0,05$	
D-, L-лейцин—FeIII	82 295	0,78 0,65		0,61 0,60	7,3 1,6		
D-, L-метионин—FeIII	82 295	0,86 0,55		0,72 0,63	5,7 0,9		
L-лизин—FeIII	82 295	0,82 0,71		0,76 0,67	4,7 3,4		
D-лизин—FeIII	82 295	0,78 0,65		0,76 0,61	5,1 4,4		
D-, L-триптофан—FeIII	82 295	0,79 0,67		0,70 0,69	7,2 3,2		
(8-Гидроксихинолин) ₃ —FeIII	77 295	0,79 0,67	0,84 0,81				[17]
(Салицилиденаминофенол) ₂ —FeIII	77 295	0,78 0,64	1,16 1,11				[17]
(орто-Аминобензойная кислота) ₃ —FeIII	80	$0,73 \pm 0,05$	$0,64 \pm 0,08$				[10]
FeIII—оксалат	298	0,50	—				[18]
FeIII—формат	298	0,46	0,17			[18]	
FeIII—сукцинат	298	0,53	0,20			[18]	
FeIII—тарtrat	298	0,58	0,25			[18]	

плотности s -электронов, которое связано с уменьшением экранировки их d -электронами вследствие большей ковалентности связи Fe—O по сравнению со связью Fe—N. Это находится в хорошем согласии с положением азота и кислорода в нефелоауксетическом ряду лигандов. Величины квадрупольных расщеплений свидетельствуют о более высокой симметрии окружения атома железа, что естественно при координации одинаковыми лигандами. Некоторое отклонение от симметрии O_h может быть связано с искажением октаэдрического окружения железа связи стерическими затруднениями.

Зависимость изомерного сдвига от температуры объясняется влиянием эффекта Доплера второго порядка: она имеет среднее значение — $5,8 \cdot 10^{-4}$ мм/сек °К, что довольно хорошо согласуется с наклоном релятивистского сдвига — $7,3 \cdot 10^{-4}$ мм/сек °К [20].

Сравнивая зависимость квадрупольного расщепления от температуры с величиной резонансного эффекта (ε), можно заметить общую тенденцию к уменьшению последнего и для комплексов, у которых обнаружена зависимость квадрупольного расщепления от температуры (метионин—FeIII, лизин—FeIII). Это указывает на то, что, по-видимому, симметрия этих комплексов повышается с изменением (повышением) температуры, хотя это сопровождается уменьшением жесткости связи атома железа с донорными атомами лигандов.

Для более детального обсуждения вопроса о структуре ближайшего окружения железа в этих комплексных соединениях нужны дальнейшие исследования в этом направлении.

В заключение выражаем благодарность И. Язку и Э. Реало за помощь при обсуждении результатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сырцова Л. А., Лихтенштейн Г. И., В сб.: Успехи биологической химии, **11**, М., 1970, с. 149.
2. Lang G., Quart. Rev. Biophys., **3**, No. 1, 1 (1970).
3. Tsunoda I. N., Yasunobu K. Y., J. Biol. Chem., **243**, 6262 (1968).
4. Rill R. L., Klotz I. M., Arch. Biochem. and Biophys., **136**, 507 (1970).
5. Tomita A., Hirai H., Maksishima S., Nucl. Chem. Letters, **4**, 715 (1968).
6. Gilmour A. O., McAnley A., J. Chem. Soc. A, Nr. 7, 1006 (1970).
7. Раудсепп Р., Реало Э., Изв. АН ЭССР, Физ. Матем., **20**, 225 (1971).
8. Вертхейм Т., Эффект Мёссбауэра, М., 1966, с. 59.
9. Iørgensen C. K., Structure and Bonding, **1**, 3 (1966).
10. Burger K., Vertes A., Papp-Molnar E., Acta Chim. Ac. Sci. Hung., **57**, Nr. 3, 257 (1968).
11. Danon J., Rev. Mod. Phys., **36**, 459 (1964).
12. May L., Mössbauer Effect and its Applications. Chem. P. S. Am. Chem. Soc., Wash., 1967, p. 52.
13. Буканова А. Е., Прокофьева И. В., Звягинцев О. Е., Ж. неорг. химии, **13**, 1865 (1968).
14. Bidig H. J., Bayer E., Chem. Ber., **88**, 1158 (1955).
15. Herber R. H., Internat. Atomic. Agency, Vienna, 1966, Techn. Rep. Ser., Nr. 50, p. 121.
16. Moon P. B., Nucl. Instr. and Methods, **79**, 61 (1970).
17. Kulgawczuk D. S., Sawicka B., Stronski I., Acta Phys. Polon., **A37**, 891 (1970).
18. Takashima Y., Tateishi T., Bull. Chem. Soc. Japan, **38**, 1688 (1965).
19. Duncan I. F., Golding R. M., Quart. Rev. (London), **19**, 30 (1965).
20. Pound R. V., Rebka G. A., Phys. Rev. Lett., **4**, 274 (1960).

Институт физики и астрономии
Академии наук Эстонской ССР
Институт термофизики и электрофизики
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
25/X 1971

R. RAUDSEPP, I. ARRO.

MÖNDE AMINOHAPPE—RAUA KOMPLEKSIDE MÖSSBAUERI SPEKTRID

Möödeti glütsiini—, leutsiini—, lüsiini—, trüptofaani— ning metioniini—raua polükristalliliste komplekside Mössbaueri spektrid temperatuuridel 82 ja 298°K. Tulemustest võib järeldada, et kõrgspinniline kolmevalentne raud on nendes moonutatud oktaeedrilistes kompleksides arvatavasti koordineeritud amino- ja karboksüülrühmadega.

R. RAUDSEPP, I. ARRO

MÖSSBAUER SPECTRA OF SOME AMINOACID—IRON COMPLEXES

The Mössbauer spectra for the polycrystalline iron complexes of glycine, leucine, lysine, tryptophane and methionine at temperatures 82 and 298°K were measured. It is concluded that the high-spin state ferric ions in those distorted octahedral complexes may be coordinated by amino and carboxylic acid groups.