

Diss. ETH Nr. 7394

TRACER-UNTERSUCHUNGEN ZUR HYDROLYTISCHEN VERNETZUNG VON EISEN(III)
IN CHLORIDHALTIGEN UND BIOLOGISCHEN MEDIEN

ABHANDLUNG

Zur Erlangung des Titels eines
Doktors der Naturwissenschaften
der

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

vorgelegt von

JAN MIROSLAV JISKRA

Dipl. Chem. ETH

geboren am 23. Januar 1954

von Herisau

Angenommen auf Antrag von

Prof. Dr. W. Schneider, Referent

Prof. Dr. P. Jordan, Korreferent

Zürich 1983

ZUSAMMENFASSUNG

Unter Verwendung von Tracer-Methoden untersuchte man die Hydrolyse von Fe(III) in chloridhaltigen Medien einerseits und die hydrolytischen Wechselwirkungen im Zusammenhang mit dem Transport und der Speicherung von Fe(III) in biologischen Systemen andererseits.

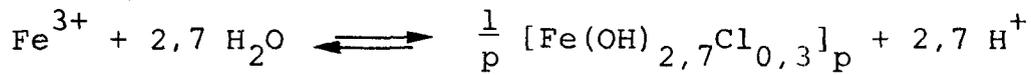
1. Eisen(III)-Hydrolyse in chloridhaltigen Medien

Gegenstand der Studien waren Komplexe der allgemeinen Zusammensetzung $\text{Fe}_p\text{O}_r(\text{OH})_s$ mit den charakteristischen Werten $(2r + s)/p = 2,7$ und $p > 1'000$ in sauren Lösungen ($\text{pH} \leq 2,5$), die Chlorid im Konzentrationsbereich 0,1 bis 1,5 M enthielten, entweder unmittelbar nach ihrer Zubereitung bei 25°C , oder nach ihrer Alterung während einer Stunde bei 50°C .

Durch Säureabbau konnte gezeigt werden, dass das Polynuklearenwachstum und der anschliessende Abbau das Prinzip "last in, first out" befolgen. Die Halbwertszeit des Säureabbaus wird nur um einen Faktor zwei für gealterte Polynukleare erhöht, wenn mit den frisch zubereiteten verglichen wird.

Der Alterungsprozess kann durch Fällung mit Aceton und anschliessendes Auflösen der Fällung $\text{FeO}_{2/3}(\text{OH})_{4/3}\text{Cl}_{1/3}(\text{s})$ in Perchloratlösungen (2 M; $\text{pH} 1,5 \pm 0,1$) stark verzögert werden. Im letzteren Medium bleiben die Polynuklearenlösungen länger als drei Jahre homogen.

In NaCl- und NaClO₄-Lösungen stellt sich ein Gleichgewicht



zwischen mononuklearem Fe³⁺ und Polynuklearen ein. Die relevanten Gleichgewichtskonstanten $K = [\text{H}^+]^{2,7} / [\text{Fe}^{3+}]$ wurden bestimmt zu $K = 5 \cdot 10^{-4}$ (1,5 M Cl⁻) und $K = 2 \cdot 10^{-3}$ (0,1 M Cl⁻, 2 M NaClO₄). Das Gleichgewicht wurde von frischen und gealterten Polynuklearen aus (0,14 bis 0,18 M Cl⁻) innerhalb von 30 Stunden erreicht.

Der Isotopenaustausch von ⁵⁹Fe zwischen den polynuklearen Komplexen und Fe³⁺ wurde verfolgt. Er kann durch zwei verschiedene Phasen beschrieben werden, die Eisen(III) mit unterschiedlichen Raten austauschen. Der Arrhenius-Parameter beträgt 5 - 8 kcal/Mol für beide Reaktionen. Die Austauschraten sind bei hohen Chloridkonzentrationen (1,5 M Cl⁻) deutlich schneller als bei kleinen Chloridkonzentrationen (0,14 M Cl⁻). Dieser Befund unterstreicht den katalytischen Effekt des Chlorids in den einzelnen Austauschschritten. Die Austauschdaten sind mit einem Aggregations-Modell vereinbar, das als Strukturelement einen Tubus mit 12'000 Eisenzentren (Akaganéit-Struktur) benützt.

Die Wechselwirkung verschiedener Anionen L^{λ-} mit den Polynuklearen kann als eine reversible Grenzflächenadsorption beschrieben werden; die Stabilität der Grenzflächenkomplexe korreliert gut mit derjenigen der mononuklearen Komplexe FeL^(3 - λ) bzw. der Ionenpaare.

Kationen wie VO_{aq}²⁺ und VO_{2aq}⁺ werden wie erwartet dank ihrer Acidität stark adsorbiert. Schwach acide Kationen wie Mn_{aq}²⁺ und Co_{aq}²⁺ werden beim tiefen pH = 1,6 nicht adsorbiert.

2. Eisen in biologischen Systemen

Man benützte β -FeO(OH) als Modellsubstanz für den Ferritinkern zum Studium der Eisen(III)-Mobilisierung durch eine Auswahl von Liganden im physiologischen pH-Bereich. Potente Chelatbildner wie Tiron sind punkto Mobilisierung sehr effektiv, unterbinden jedoch gleichzeitig den Einbau von Eisen(III) in Transferrin und Ferritin als Akzeptoren. Andererseits konnte für das Cystein/Cystin-System, das ein schwaches Mobilisierungsmittel darstellt, ein wirkungsvoller Einbau von Eisen in Transferrin und Ferritin, ausgehend von Eisen(II,III)-Lösungen, nachgewiesen werden. Somit sind die Deponierung des Eisens in Ferritin und seine anschließende Mobilisierung in demselben Medium nicht kompatibel.

Aufgrund chemischer Überlegungen erscheint es sehr wahrscheinlich, dass diese beiden Prozesse in vivo in verschiedenen Kompartimenten einer Zelle ablaufen.

Es wurden neue Modelle für niedernukleare Eisen(III)-Spezies im Cytosol vorgestellt. Für das Hexanukleare, $\text{Fe}_6(\text{OH})_{12}\text{Sorbit}_6$, wurde unter Cytosol-Bedingungen eine Lebensdauer von mindestens 24 Stunden nachgewiesen; d.h. die hexanukleare Einheit $\text{Fe}_6(\text{OH})_{12}$ wird durch eine Aussenlösung, die Peptide oder Polysaccharide enthält, wirkungsvoll geschützt.

Das Phänomen der verzögerten Hydrolyse setzt recht reaktive Eisen(III)-Komplexe voraus, die immer noch thermodynamisch instabil bezüglich der hydroxidischen Phase im Ferritinkern sind.

ABSTRACT

Radiochemical methods were applied in the study of iron hydrolysis both in chloride media and in hydrolytic interactions related to iron(III) transport and storage in biological systems.

1. Hydrolysis of iron(III) in chloride media

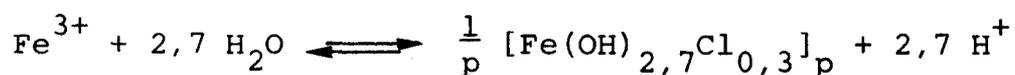
Polynuclear complexes of general composition $\text{Fe}_p\text{O}_r(\text{OH})_s$ with characteristic values $(2r + s)/p = 2,7$ and $p > 1'000$ were studied in acid solution ($\text{pH} \leq 2,5$), $[\text{Cl}^-] = 0,1$ to $1,5$ M, either immediately after their preparation at 25°C , or after aging at 50°C for one hour.

Partial acid decomposition shows that growth and subsequent degradation follow the principle "last in, first out". The half life of acid decomposition is raised by a factor of two upon aging with respect to freshly prepared polynuclears.

The aging processes can be virtually stopped by precipitation with acetone and subsequent dissolution of the precipitates

$\text{FeO}_{2/3}(\text{OH})_{4/3}\text{Cl}_{1/3}(\text{s})$ in NaClO_4 solutions (2 M, $\text{pH } 1,5 \pm 0,1$). In the latter medium, polynuclears remain homogeneously dissolved over a period of at least three years.

In NaCl , NaClO_4 -media, an equilibrium



between polynuclear species and mononuclear Fe^{3+} was found to be established. The relevant constants $K = [\text{H}^+]^{2,7}/[\text{Fe}^{3+}]$ are

$K = 5 \cdot 10^{-4}$ (molar scale; 1,5 M Cl^-), and $2 \cdot 10^{-3}$ (0,1 M Cl^- , 2 M NaClO_4). The equilibrium was shown to be reached within 30 hours for fresh and aged polynuclears (0,14 to 0,18 M Cl^-).

The isotopic exchange of ^{59}Fe between the polynuclear complexes and the ferric ion was followed and can be described in terms of a two compartment system involving phases which exchange Fe(III) at rather different rates. The Arrhenius' parameter was found to be in the range 5 - 8 kcal/mol for both reactions. The exchange rates at high chloride concentration (1,5 M) are distinctly faster compared to rates at low chloride concentration (0,14 M) which stresses the catalytic effect of chloride in the exchange reaction steps. The exchange data are compatible with an aggregation model using a tubus of about 12'000 iron centers (akaganéite structure) as a basic structure element.

The interaction of different anions $\text{L}^{\lambda-}$ with the polynuclears in the solution can be described as a reversible interfacial adsorption, the stability of the surface complexes correlating well with the stability of mononuclear complexes $\text{FeL}^{(3-\lambda)}$, or ion pairs, respectively.

Cations such as $\text{VO}_{\text{aq}}^{2+}$ and $\text{VO}_{2\text{aq}}^+$ are adsorbed strongly, as expected, on the basis of their acidity. The slightly acidic cations $\text{Mn}_{\text{aq}}^{2+}$ and $\text{Co}_{\text{aq}}^{2+}$ are not adsorbed at the low pH 1,6 prescribed by the system.

2. Iron in biological systems

β -iron hydroxide was used as a model for the ferritin core to study the mobilization of iron(III) by a variety of ligands in the physiological pH range. Chelating ligands such as 1,2-dihydroxyphenyl-3,5-disulfonate (tirone) are very effective in mobilization but prevent the transfer of iron(III) to ferritin or transferrin as receptors. On the other hand the cysteine-cystine system which is a weak mobilizing agent was shown to be effective in the insertion of iron into ferritin, and transferrin, from iron(II,III) solutions. Hence, iron deposition in ferritin and subsequent mobilization are not compatible with each other in the same medium.

It was concluded on chemical grounds that, in vivo, these processes most likely do occur in different compartments of a cell.

New models of low molecular weight species of iron(III) in cytosol were presented. It was shown that the hexanuclear $\text{Fe}_6(\text{OH})_{12}\text{sorbitol}_6$ survives more than 24 hours under cytosol conditions, i.e. the hexanuclear unit $\text{Fe}_6(\text{OH})_{12}$ can be protected by a peptide or a polysaccharide environment.

The phenomenon of delayed hydrolysis provides rather reactive iron(III) complexes which are still thermodynamically unstable with respect to the hydroxide phase in the ferritin core.