

Nichtenzymatische Simulation von Nitrogenasereaktionen und der Mechanismus der biologischen Stickstoff-Fixierung

Von G. N. Schrauzer^[*]

Untersuchungen mit biologisch relevanten Modellsystemen ermöglichten die Simulation der wichtigsten Reaktionen der stickstoff-bindenden Enzyme. Es gelang, einen Mechanismus der biologischen Stickstoff-Fixierung zu formulieren, der mit allen wesentlichen experimentellen Tatsachen in Einklang steht. Die entscheidenden Reaktionen der Nitrogenasesubstrate finden am Molybdänzentrum des Enzyms statt. Das an Schwefel und Protein-S²⁻-Gruppen gebundene Eisen dient dem Elektronentransport, ohne direkt an der Substratreduktion teilzunehmen. ATP wird zur Beschleunigung der Reduktion und zur Aktivierung des aktiven Molybdänzentrums benötigt und dabei zu ADP und Phosphat hydrolysiert. Als Zwischenprodukte der Stickstoffreduktion wurden Diimin und Hydrazin im Modellversuch nachgewiesen.

1. Einleitung

Auf die Bedeutung der biologischen Stickstoff-Fixierung muß wohl kaum mehr hingewiesen werden: Erst vor kurzem erschien in dieser Zeitschrift ein ausführlicher Beitrag, der die geschichtliche Entwicklung und den gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse über diesen wichtigen Vorgang aus biochemischer Sicht zum Inhalt hatte^[1]. Das Enzym wurde aus einer Reihe von Mikroorganismen, z. B. vom Genus *Azotobacter*, rein isoliert^[2], aber auch in anderen Bodenbakterien sowie in blaugrünen Algen nachgewiesen. Über die Zusammensetzung und Reaktionen des Enzyms weiß man dank der umfangreichen enzymologischen Untersuchungen ebenfalls bereits recht genau Bescheid. Es ist allerdings nicht leicht, Aussagen über den Mechanismus der vom Enzym katalysierten Reaktionen zu machen. Dies wäre auch dann nicht möglich, wenn es gelänge, die Struktur der Nitrogenase voll aufzuklären.

Mehrere Forscher begannen daher schon vor etwa zehn Jahren zu versuchen, Stickstoff unter milden Bedingungen zu Ammoniak zu reduzieren. Nach der Entdeckung der ersten Stickstoffkomplexe von Übergangsmetallen um 1965 lag es darüber hinaus auch nahe, derartige Verbindungen näher zu untersuchen. Es gelang zwar in einigen Fällen, sowohl molekularen als auch komplexgebundenen Stickstoff zu reduzieren, doch wurden hierzu meist andere als die im Enzym vorhandenen Metalle Molybdän und Eisen verwendet. Die Stickstoffkomplexe trugen aber meist noch „naturfremde“ Liganden (z.B. Phosphane oder Diphosphane), und die zur Reduktion des Stickstoffs notwendigen Reaktionsbedingungen waren im allgemeinen weitgehend abiologisch, so daß sich keine unmittelbare Beziehung zu den Nitrogenasereaktionen herstellen ließ. Derartige Untersuchungen sind in erster Linie von koordinationschemischem Interesse. Neuere Ergebnisse wurden zudem ebenfalls erst kürzlich in dieser Zeitschrift zusammengefaßt^[3].

2. Allgemeines über Enzym-Modelle

Es hat in der Vergangenheit nicht an Versuchen gefehlt, enzymatische Reaktionen mit Modellsystemen nachzuahmen. Bei vergleichsweise einfachen Reaktionen kann man hoffen, auf diese Weise richtige Schlüsse hinsichtlich des Mechanismus der enzymatischen Vorgänge zu ziehen. Um die Gefahr von

Fehlinterpretationen zu dämmen, müssen bei allen Modellversuchen jedoch einige Kriterien berücksichtigt werden, die wir im folgenden am Beispiel der Nitrogenase erläutern:

1. Die Modellsysteme müssen, wenn es sich um Metalloenzyme handelt, die gleichen Metalle wie das Enzym enthalten, im Falle der Nitrogenase also Molybdän und/oder Eisen.
2. Die Bindung der Metall-Ionen an das Enzym muß durch Liganden simuliert werden, die den nachgewiesenen oder vermuteten Koordinationsstellen des Apoproteins entsprechen.
3. Die Modellsysteme müssen die Substratreaktionen in homogener Lösung unter annähernd enzymatischen Bedingungen katalysieren.
4. Die Modellsysteme sollten zunächst nach dem Prinzip der maximalen Einfachheit konzipiert werden und nur essentielle Komponenten enthalten.
5. Die mit den Modellen und dem Enzym erzielten Versuchsergebnisse müssen zumindest qualitativ übereinstimmen.

Enzymsysteme lassen sich nur dann befriedigend simulieren, wenn hinreichend viele experimentelle Daten bekannt sind. Bei der Nitrogenase ist dies glücklicherweise der Fall. Alle Resultate, die unter nichtenzymatischen Bedingungen erhalten wurden, müssen jeweils auf ihre biologische Relevanz hin überprüft werden. Auf diese Weise ist es im allgemeinen möglich, zufällige Übereinstimmungen zwischen Modellsystem und Enzymsystem, aber auch triviale Unterschiede rechtzeitig zu erkennen. Beobachtet man im Verlauf dieser Untersuchungen eine zunehmende Anzahl grober Unstimmigkeiten, so muß man das Modellsystem entsprechend modifizieren oder durch ein neues ersetzen. Auch bei bester Übereinstimmung der Ergebnisse bleibt es ein philosophisches Problem, welchen Grad an Beweiskraft man den Schlußfolgerungen bezüglich des Primärsystems zubilligen will. Da Modelle in der Geschichte der Naturwissenschaften immer wieder eine Rolle spielen, wurde diese Frage in der Literatur eingehend behandelt. Es sei auf ein Buch von Hesse^[4] verwiesen, ohne auf dieses Problem näher einzugehen, zumal die im folgenden beschriebenen Ergebnisse für sich selbst sprechen.

3. Eigenschaften und Reaktionen der stickstoff-reduzierenden Enzyme

3.1. Zusammensetzung der Enzyme

Man hat Nitrogenasen aus zahlreichen Mikroorganismen isoliert und weiß heute^[5], daß das Enzym stets aus zwei

[*] Prof. Dr. G. N. Schrauzer
Department of Chemistry, The University of California at San Diego
Revelle College, La Jolla, Calif. 92037 (USA)

Komponenten besteht. „Protein I“ (auch unter den Namen „Mo-Fe-Protein“ und „Azofermo“ bekannt) hat ein Molekulargewicht von etwa 200 000 bis 300 000. Das Protein enthält Molybdän, Eisen, labiles Sulfid und Cysteinschwefel in etwas vom biologischen Ursprung abhängigen Konzentrationen. Im Durchschnitt findet man pro Molekül 1–2 Mo-, 20–40 Fe- und 20–40 S^{2-} -Ionen sowie 20 bis mehr als 40 Cysteinyreste. Es ist möglich, daß die Variation der Zusammensetzung z. T. auf die Bildung von Dimeren zurückzuführen ist. Man vermutet, daß das Molybdän als Oxomolybdat an einen Cysteinyrest gebunden vorliegt. Das Eisen ist ohne Zweifel ferredoxinartig gebunden. Dies würde bedeuten, daß vorwiegend Gruppen von jeweils vier Eisen-Ionen in quasikubischen Aggregaten der Zusammensetzung $Fe_4S_4(S\text{-Protein})_4$ angeordnet sind; jedenfalls besteht ziemliche Sicherheit darüber, daß das labile Sulfid an Eisen gebunden ist.

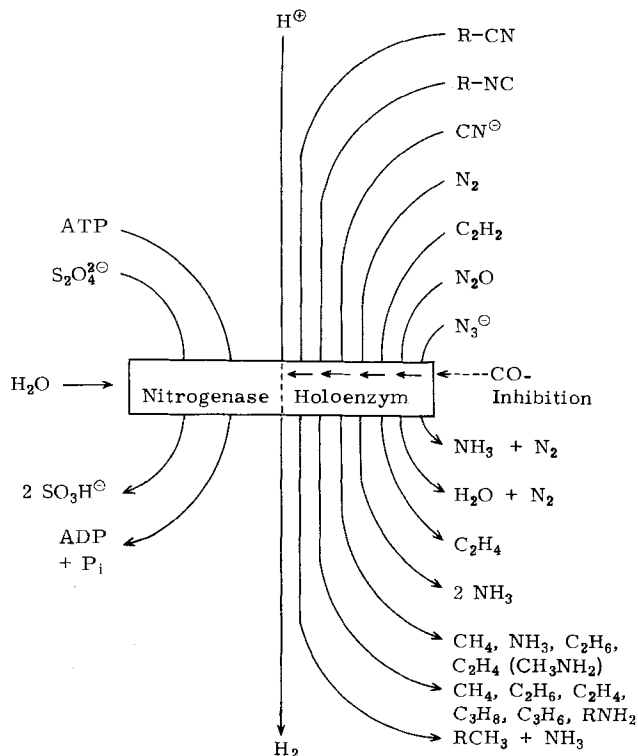
Protein II, das man auch „Fe-Protein“ oder „Azofer“ benannt hat, weist ein Molekulargewicht von etwa 40 000–50 000 auf, enthält pro Molekül 4 Fe- und 4 S^{2-} -Ionen sowie 4 Cysteinyreste und besitzt typische Ferredoxin-Eigenschaften. Es dürfte somit mit Sicherheit eine $Fe_4S_4(S\text{-Protein})_4$ -Einheit enthalten. Die Zusammensetzung variiert ebenfalls je nach der mikrobiellen Herkunft. Es gelingt jedoch, aktive Nitrogenasepräparate zu erhalten, auch wenn die beiden zusammengegebenen Proteinkomponenten aus verschiedenen Quellen stammen. Die spezies-abhängigen Unterschiede in der Zusammensetzung sind somit für die Enzymfunktion bedeutungslos. Die Reaktivität der Nitrogenase erreicht in vitro ein Maximum, wenn Protein I und Protein II im Molverhältnis 1:1 eingesetzt werden.

Als Reduktionsmittel für Standardversuche wird meist Natriumdithionit, zuweilen auch KBH_4 verwendet. Das Substrat läßt sich jedoch nur dann reduzieren, wenn auch ATP zugegen ist. Um zwei Elektronen auf das Substrat zu übertragen, werden bis zu fünf ATP verbraucht, d. h. zu ADP und Phosphat hydrolysiert. Der ADP-Bedarf hängt von der Enzymqualität ab; ADP, das bei der ATP-Hydrolyse entsteht, wirkt hemmend. Die meisten Versuche mit Nitrogenasepräparaten werden daher in Gegenwart eines enzymatischen ATP-Generators mit Kreatinphosphat als Quelle für aktives Phosphat durchgeführt. Schließlich bedarf es noch eines zweiwertigen Metall-Kations. In der Regel wird Mg^{2+} eingesetzt, und zwar im Verhältnis 1:2 zu ATP. Man findet jedoch auch Enzymaktivität, wenn man Mg^{2+} durch Mn^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} oder Ni^{2+} ersetzt – das Metall-Ion wirkt somit relativ unspezifisch und ist vermutlich nicht von primärer Bedeutung.

3.2. Substratreaktionen^[5]

In Abwesenheit von reduzierbaren Substraten erzeugt Nitrogenase ATP-abhängig Wasserstoff durch Entladung von Protonen aus dem Lösungsmittel. Diese Wasserstoffentwicklung wird im Gegensatz zur Reduktion von Substraten nicht durch Kohlenmonoxid gehemmt. Acetylen hemmt die Wasserstoffentwicklung ebenfalls; es wird ausschließlich zu Äthylen reduziert. In D_2O bildet sich aus Acetylen *cis*-1,2-Dideuterioäthylen. Äthylen selbst wird von Nitrogenase nicht zu Äthan reduziert und wirkt auch nicht inhibierend. In Schema 1 sind die wichtigsten Substratreaktionen der Nitrogenase zusammengefaßt wiedergegeben.

Es ist bemerkenswert, daß das Enzym sowohl Acetylen als auch N_2O und N_3^- nur in Zwei-Elektronen-Reaktionen



Schema 1. Nitrogenasereaktionen.

reduziert. Das Enzym vermag auf andere Substrate jedoch bis zu 14 Elektronen zu übertragen. Bei der Reduktion von Isocyaniden und von Cyanid beobachtet man sogar die Bildung von neuen C—C-Bindungen (vgl. die Bildung von gesättigten und ungesättigten C_2 - und C_3 -Kohlenwasserstoffen in Schema 1); bei der ebenfalls zu Kohlenwasserstoffen führenden Reduktion von Nitrilen ist dies jedoch nicht der Fall. In allen Reaktionen werden auf das enzymgebundene Substrat außer Elektronen auch Protonen übertragen. Diese stammen aus dem Lösungsmittel, woraus geschlossen werden kann, daß das aktive Zentrum der Nitrogenase sicher nicht in einer hydrophoben Umgebung vorliegt. Es gelang bisher nicht, definierte Komplexe der Nitrogenase mit den Substraten nachzuweisen. Auch lassen sich Zwischenprodukte nicht fassen. Dies bedeutet im einfachsten Falle, daß das Substrat solange enzymgebunden bleibt, bis es vollständig reduziert ist. Das aktive Zentrum des Enzyms ist sterisch etwas behindert. So lassen sich zwar noch z. B. Propin und in langsamer Reaktion auch 1-Butin reduzieren, nicht jedoch 2-Butin.

3.3. Stickstoffreduktion

Nitrogenase reduziert Stickstoff etwa viermal langsamer als Acetylen. Zwischenprodukte lassen sich auch hier nicht nachweisen, es wurden jedoch zwei interessante Phänomene beobachtet, die vermutlich auf die intermediäre Bildung von Diimin zurückzuführen sind (siehe Abschnitt 8). Das erste Phänomen ist die Wasserstoffentwicklung, die sich auch bei völliger Sättigung des Enzyms mit N_2 nicht unterdrücken läßt^[6, 7]. Bei der Reduktion von Acetylen kann man demgegenüber die Wasserstoffbildung bei hinreichend hohem Substrat-Partialdruck praktisch vollständig ausschalten. Man schloß daraus, daß Nitrogenase bei der Stickstoffreduktion nur etwa 75 % der Elektronen zur Ammoniakbildung verwendet und daß die restlichen 25 % durch Wasserstoffentwicklung entzogen werden. Wir werden auf diese Eigentümlichkeit der Stick-

stoffreduktion in Abschnitt 8 noch näher eingehen, weisen an dieser Stelle jedoch darauf hin, daß die Ammoniakbildung aus Stickstoff offenbar *nicht* durch die stöchiometrische Reaktionsgleichung (a) wiederzugeben ist:



Richtiger müßte man die Reaktion unter Berücksichtigung der Wasserstoffentwicklung gemäß Gl. (2) formulieren:

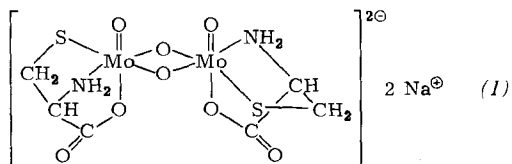


Das zweite, stickstoff-spezifische Phänomen bezieht sich auf eine D_2/H^+ -Austauschreaktion, bei der HD entsteht. Diese HD-Bildung wird nur dann beobachtet, wenn Stickstoff als Substrat zugegen ist^[8,9]. Auf die möglichen Ursachen dieser interessanten Reaktion werden wir in Abschnitt 8 noch zurückkommen.

4. Funktionelle Nitrogenase-Modelle

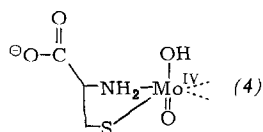
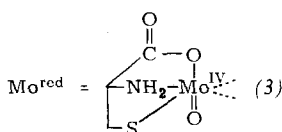
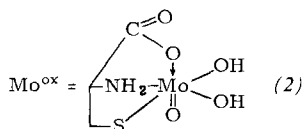
4.1. Zusammensetzung

Der Zusatz von Alkalimetallmolybdat zu wäßrig-alkalischen Lösungen von NaBH_4 oder $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ergibt noch keine wesentliche katalytische Aktivität für die Reduktion von Nitrogenasesubstraten. Fügt man jedoch außerdem Liganden mit Thiolgruppen zu, so beobachtet man eine signifikante katalytische Aktivität, die beim Molverhältnis $\text{MoO}_4^{2-}:\text{Thiol} = \text{ca. } 1:1$ maximal wird. Die ersten Untersuchungen wurden daher mit Modellsystemen durchgeführt, die Molybdat und 1-Thioglycerin in diesem Verhältnis enthielten^[10,11].



Später wurde Thioglycerin durch L-(+)-Cystein ersetzt. Letzteres bildet mit Mo^{V} einen leicht in reiner Form erhältlichen zweikernigen Komplex^[12], dessen Struktur (1) durch Röntgen-Analyse seit 1968 bekannt ist^[13]. Auch dieser Komplex, den wir „Komplex I“ nannten, reagiert in Gegenwart von Reduktionsmitteln mit Nitrogenasesubstraten, ist jedoch nicht der eigentliche Katalysator. Unter den Reaktionsbedingungen tritt teilweiser Zerfall in Molybdän-Cystein-Komplexe ein, die in oxidierter Form vermutlich die Struktur (2), in der aktiven reduzierten Form die Strukturen (3) oder (4) besitzen.

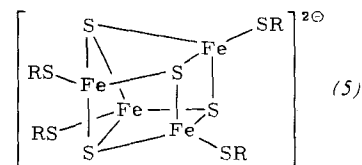
Die aktive reduzierte Form (Mo^{red}) ist aller Wahrscheinlichkeit nach ein Derivat des +4-wertigen Molybdäns^[14] und besitzt die Eigenschaften eines Metallonucleophils. Es ist außerordentlich reaktiv und zersetzt sich in Wasser unter Wasser-



stoffentwicklung. „ Mo^{red} “ kann mit Nitrogenasesubstraten in Wechselwirkung treten. Um die Bildung der Reaktionsprodukte zu verstehen, muß angenommen werden, daß es mindestens zwei freie Koordinationsstellen in *cis*-Position besitzt. Damit Substrate katalytisch reduziert werden können, muß die Rückreduktion der oxidierten Form Mo^{ox} unter den Reaktionsbedingungen stattfinden können. Das ist zwar der Fall, jedoch handelt es sich hier um einen relativ langsamen Vorgang. Wir fanden jedoch, daß der Zusatz von ATP die katalytische Aktivität erheblich erhöht. Auch andere Nucleosidphosphate, aber auch einfache Säuren zeigen einen ähnlichen Effekt, ATP erwies sich jedoch als am stärksten wirksam. Wir werden auf diese Wirkung von ATP in Abschnitt 6 zu sprechen kommen. Hier genügt der Hinweis, daß wir im Modellsystem auch den Effekt von ATP studieren und aus den Resultaten wertvolle Schlüsse hinsichtlich dessen Wirkung im Enzym ziehen konnten.

Es war zunächst nicht klar, ob das im Enzym vorhandene Eisen direkt an der Substratreduktion teilnimmt oder nicht. Versuche mit Katalysatorsystemen, die Eisen als einziges Metall enthielten, zeigten alsbald, daß sich damit Nitrogenasesubstrate kaum reduzieren ließen. Der Zusatz von Spuren von Eisensalzen erhöhte jedoch die Aktivität der Molybdänkatalysatoren, ohne den Verlauf der Reduktionsreaktionen sonst wesentlich zu beeinflussen: Das in Form von einfachen Salzen zugesetzte Eisen fungiert offensichtlich als Beschleuniger des Elektronenübergangs vom Reduktionsmittel (BH_4^-) zum Molybdänkomplex Mo^{ox} , erweist sich jedoch als wenig wirksam, wenn als Reduktionsmittel $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$ verwendet wird.

Wir untersuchten daher Nitrogenasereaktionen auch in Gegenwart von Ferredoxin-Modellkomplexen, deren Darstellung Holm et al.^[15,16] inzwischen gelungen war. Bei diesen Verbindungen handelt es sich um Salze der komplexen Anionen $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{SR})_4]^{2-}$, die ebenso wie die natürlich vorkommenden Ferredoxine eine quasikubische Struktur (5) besitzen. Diese



lassen sich durch Reduktion in die drei- oder vierfach negativ geladenen Anionen $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{SR})_4]^{3-}$ überführen und schienen daher zum Studium der möglichen Rolle des Eisens in der Nitrogenase geeignet. In der Tat erwiesen sich diese Verbindungen als besonders wirkungsvolle Reduktionsbeschleuniger, auch dann, wenn $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$ als Reduktionsmittel verwendet wurde^[17,18]. Auf diese Weise war es möglich, die Reduktion von einigen Nitrogenasesubstraten in Systemen zu untersuchen, die Mo , Fe , S^{2-} und Cys-S^- im gleichen Verhältnis wie das Enzym selbst enthielten. Es gelang auch, die Ferredoxin-Modellverbindungen in reduzierter Form als stöchiometrische Reduktionsmittel einzusetzen. Schließlich untersuchten wir in einigen Fällen den Effekt von Mg^{2+} -Zusätzen^[19], worauf hier aber nicht näher eingegangen wird.

5. Ergebnisse der Modellversuche

Die systematische Untersuchung der Reduktion aller bekannten Nitrogenasesubstrate ergab, daß es sich bei diesen Reaktionen um molybdänkatalysierte Reaktionen handelt^[20].

Das Eisen fungiert als Elektronentransfer-Katalysator, beeinflußt die Substratreduktion sonst jedoch nicht. Verglichen mit denjenigen der Nitrogenase sind die z. Z. realisierbaren Reaktionsumsätze noch gering. Es gelingt zwar, durch Verringerung der Molybdänkonzentration Acetylen mit etwa 1 % der enzymatischen Reaktionsgeschwindigkeit zu reduzieren, die meisten Versuche wurden jedoch bei höheren Molybdänkonzentrationen durchgeführt, so daß die beobachteten Umsatzzahlen jeweils nur etwa 0.001–0.01 % der mit Nitrogenase beobachteten entsprachen.

Tabelle 1. Vergleich von Eigenschaften und Reaktionen von Nitrogenase und Nitrogenase-Modellsystemen.

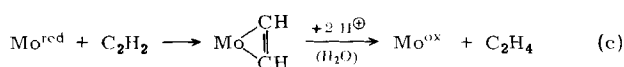
Charakteristikum	Nitrogenase	Modellsysteme
Anwesende Metalle	Mo, Fe, Mg ²⁺	Mo (Fe, Mg ²⁺ sind nicht obligatorisch)
Koordinationsstelle für Mo:	Protein-Cys-S [−] (?)	Cys-S [−] , RS [−]
ATP-Effekt	aktivierend (obligatorisch)	aktivierend (nicht obligatorisch)
Elektronentransportsystem	Nicht-Häm-Fe, ferredoxinartig	Ferredoxin-Modellverbindungen (nicht obligatorisch)
Reduktionsmittel	S ₂ O ₄ ^{2−} , BH ₄ [−]	S ₂ O ₄ ^{2−} , BH ₄ [−]
Optimaler pH-Bereich	7–8	7–10
Maximalumsatz bei der Reduktion von C ₂ H ₂ (mol·min ^{−1} , pro mol Mo):	200	1.7
Aktivierungsenergie der C ₂ H ₂ -Reduktion (kcal/mol, oberhalb von 20°C):	14.6	13–15
Rel. Reduktionsgeschwindigkeit (V _{rel}) und K _M -Werte (mmol·l ^{−1}) bei der Reduktion von	V _{rel}	K _M
C ₂ H ₂	1	0.1–0.4
N ₃ [−]	0.75	0.2–1.0
N ₂ O	0.75	1.0
N ₂	0.25	0.03–0.1
CH ₃ NC	0.20	0.2–1.0
CN [−]	0.15	0.4
CH ₂ =CH–CN	0.06	10–25
CH ₃ CN	0.005	500
	V _{rel}	K _M
	1	0.5
	0.5	2.4
	0.25	2–10 [a]
	0.01	8–100
	0.01	12
	0.005	250
	0.001	1000

[a] Für die Reduktion von N₂ zu N₂H₂ in Gegenwart von ATP.

Die geringere Aktivität der gegenwärtigen Modellsysteme hat mehrere Ursachen. Es muß hervorgehoben werden, daß die stationäre Konzentration von Mo^{red} aufgrund der Dimerisierungstendenz des Mo^V nur allenfalls etwa 1 % der insgesamt vorhandenen Molybdänkonzentration entspricht und daß auch die Elektronentransfer-Effizienz geringer als beim Enzym ist. Es zeigt sich jedoch (Tabelle 1), daß die im Modell beobachteten Umsatzzahlen und Michaelis-Menten-Konstanten (K_M) mit verschiedenen Substraten die gleiche Abstufung wie mit Nitrogenase selbst aufweisen. Die statistischen Korrelationen sind hochsignifikant (P < 0.001). Die Modellsysteme sind daher als relevant anzusehen, und es ist gestattet, die mechanistischen Schlußfolgerungen aus den Modellsystemen auf die Nitrogenase selbst zu übertragen. Wir werden im folgenden die Reduktion der wichtigsten Substrate noch eingehender behandeln.

5.1. Acetylen und Alkine^[21]

Die Versuchsergebnisse lassen sich am besten dahingehend interpretieren, daß sich C₂H₂ mit Mo^{red} unter Bildung eines labilen Komplexes vereinigt, der bei der anschließenden Hydrolyse Äthylen und Mo^{ox} liefert [Gl. (c)].

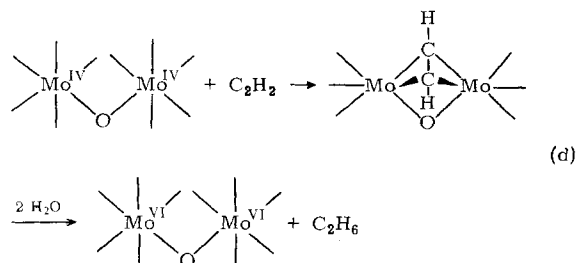


Das Substrat muß sich von der Seite her an den Katalysator anlagern, da in D₂O bevorzugt *cis*-1,2-C₂H₂D₂ entsteht und 2-Butin ausschließlich zu *cis*-2-Buten reduziert wird. Im Modellversuch bildet sich außer Äthylen jeweils noch etwas Äthan.

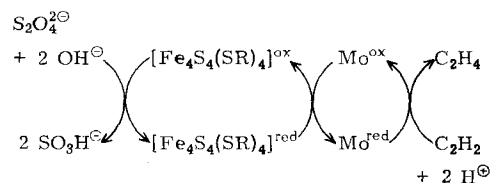
Diese Nebenreaktion läßt sich weitgehend zurückdrängen, z. B. durch Erniedrigung der Katalysatorkonzentration, und wurde auf die Anwesenheit von dimeren Mo^{red}-Derivaten zurückgeführt, die mit Acetylen im Sinne von Gl. (d) reagieren.

Die Tatsache, daß 2-Butin vom Modellsystem, aber nicht vom Enzym reduziert wird, deutet auf eine sterische Behinderung des aktiven Zentrums der Nitrogenase hin.

In Gegenwart der Ferredoxin-Modellkomplexe läßt sich die Mo^{red}-katalysierte Reduktion von Acetylen zu Äthylen im Sinne von Schema 2 formulieren, worin [Fe₄S₄(SR)₄]^{red}



und [Fe₄S₄(SR)₄]^{ox} die reduzierten bzw. oxidierten Derivate der Fe₄-Clusterkomplexe sind. In Abwesenheit von reduzierbaren Substraten entwickeln diese Systeme Wasserstoff^[18].

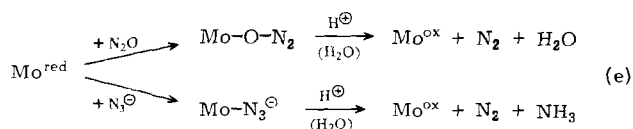


Schema 2. Acetylenreduktion durch Mo^{red} in Gegenwart von Ferredoxin-Modellverbindungen.

Das System in Schema 2 ließ sich bis jetzt noch nicht durch ATP stimulieren, liefert aber mit Stickstoff als Substrat Hydrazin über Diimin als Zwischenstufe^[17].

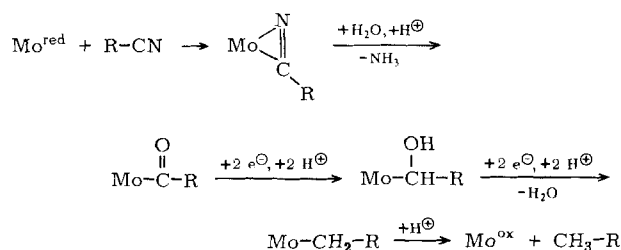
5.2. Distickstoffoxid und Azid^[19]

Die Reduktion dieser Substrate kann plausibel durch Gl. (e) ausgedrückt werden und bedarf keiner weiteren Diskussion.



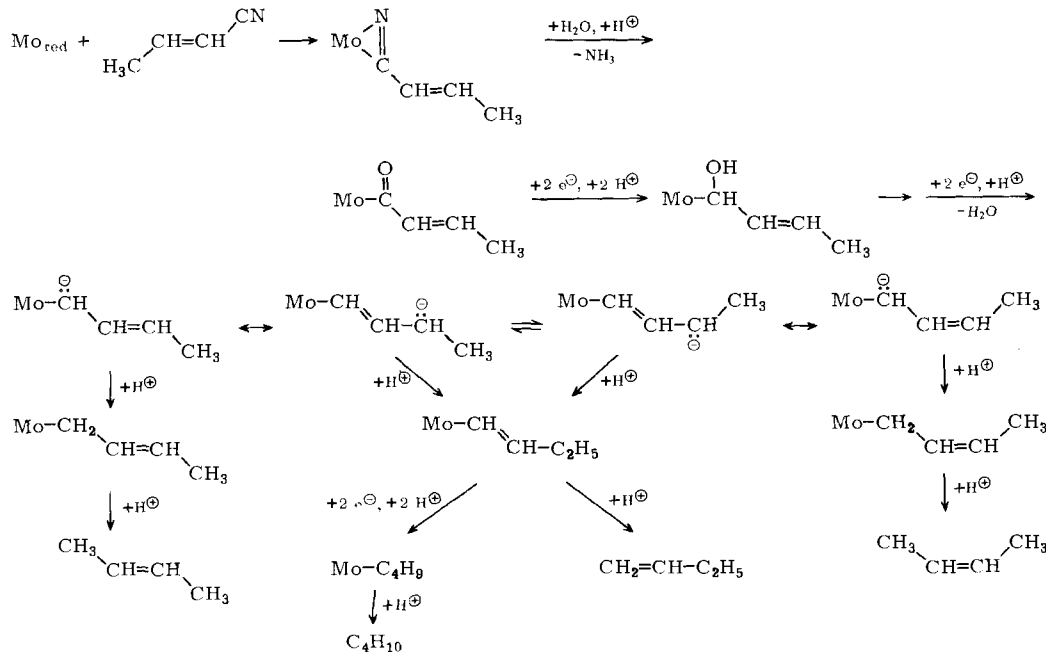
5.3. Nitrile^[22]

Acetonitril wird durch Nitrogenase zu Äthan und Ammoniak reduziert^[5]. Höhere n-Alkannitrile verhalten sich analog, sekundäre und tertiäre Alkannitrile reagieren nur mehr langsam oder überhaupt nicht. Eine eingehende Untersuchung der Nitrilreduktion im Modellsystem deutet darauf hin, daß die Nitrilgruppe von der Seite her mit Mo^{red} in Wechselwirkung tritt. Dem Reaktionsablauf wird Schema 3 gerecht.



Schema 3. Nitrilreduktion.

Ungesättigte Nitrile werden durch Nitrogenase und im Modellsystem rascher als die gesättigten Nitrile reduziert^[22, 23]. Es bilden sich gesättigte sowie ungesättigte Kohlenwasserstoffe und Ammoniak. Aus der Produktverteilung muß geschlossen



Schema 4. Reduktion von *trans*-Crotononitril.

werden, daß bei der Reduktion allylartige Organomolybdänkomplexe als Zwischenprodukte auftreten. Der molybdängebundene olefinische Rest geht dabei Doppelbindungs- und *cis-trans*-Isomerisierung ein. Am Beispiel des *trans*-Crotononitrils sind einige der wichtigsten Zwischenprodukte und Gleichgewichte, die zur Beschreibung der komplizierten Vorgänge postuliert werden müssen^[22], in Schema 4 wiedergegeben.

Der Vergleich der enzymatischen und nichtenzymatischen Reduktion von *cis*- und *trans*-Crotononitril ist außerordentlich lehrreich. Im Modellsystem entsteht z. B. neben n-Butan und 1-Buten ein Gemisch von *cis*- und *trans*-2-Buten, unabhängig davon, ob *cis*- oder *trans*-Crotononitril eingesetzt wird.

Enzymatisch liefert dagegen *cis*-Crotononitril (außer 1-Buten und n-Butan) nur *cis*-2-Buten und *trans*-Crotononitril nur *trans*-2-Buten. Dieser Befund deutet darauf hin, daß die zur *cis-trans*-Isomerisierung erforderliche Rotation des Organomolybdän-Zwischenproduktes im Modell stattfindet, im Enzym dagegen nicht. Dies wurde auf die sterische Behinderung durch das Apoprotein zurückgeführt. Dementsprechend gelang es auch, die Tendenz zur *cis-trans*-Isomerisierung im Modell durch den Ersatz des verhältnismäßig kleinen Cysteins durch den Glutathion-Rest weitgehend zu unterbinden. Da sich n-Butan und die isomeren Butene gaschromatographisch leicht bestimmen lassen, sind *cis*- und *trans*-Crotononitril somit leistungsfähige Testsubstrate, mit deren Hilfe auch feinere Einzelheiten der enzymatischen Reaktion untersucht und zur Weiterentwicklung der Modellsysteme herangezogen werden können. Durch Wahl geeigneter Oligopeptide sollte es auf diese Weise möglich sein, die im Enzym beobachtete sterische Hinderung durch das Apoprotein im Modell noch genauer zu simulieren als dies bisher durch Glutathion möglich war.

5.4. Isocyanide

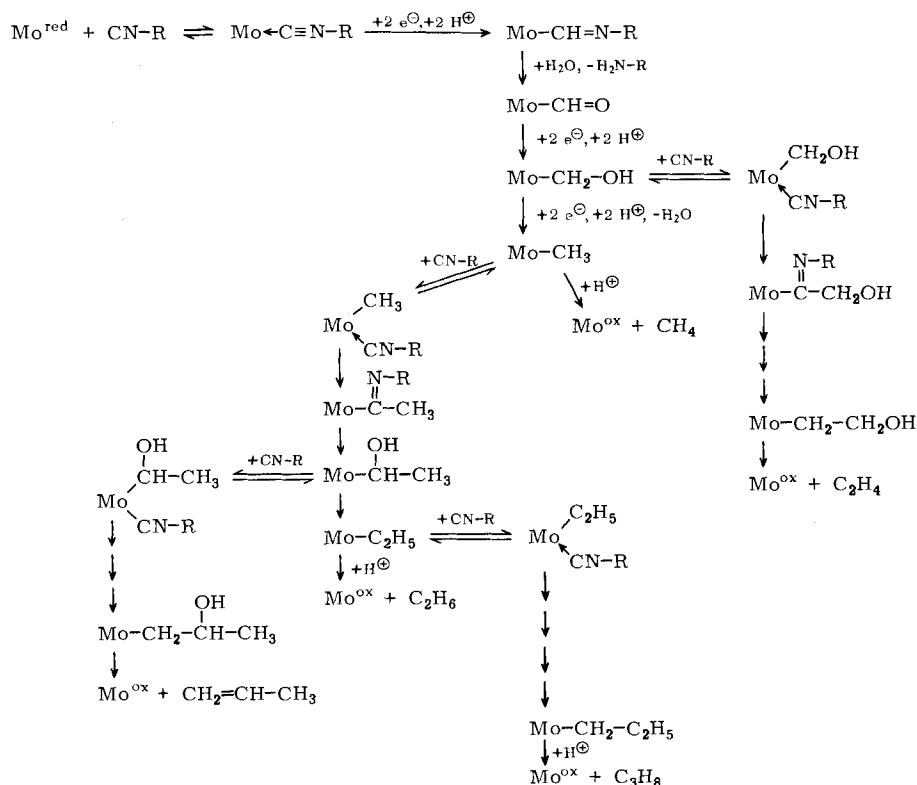
Die Reduktion von Isocyaniden durch Nitrogenase^[5, 24, 25] ist von Interesse, da sie unter Bildung neuer CC-Bindungen abläuft. So entstehen bei der Reduktion von Methylisocyanid zwar hauptsächlich Methan und Methylamin, aber auch geringe Mengen von gesättigten und ungesättigten C₂- und C₃-Kohlenwasserstoffen. Auch diese Reaktionen konnten im Modell-

system nachgeprüft werden; Schema 5 zeigt die wichtigsten Einzelheiten des Mechanismus.

Die Bildung der C₂- und C₃-Kohlenwasserstoffe wird somit durch Isocyanid-Einschiebungsreaktionen erklärt, für die es in der Chemie von Organometall-Derivaten des Palladiums und Platins bereits einige Beispiele gibt.

5.5. Cyanid^[19]

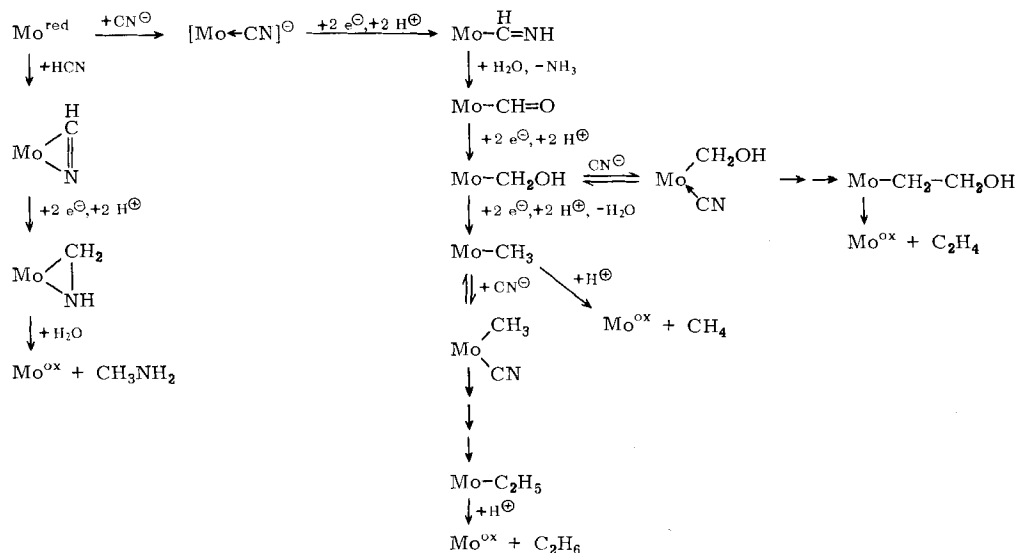
Die Reduktion von Cyanid durch Nitrogenase ergibt Methan und Ammoniak als Hauptprodukte^[5], doch entstehen jeweils auch geringe Mengen Äthan und Äthylen sowie Spuren



Schema 5. Isocyanidreduktion.

Methylamin. Sieht man von der Methylaminbildung ab, so läßt sich der Mechanismus analog der Isocyanidreduktion formulieren (Schema 6). Die Entstehung von Methylamin ließe

wie in Schema 6 gefordert verhalten. Die Versuche erlauben darüber hinaus auch erstmals strukturelle Aussagen über bei der Cyanidreduktion durch Mo^{red} postulierte Zwi-

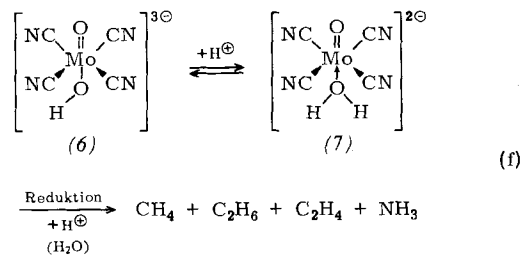


Schema 6. Cyanidreduktion.

sich durch die Annahme erklären, daß HCN mit Mo^{red} von der Seite her in Wechselwirkung tritt und dann ohne Hydrolyse der $\text{C}=\text{N}$ -Bindung reduziert wird. Neueste Untersuchungen^[26] mit definierten Cyanokomplexen des Mo^{IV} bestätigen die in Schema 6 wiedergegebenen mechanistischen Vorstellungen. Das komplexe Anion $[\text{Mo}(\text{O})(\text{CN})_4(\text{OH})]^{3\ominus}$ besitzt die Struktur (6) und bildet in neutraler Lösung das Hydrat (7), dessen Struktur ebenfalls durch Röntgen-Analyse ermittelt wurde^[27]. Das Anion (7) reagiert mit Reduktionsmitteln unter Bildung von CH_4 , C_2H_6 , C_2H_4 und NH_3 [Gl. (f)].

Diese Versuche^[26] zeigen, daß sich monomere Mo^{IV} -Komplexe, die Cyanid koordinativ gebunden enthalten, in der Tat

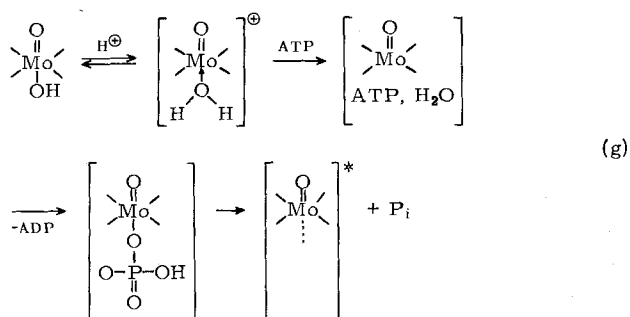
schonstufen, da (6) und (7) als Modelle von Katalysator-Substratkomplexen aufgefaßt werden können.



6. Der ATP-Effekt

Die stimulierende Wirkung des ATP im Modellsystem wurde als Beschleunigung des Elektronenübergangs vom Reduktionsmittel zum Molybdän gedeutet^[19, 20]. Es gibt Hinweise, daß ATP mit Mo^{ox} einen protonierten Zwischenkomplex bildet, der unter teilweiser ATP-Hydrolyse schneller reduziert wird als Mo^{ox} selbst^[28]. Daß ATP durch Molybdat(VI) katalytisch zu ADP und Phosphat hydrolysiert wird, ist bereits seit längerer Zeit bekannt, insbesondere durch die Arbeiten von *Weil-Malherbe* und *Green*^[29]. Der ATP-Bedarf der Nitrogenase könnte somit durch die Wechselwirkung von ATP mit dem Molybdänzentrum im Mo-Fe-Protein zusammenhängen.

Wir konnten kürzlich zeigen, daß die Aktivierung des Mo^{ox} auch mit der Anlagerung eines Protons verbunden ist^[28]. Eine russische Arbeitsgruppe sprach jüngst die Vermutung aus, daß die Protonierung von Mo^{ox} für die beobachtete Aktivierung allein ausschlaggebend sei^[30]. Vergleicht man jedoch den Effekt verschiedener Säuren unter gleichen Reaktionsbedingungen, so läßt sich einwandfrei auch ein erheblicher Einfluß des Anions erkennen: An der Aktivierung des Mo^{ox} nehmen sowohl das Proton als auch das Anion teil^[28]. Auch erweist sich ATP als wesentlich stärker wirksam als alle bisher untersuchten einfachen Säuren, so daß an der Wechselwirkung des ATP mit dem Molybdänkatalysator nicht mehr gezweifelt werden kann. Im Gegensatz zu früher geäußerten Vorstellungen^[19, 20] nehmen wir jedoch jetzt an, daß nicht zwei, sondern nur ein ATP mit Mo^{ox} einen Intermediärkomplex bildet. Im Endeffekt bewirkt ATP vermutlich die Entfernung von reaktionsträgen molybdängebundenen OH-Gruppen, etwa so wie in Gl. (g). Es ist außerdem möglich, daß der Mg^{2+} -Bedarf des Enzyms mit dem ATP-Effekt zusammenhängt (z. B. mit der Entfernung von ADP oder Phosphat aus dem Bereich des aktiven Molybdänzentrums).



Ähnliche Vorstellungen über die Wirkungsweise des ATP in der Nitrogenase haben bereits *Hardy* und *Knight Jr.*^[31] sowie *Parshall*^[32] geäußert. Versuche mit Nitrogenaseproteinen ergaben außerdem^[33, 34], daß das Magnesiumsalz des ATP mit dem Fe-Protein („Protein II“) einen Komplex bildet, ohne daß ATP dabei hydrolysiert wird. Vereinigt man diesen Komplex jedoch mit dem Mo-Fe-Protein („Protein I“), so werden sowohl die Hydrolyse von ATP als auch ein Elektronenübergang vom Fe-Protein zur Mo-Fe-Komponente beobachtet. Damit erscheint die Annahme gerechtfertigt, daß das Fe-Protein als Elektronendonator fungiert, während ATP zur Aktivierung des Molybdänzentrums notwendig ist. ATP wird dabei hydrolysiert und sollte die freigesetzte Energie auf das Molybdän übertragen, was die Reaktivität bei der anschließenden Reduktion erhöhen müßte.

Trotz der komplizierten Verhältnisse ist mit Sicherheit anzunehmen, daß der ATP-Bedarf mit dem eigentlichen Mechanismus der Substratreduktion nur indirekt zusammenhängt, nicht nur, weil alle durch Nitrogenase katalysierten Reaktionen ohnehin exotherm sind, sondern weil ja selbst auch die in Abwesenheit von Substraten erfolgende Wasserstoffentwicklung ATP-abhängig ist.

7. Die Rolle des Eisens

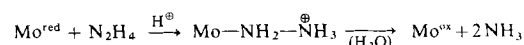
Alle Modellversuche zeigten eindeutig, daß weder einfache Eisensalze noch die Anionen vom Typ $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{SR})_4]^{2-}$ direkt an der Substratreduktion beteiligt sind. Die letzteren erwiesen sich jedoch als gute Elektronentransfer-Katalysatoren. Da demnach das Molybdän eine hinreichend hohe Affinität zu den Modellverbindungen der Ferredoxine besitzt, ist die Annahme berechtigt, daß das Nicht-Häm-Eisen in der Nitrogenase im wesentlichen dem Elektronentransport dient^[17, 18]. Man kann darüber hinaus vermuten, daß die Ferredoxineinheiten im Enzym als Elektronenspeicher fungieren, damit ständig genügend Elektronen zur Reduktion des aktiven Molybdänzentrums verfügbar sind. Der hohe Eisengehalt des Enzyms im Vergleich zum Molybdängehalt spricht für die Richtigkeit dieser Deutung.

8. Die Reduktion des Stickstoffs

Da die Reduktion des Acetylens durch Nitrogenase zum Äthylen führt, liegt es nahe, Diimin als Zwischenprodukt der Reduktion des isoelektronischen Stickstoffs zu postulieren, wie es *H. Wieland* schon 1922 tat. Wie hat man sich aber dessen Weiterreaktion vorzustellen? Das stark endotherme Diimin zersetzt sich in wäßriger Lösung bei Raumtemperatur außerordentlich rasch. Der Zerfall findet z. T. unter Disproportionierung, aber auch unter Bildung von N_2 und H_2 statt. Bei der Disproportionierung bilden sich hauptsächlich Hydrazin und Stickstoff^[33], in geringem Maße auch Ammoniumazid^[34]. Diimin selbst ist ein starkes Reduktionsmittel und wirkt sogar auf isolierte $\text{C}=\text{C}$ -Bindungen hydrierend^[35, 36]. Um sein Verhalten unter enzymatischen Bedingungen aufzuklären, führten wir Modellversuche mit aus Salzen der Azodicarbonsäure freigesetztem Diimin in Gegenwart der Komponenten des Nitrogenase-Modellsystems durch. Dabei stellte sich heraus, daß Diimin nicht reduziert wird und daß die Molybdänkatalysatoren weder seinen Zerfall in die Elemente noch seine Disproportionierung wesentlich beeinflussen^[17]. In schwach alkalischem Medium bei Raumtemperatur disproportioniert und zerfällt Diimin recht genau nach Gl. (h):



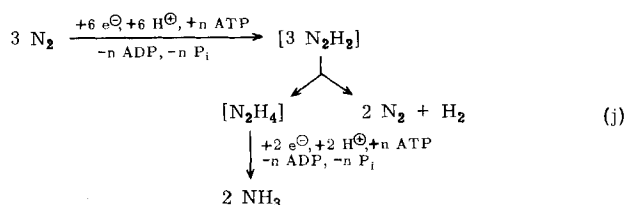
In Gegenwart von Reduktionsmittel (BH_4^- , aber nicht $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$) wird das nach Gl. (h) entstandene Hydrazin in molybdän-katalysierter Reaktion glatt zu Ammoniak reduziert [Gl. (i)]^[17]:



Diimin selbst ist demnach kein Substrat unseres Katalysatorsystems, was im Hinblick auf die thermodynamischen Gegebenheiten nicht weiter überrascht.

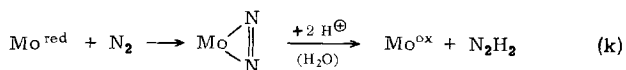
Diimin ist außerdem auch isoelektronisch mit dem ebenfalls nicht reduzierbaren Äthylen. Überträgt man diese Befunde auf die Nitrogenase, so wird deutlich, daß auch hier eine direkte

Reduktion des Diimins kaum wahrscheinlich ist. Vielmehr muß angenommen werden, daß sich Diimin in der Nähe des aktiven Zentrums zunächst ansammelt und dann im Sinne von Gl. (h) zerfällt. Das dabei entstehende Hydrazin ist demgegenüber leicht reduzierbar, so daß sich die Stickstoffreduktion schematisch durch Gl. (j) ausdrücken läßt.

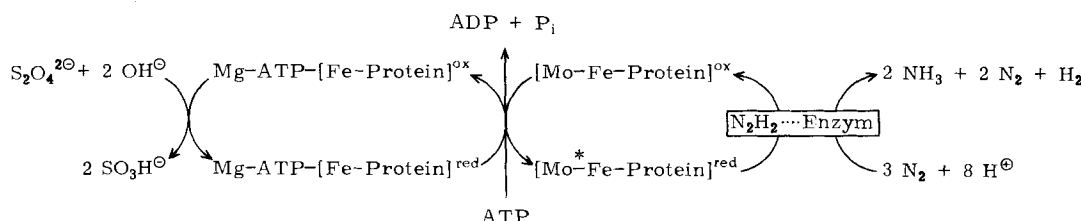


Die Gesamtstöchiometrie der biologischen Stickstoff-Fixierung ist daher in der Tat durch Gl. (b) und nicht durch Gl. (a) wiederzugeben. Die Wasserstoffentwicklung bei der Stickstoff-Fixierung deutet somit auf das intermediäre Auftreten von Diimin und dessen nachfolgenden Zerfall hin.

Die Nitrogenase-Modellsysteme reagieren mit Stickstoff in Abwesenheit von ATP langsam unter Ammoniakbildung. In Gegenwart von ATP wurde die Bildung von Diimin als Zwischenprodukt durch Versuche mit $^{15}\text{N}_2$ nachgewiesen^[17, 20]. In Analogie zur Acetylenreduktion ist daher die Bildung von Diimin im Sinne der Gl. (k) zu verstehen.



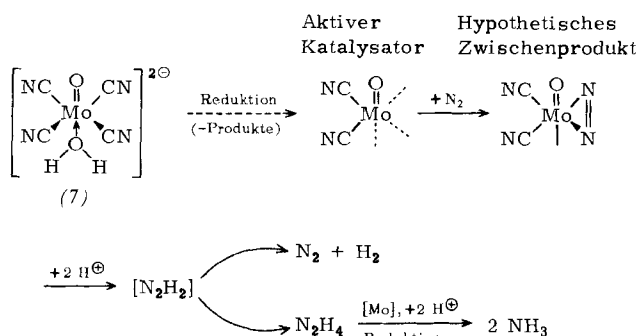
Unter Zusammenfassung aller Untersuchungsergebnisse läßt sich somit das im Schema 7 wiedergegebene Bild der biologischen Stickstoffreduktion entwerfen.



Schema 7. Enzymatische Stickstoffreduktion.

Auch die beobachtete stickstoffabhängige $\text{D}_2/\text{H}^{\oplus}$ -Austauschreaktion^[8, 9], die zur Bildung von HD führt, kann als Hinweis für das intermediäre Auftreten von Diimin und dessen teilweisen Zerfall in die Elemente gedeutet werden. Obwohl noch nicht alle Einzelheiten dieses Vorgangs geklärt sind, ist es zumindest erfreulich, daß auch diese Reaktion im Modellsystem realisiert^[17] werden konnte.

In neuesten Versuchen^[26] wurden inzwischen auch Cyano-komplexe des Mo^{IV} als Katalysatoren der Reduktion von



Schema 8. Stickstoffreduktion im Cyanomolybdänsystem.

Nitrogenasesubstraten erfolgreich eingesetzt. Der Komplex (7) liefert unter reduzierenden Bedingungen Mo^{red} -ähnliche katalytisch aktive Spezies. Reduziert man (7) in Gegenwart von ATP und Stickstoff, so bildet sich Ammoniak in wesentlich höheren Ausbeuten als sie bisher mit thiol-haltigen Molybdänkomplexen erzielt wurden. Der Mechanismus der Stickstoffreduktion in diesen Systemen ist im Schema 8 wiedergegeben.

Da bei der Cyanidreduktion ebenfalls Ammoniak entsteht, wurden die Versuche im Cyanomolybdänsystem mit $^{15}\text{N}_2$ als Substrat durchgeführt. Auf diese Weise ließ sich die Reduktion des molekularen Stickstoffs eindeutig beweisen.

9. Schlußbemerkungen

Es wäre verfehlt, diesen Aufsatz ohne einige Bemerkungen über die Grenzen der Anwendbarkeit von Modelluntersuchungen in der Enzymchemie abzuschließen. Man kann mit bewußt einfach gestalteten Systemen zwar hoffen, eine weitgehende, qualitative Übereinstimmung mit dem Verhalten des Enzymsystems zu erzielen, kaum jedoch ähnlich hohe Aktivität und Selektivität. Den Modellsystemen fehlt ohne Zweifel der im Enzym vorhandene hohe Ordnungszustand, sie besitzen offensichtlich eine höhere Entropie – sie *müssen* daher im Vergleich zum Enzymsystem unvollkommen erscheinen. Eine noch weitgehendere Annäherung an das Enzymverhalten erfordert dementsprechend eine Erhöhung der Komplexität, im Endeffekt eine Partialsynthese des Enzyms selbst.

Die vorliegenden Ausführungen zeigen jedoch, daß gerade mit den einfachsten Modellsystemen wichtige Aussagen über das Enzymsystem gemacht werden können, was mit kompli-

zierteren Modellen nicht notwendigerweise der Fall ist. Darüber hinaus haben diese Untersuchungen auch unsere Kenntnisse über Reaktionen von Molybdänverbindungen wesentlich erweitert. Die Fortführung der Arbeiten könnte durchaus Systeme erbringen, die gasförmigen Stickstoff effizient reduzieren. Die neuesten Ergebnisse z. B. mit den Cyanomolybdänkatalysatoren sind in dieser Hinsicht erfolgversprechend.

Die in diesem Fortschrittsbericht beschriebenen eigenen Forschungen wurden durch Beihilfen der National Science Foundation (USA) sowie durch die Climax Molybdenum Company und Mitsubishi Chemical Industries unterstützt. Den Herren P. A. Doemeny, G. W. Kiefer, Dr. H. Kisch, E. Moorehead, P. R. Robinson, G. Schlesinger, K. Tano und T. M. Vickrey danke ich für ihre aufopferungsvolle Mitarbeit.

Eingegangen am 21. April 1975 [A 79]

- [1] D. Kleiner, Angew. Chem. 87, 97 (1975); Angew. Chem. internat. Edit. 14, 80 (1975).
- [2] W. A. Bulen u. J. R. LeComte, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 56, 979 (1966).
- [3] D. Sellmann, Angew. Chem. 86, 642 (1974); Angew. Chem. internat. Edit. 13, 639 (1974).

- [4] M. B. Hesse: Models and Analogies in Science. University of Notre Dame Press, Notre Dame, Ind., 1966.
- [5] Siehe Zusammenfassungen, besonders R. W. F. Hardy, R. C. Burns u. G. W. Parshall in G. Eichhorn: Inorganic Biochemistry. Elsevier, Amsterdam 1973, Band 2, Kap. 23, S. 745ff., sowie J. R. Postgate: The Chemistry and Biochemistry of Nitrogen Fixation. Plenum Press, London 1971, und dort zit. Original-Literatur.
- [6] R. Silverstein u. W. A. Bulen, Biochemistry 9, 3809 (1970).
- [7] R. C. Burns u. R. W. F. Hardy, Methods Enzymol. 24, 482 (1972).
- [8] G. L. Turner u. F. J. Bergersen, Biochem. J. 115, 529 (1969).
- [9] E. K. Jackson, G. W. Parshall u. R. W. F. Hardy, J. Biol. Chem. 243, 4952 (1968).
- [10] G. N. Schrauzer u. G. Schlesinger, J. Am. Chem. Soc. 92, 1808 (1970).
- [11] G. N. Schrauzer, Advan. Chem. Ser. 100, 1 (1971).
- [12] A. Kay u. P. C. H. Mitchell, Nature 219, 267 (1967).
- [13] J. R. Knox u. C. K. Prout, Chem. Commun. 1968, 1227.
- [14] M. Ichikawa u. S. Meshitsuka, J. Am. Chem. Soc. 95, 3411 (1973).
- [15] B. A. Averill, T. Herskovitz, R. H. Holm u. J. A. Ibers, J. Am. Chem. Soc. 95, 3523 (1973).
- [16] T. Herskovitz, B. A. Averill, R. H. Holm, J. A. Ibers, W. D. Phillips u. J. F. Weiher, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 69, 2437 (1972).
- [17] G. N. Schrauzer, G. W. Kiefer, K. Tano u. P. A. Doemeny, J. Am. Chem. Soc. 96, 641 (1974).
- [18] K. Tano u. G. N. Schrauzer, J. Am. Chem. Soc., im Druck.
- [19] G. N. Schrauzer, G. W. Kiefer, P. A. Doemeny u. H. Kisch, J. Am. Chem. Soc. 95, 5582 (1973).
- [20] G. N. Schrauzer, J. Less Common Metals 36, 475 (1974).
- [21] G. N. Schrauzer u. P. A. Doemeny, J. Am. Chem. Soc. 93, 1608 (1971).
- [22] G. N. Schrauzer, P. A. Doemeny, R. H. Frazier u. G. W. Kiefer, J. Am. Chem. Soc. 94, 7378 (1972).
- [23] W. H. Fuchsman u. R. W. F. Hardy, Bioinorg. Chem. 1, 197 (1971).
- [24] M. Kelly, J. R. Postgate u. R. L. Richards, Biochem. J. 102, 1c (1967).
- [25] G. N. Schrauzer, P. A. Doemeny, G. W. Kiefer u. R. H. Frazier, J. Am. Chem. Soc. 94, 3604 (1972).
- [26] G. N. Schrauzer, P. R. Robinson, E. L. Moorehead u. T. M. Vickrey, J. Am. Chem. Soc., im Druck.
- [27] P. R. Robinson, E. O. Schlemper u. R. K. Murmann, J. Am. Chem. Soc., im Druck.
- [28] G. N. Schrauzer, G. W. Kiefer, K. Tano u. P. R. Robinson, J. Am. Chem. Soc., im Druck.
- [29] H. Weil-Malherbe u. R. H. Green, J. Biol. Chem. 49, 286 (1951).
- [30] A. P. Krushch, A. E. Shilov u. T. A. Vorontsova, J. Am. Chem. Soc. 96, 4987 (1974).
- [31] R. W. F. Hardy u. E. Knight Jr., Bacteriol. Proc. 1967, 112.
- [32] G. W. Parshall, J. Am. Chem. Soc. 89, 1822 (1967).
- [33] M. Y. W. Tso u. R. H. Burris, Biochim. Biophys. Acta 309, 263 (1973).
- [34] G. A. Walker u. L. E. Mortenson, Biochem. Biophys. Res. Commun. 53, 904 (1973).
- [35] S. Hünig, H. R. Müller u. W. Thier, Angew. Chem. 77, 368 (1965); Angew. Chem. internat. Edit. 4, 271 (1965).
- [36] N. Wiberg, H. Bachhuber u. G. Fischer, Angew. Chem. 84, 889 (1972); Angew. Chem. internat. Edit. 11, 829 (1972).

ZUSCHRIFTEN

Zuschriften sind kurze vorläufige Berichte über Forschungsergebnisse aus allen Gebieten der Chemie. Vom Inhalt der Arbeiten muß zu erwarten sein, daß er aufgrund seiner Bedeutung, Neuartigkeit oder weiten Anwendbarkeit bei sehr vielen Chemikern allgemeine Beachtung finden wird. Autoren von Zuschriften werden gebeten, bei Einreichung ihrer Manuskripte der Redaktion mitzuteilen, welche Gründe in diesem Sinne für eine vordringliche Veröffentlichung sprechen. Die gleichen Gründe sollen im Manuskript deutlich zum Ausdruck kommen. Manuskripte, von denen sich bei eingehender Beratung in der Redaktion und mit auswärtigen Gutachtern herausstellt, daß sie diesen Voraussetzungen nicht entsprechen, werden den Autoren mit der Bitte zurückgesandt, sie in einer Spezialzeitschrift erscheinen zu lassen, die sich direkt an den Fachmann des behandelten Gebietes wendet.

Substituenteneinfluß auf eine [1,5]-sigmatrope Ester-verschiebung^[**]

Von Jutta Backes, Reinhard W. Hoffmann und Friedrich W. Steuber^[*]

Herrn Professor Karl Dimroth zum 65. Geburtstag gewidmet

Im Rahmen einer theoretischen Behandlung pericyclischer Reaktionen diskutiert *Epiotis*^[1] Substituenteneffekte bei sigmatropen Umlagerungen. Diese sollen von der Lage des HOMO der formalen Betrachtung zugrundeliegenden Radikale bestimmt werden. Wir berichten hier über markante Effekte der Substituenten R auf die sigmatrope [1,5]-Esterverschiebung im Pentamethyl-cyclopentadienpentacarboxylat-System

[*] Dipl.-Chem. J. Backes, Prof. R. W. Hoffmann und Prof. F. W. Steuber
Fachbereich Chemie der Universität
355 Marburg, Lahnberge

[**] Diese Arbeit wurde vom Verband der Chemischen Industrie und von der Max-Buchner-Forschungstiftung unterstützt.

(1) → (2)^[2, 3], die zwischen 45 und 190°C ¹H-NMR-spektroskopisch verfolgt wurde.

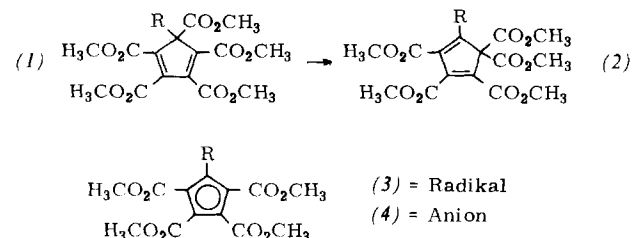


Tabelle 1. Relative Geschwindigkeit k_{rel} der Umlagerung (1) → (2) bei 400 K (gemessen oder extrapoliert) und längstwellige UV-Absorption von (4) in CH₃OH.

R	k_{rel} [s ⁻¹]	λ [nm]
CH ₃ S	0.28	(296.3) [b]
Cl	0.33	—
CH ₃	1.0 [a]	305.9
C ₆ H ₅	1.9	302.2
CH ₃ OCOCH ₃	2.1	302.2
CH ₃ O	12.0	300.0
NC—	15.5	300.2
C ₆ H ₅ NH	125	—
(CH ₃) ₂ N	260	291.2

[a] Bezugswert $k = 2.26 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ bei 400 K; $\Delta H^\ddagger = 26.9 \pm 2.1 \text{ kcal mol}^{-1}$; $\Delta S^\ddagger = -8.6 \pm 2.8 \text{ cal K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$.

[b] Der Wert konnte nicht genau bestimmt werden.

Die in Tabelle 1 aufgeführten Ergebnisse zeigen, daß elektronenabgebende Substituenten die Reaktionsgeschwindigkeit erhöhen: Bei Versuchen, (1), R = NH₂ oder NHCH₃, zu gewinnen, trat die Umlagerung zu (2) bereits bei etwa 20°C ein. Auffällig ist vor allem die Wirkung von R = CN oder C₆H₅, die die Reaktionsgeschwindigkeit relativ zu (1), R = CH₃, erhöhen, während Substituenten mit Elementen aus der 2. Reihe des Periodensystems (R = Cl, SCH₃) schwach verlangsamen wirken^[4]. Diese ungewöhnliche Reihung des Substituenteneffektes folgt weder den Hammettschen σ -Werten noch den Hineschen D_x -Parametern^[5]. Um einen Zusammenhang mit der Theorie von *Epiotis* zu überprüfen, haben