

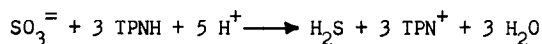
ÜBER DEN MECHANISMUS DER WASSERSTOFFÜBERTRAGUNG
MIT PYRIDINNUCLEOTIDEN - XX¹
DIE REDUKTION DER SCHWEFLIGEN SÄURE ZUM SCHWEFELWASSERSTOFF

Kurt Wallenfels und Dieter Hofmann

Chemisches Laboratorium der Universität Freiburg i. Br.

(Received 23 January 1962)

SULFATVERWERTENDE Mikroorganismen wie Hefe und Colibakterien führen die Reduktion der Schwefligen Säure zum Schwefelwasserstoff mit Hilfe eines spezifischen Enzyms durch, wobei TPNH als Reduktionsmittel dient²⁻⁵:



Es konnte bisher keine intermediäre Oxydationsstufe des Schwefels als Zwischenprodukt festgestellt werden, und es scheint, dass für den Prozess ausser TPNH kein anderer Cofaktor notwendig ist. Diese bemerkenswerte Reduktion lässt sich, wie wir gefunden haben, im Modellversuch auch ohne Enzym demonstrieren. Als Reduktionsmittel diente dabei das schon früher von uns in seinem Reaktionsverhalten eingehend studierte DPNH-Modell I.^{6,7}

Schweflige Säure bildet, wenn man sie in ausreichendem Überschuss auf I einwirken lässt, nicht das früher beschriebene Addukt von 1 Mol Säure an

¹ XIX. Mitt.: H. Sund, Biochem. Z. 333, 205 (1960).

² A. Lezius, Dissertation Universität München 1959.

³ J. Mager, Biochim. Biophys. Acta 41, 553 (1960).

⁴ L.G. Wilson und R.S. Bandurski, J. Amer. Chem. Soc. 80, 5576 (1958).

⁵ H. Hilz und M. Kittler, Biochim. Biophys. Acta 30, 650 (1958).

⁶ K. Wallenfels und H. Schüly, Liebigs Ann. 621, 106 (1959).

⁷ K. Wallenfels, D. Hofmann und H. Schüly, Liebigs Ann. 621, 188 (1959).

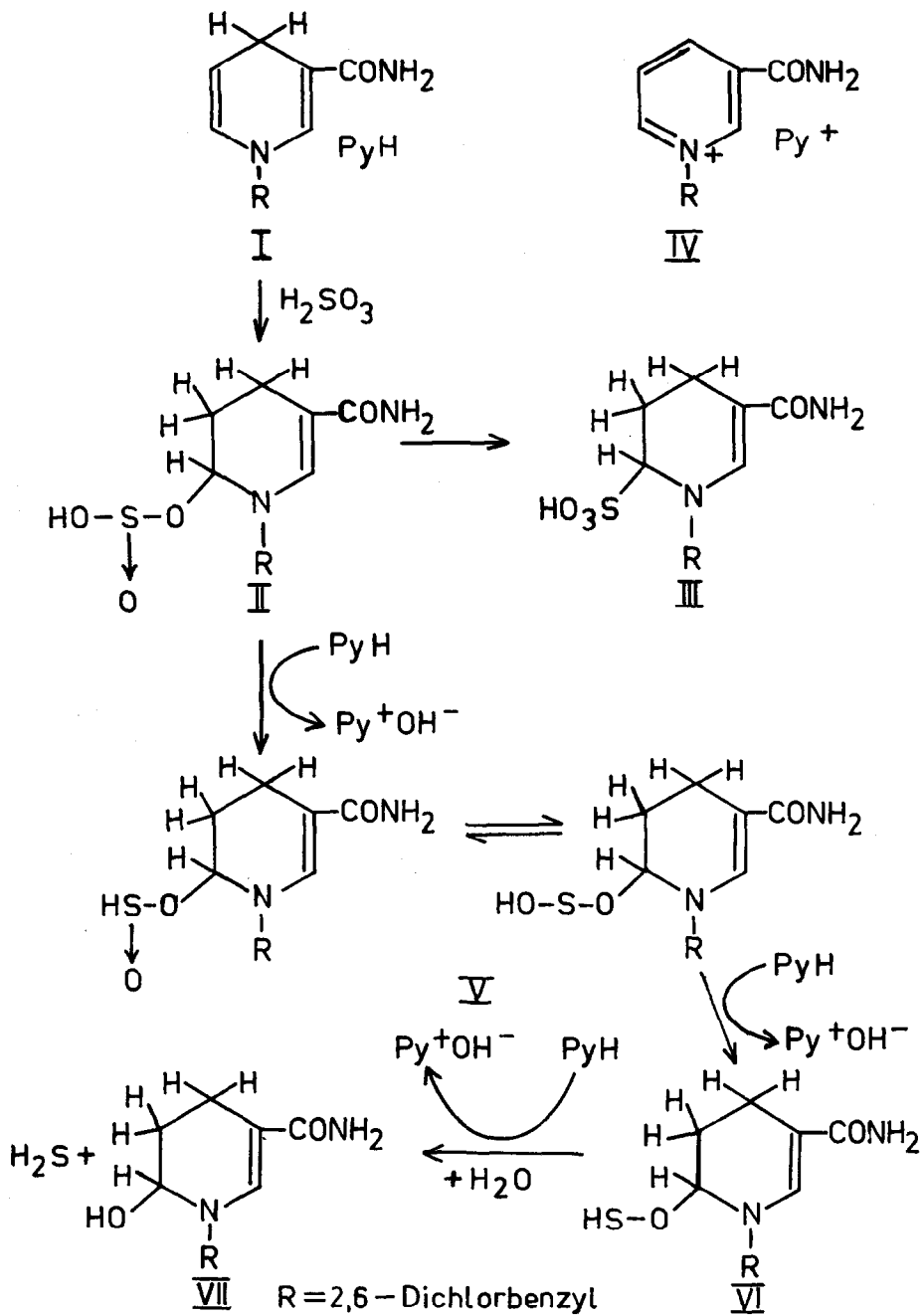
2 Mol Dihydropyridin,⁸ sondern eine in derben gelben Nadeln kristallisierende Verbindung, die sich aus den beiden Komponenten im Molverhältnis 1:1 zusammensetzt (Fp. 158-162^o, $\lambda_{\max} = 2900-2940 \text{ \AA}$, $\epsilon = 18,200$). Die gelbe Verbindung ist in Wasser und Methanol nahezu unlöslich. In Natriumhydrogencarbonatlösung löst sie sich unter CO₂-Entwicklung auf, durch Lösen in verdünnter NaOH und Ausfällen mit einem Gemisch aus wässriger Schwefliger Säure ($d = 1,033$) und Methanol im Verhältnis 1:1 wandelt sie sich in eine in farblosen, feinen Nadeln kristallisierende Substanz der gleichen Elementarzusammensetzung um, die gleichfalls Säurecharakter hat (Fp. 151-153^o, $\lambda_{\max} = 2948 \pm 6 \text{ \AA}$, $\epsilon = 19,600$). Im I.R.-Spektrum unterscheidet sich die farblose Säure von der gelben wesentlich nur durch eine breite Bande bei 1950 cm⁻¹ und eine spitze Bande bei 970 cm⁻¹. Für die gelbe Verbindung haben wir die Konstitution II bewiesen. Verbindung III bildet sich daraus durch Umlagerung, und wir nehmen an, dass sie die angegebene Konstitution besitzt.

Suspendiert man II in Methanol und fügt Dihydropyridin (I) im Überschuss hinzu, so erhält man eine tief orange gefärbte Lösung, die sich beim gelinden Erwärmen alsbald aufhellt, und es beginnt, Schwefelwasserstoff zu entweichen. Nach längerem Erhitzen liessen sich nach Zimmermann⁹ 47% der Theorie als Cadmiumsulfid bestimmen. Als weitere Reaktionsprodukte wurden das 6-Hydroxy-1,4,5,6-tetrahydropyridinderivat VII (Fp. 162^o, $\lambda_{\max} = 2870 \text{ \AA}$, $\epsilon = 20500$)¹⁰ in einer Ausbeute von 48% der Theorie, berechnet auf eingesetztes Sulfitaddukt, und 97% der Theorie, berechnet auf den gebildeten Schwefelwasserstoff, sowie das Pyridiniumsalz Py⁺ (IV) erhalten (20% der Theorie). Die Säure III, die sich offenbar sehr leicht aus II durch

⁸ K. Wallenfels und H. Schüly, *Biochem. Z.* 329, 75 (1957).

⁹ W. Zimmermann, *Mikrochemie* 31, 15 (1943).

¹⁰ K. Wallenfels und H. Diekmann, unveröffentl.; H. Diekmann, Dissertation Universität Freiburg i. Br. 1962.



Umlagerung bildet, liefert keine Spur von Schwefelwasserstoff. Man kann annehmen, dass auch unter den Bedingungen der Behandlung mit Dihydropyridin eine teilweise Umlagerung von II in III stattfindet. Auf diesem Wege entzieht sich daher ein Teil der Schwefligen Säure der Reduktion.

Wir nehmen auf Grund dieses Modellversuches an, dass der Chemismus der biologischen Reduktion der Schwefligen Säure in der Bildung eines Esters durch Addition an die reaktionsfreudige C₅-C₆-Doppelbindung des Dihydropyridins¹¹ und der anschliessenden successiven Verdrängung des Sauerstoffes vom Schwefel durch die nucleophilen Hydridionen, die vom Dihydropyridin abgegeben werden, besteht. Hierbei durchläuft der Schwefel die nichtisolierten Oxydationsstufen der Sulfoxylsäure (V) und des "Sulfinoxyds" (VI),¹² in welchen die ursprüngliche Verknüpfung mit dem Dihydropyridin erhalten ist. So ist es erklärlich, dass sowohl in unserem Modellversuch als auch bei der biologischen Reduktion der Schwefligen Säure die Stufe des elementaren Schwefels übersprungen wird.

Nach dem gleichen Prinzip lassen sich, wie wir festgestellt haben, auch andere Ester der Schwefligen Säure, z.B. das cyclische Äthylensulfit, zu Schwefelwasserstoff reduzieren, wenn man sie mit dem DPNH-Modell (I) in Methanol erwärmt. Bei Sulfoxylsäuren konnte dagegen in keinem Falle die Bildung von Schwefelwasserstoff nachgewiesen werden. Offenbar handelt es sich um eine typische Reaktionsweise organischer Sulfiten, die im Prinzip mit der kürzlich von Bunton, Tillett und Mitarbeitern¹³ nachgewiesenen ausschliesslichen Spaltung der S-O-Bindung bei der alkalikatalysierten Hydrolyse dieser Verbindungen übereinstimmt. In jedem Fall findet eine

¹¹ K. Wallenfels und D. Hofmann, Tetrahedron Letters No. 15, 10 (1959).

¹² Gmelins Handbuch der Anorganischen Chemie Schwefel Teil B - Lieferung 2 p. 374. Verlag Chemie GmbH, Weinheim/Bergstrasse (1960).

¹³ C.A. Bunton, P.B.D. de la Mare, P.M. Greaseley, D.R. Llewellyn, N.H. Pratt und J.G. Tillett, J. Chem. Soc. 4751 (1958); C.A. Bunton, P.B.D. de la Mare, A. Lennard, D.R. Llewellyn, R.B. Person, J.G. Pritchard und J.G. Tillett, Ibid. 4761 (1958); J.G. Tillett, Ibid. 37 (1960).

nucleophile Verdrängung eines Substituenten am Schwefel durch ein anionisches Teilchen statt.

Wir prüfen z.Zt. die Möglichkeit, auch die Reduktion der Salpetrigen Säure zum Ammoniak mit Hilfe eines DPNH-Modelles ohne Enzym zu bewerkstelligen, da, wie kürzlich gezeigt wurde,^{3,14} vermutlich das hydroxylamin- und nitritreduzierende System der Colibakterien mit dem sulfitreduzierenden identisch ist.

¹⁴ R.A. Lazzarini und D.E. Atkinson, J. Biol. Chem. 236, 3330 (1961).