

Kinetik und Mechanismus bei Reaktionen mit molekularem Sauerstoff¹

Von S. FALLAB

Institut für anorganische Chemie, Universität Basel

Summary

Reactions between organic compounds and molecular oxygen are usually, unless specifically catalysed, rather slow. In the respiratory chain, where electron transport has to proceed very rapidly, cytochrome a_3 is supposed to be in direct contact with the oxygen molecule. A bimolecular mechanism has been doubted on the basis of known autoxidation rates of Fe^{II} -salts.

However a careful study of autoxidation reactions with various Fe^{II} -chelates shows that bimolecular rate constants greatly vary depending on the structure of the ligand groups. Coordinated carboxyl-groups, for instance, greatly favour autoxidation to the corresponding Fe^{III} -chelate, whereas N-ligands have little or no influence on the reaction rate. From these results it can be concluded, that—in principle—a bimolecular mechanism is possible for the cytochromeoxydase-reaction. Moreover a carboxyl group coordinated to the heme-iron might cause the high rate of autoxidation.

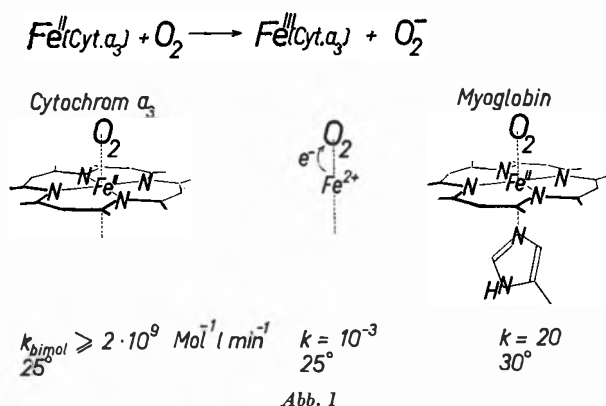
A tentative explanation for these marked differences in reactivity towards molecular oxygen can be given on the basis of electronic structures of the reacting species. The existence of an intermediate $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{X})\cdot\text{O}_2$ is made probable by thermodynamic considerations. In this complex electron transfer could occur from a d_z -orbital of the iron to a $\pi^* 2p$ antibonding orbital of the oxygen molecule. Oxygen donor groups X which in addition to σ -bonding have strong π -donor properties, could thus increase the rate of electron transfer. On the other hand N-ligands bound to Fe^{II} by pure σ -donor bonding have no direct influence on the d_z -orbitals.

Reaktionen zwischen molekularem Sauerstoff und oxydierbaren organischen Stoffen verlaufen im allgemeinen in Abwesenheit von Katalysatoren sehr träge. Auf dieser wichtigen Tatsache beruht unter anderem die Existenz organischen Lebens an der Erdoberfläche. Auf der anderen Seite aber ist die Natur in eng begrenzten Bezirken gezwungen, vom hohen Oxydationspotential des Sauerstoffs Gebrauch zu machen. Die Reaktions-trägheit muß dann mit ganz selektiv arbeitenden Katalysatoren überwunden werden. Von einigen dieser «Bio-katalysatoren» wissen wir mit Bestimmtheit, daß ihr aktives Zentrum aus einem Metall besteht, meist Eisen oder Kupfer, in einem Falle Molybdän und Vanadium. Es scheint also, daß immer dann, wenn das Organische in Beziehung zum Sauerstoffmolekül zu treten wünscht, es sich eines Metalls bedient, und zwar eines Schwermetalls der 3d- oder der 4d-Übergangsperioden, sei es als Reaktionsbeschleuniger oder bloß als Transportmittel.

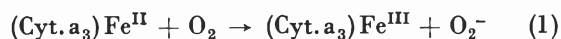
Im folgenden soll der Mechanismus eines solchen biochemischen Systems erörtert werden, dessen Aufgabe in der Überwindung der Reaktionsträgheit des Sauerstoffmoleküls besteht und das daher für den Energiehaushalt der Zelle von entscheidender Bedeutung ist. Die Übertragung des Oxydationspotentials auf rein organische Substrate erfolgt in der Zelle stufenweise in der sogenannten Atmungskette. Am einen Ende dieser Atmungs-

¹ Nach einem Vortrag, gehalten vor der Basler Chemischen Gesellschaft am 8. März 1962.

kette muß schließlich ein Elektronendonator stehen, der in direkten Kontakt mit dem O_2 -Molekül gerät. Dieser Donor wird heute als Cytochrom a_3 oder Cytochromoxydase bezeichnet. Wir wissen, daß das Eisen, das im Zentrum eines makrozyklischen Gerüsts sitzt (schematisch dargestellt in Abb. 1), der Träger der abtauschbaren elektrischen Ladung ist², und man kann daher



versuchswise dieses Ende der Atmungskette mit einer simplen Redoxgleichung (1) wiedergeben. Es ist aber



durchaus nicht sicher, ob der chemische Mechanismus, den man normalerweise mit dieser Reaktionsgleichung verknüpft, auch wirklich für das biochemische System zutrifft. Verschiedene andere Mechanismen sind vorgeschlagen worden. GEORGE und GRIFFITH³ gelangen auf Grund thermodynamischer Betrachtungen zur Hypothese, daß das Eisen im reduzierten Cytochrom a_3 durch den Sauerstoff zunächst zu einer ungewöhnlich hohen Oxydationsstufe oxydiert wird. Eine solche Annahme scheint gerechtfertigt, da das Normalpotential für das Paar O_2/O_2^- mit $E_1 = -0,74^4$ sehr niedrig und mit der experimentell ermittelten, hohen Geschwindigkeit von (1) kaum vereinbar ist. Das Oxydationspotential des Sauerstoffmoleküls kann nur in einem 2- bzw. in einem 4-Elektronen-Schritt ($E_{1-2} = 0,68$, $E_{1-4} = 1,23$ Volt)⁴ nutzbar gemacht werden. Eine andere Erklärungsmöglichkeit für die relativ hohe Geschwindigkeit von (1) besteht in der Annahme, daß der Elektronentransport von Cytochrom a_3Fe^{II} auf O_2 durch ein weiteres dazwischenliegendes Redoxsystem besorgt wird. Diese Funktion wird von verschiedenen Autoren⁵ den in allen Cytochrom-Oxydase-Präparationen vorhandenen Kupferproteinen zugeschrieben⁶. Einen ganz anderen

Mechanismus schlagen WANG und BRINIGAR⁷ vor. Diese Autoren nehmen an, daß die Hämenteile der Cytochromoxydase in sandwichartiger Struktur so geschichtet sind, daß die Eisenatome auf einer Achse senkrecht zu den parallelen Ebenen der Häme zu liegen kommen und so in einem 4-Elektronen-Schritt das O_2 -Molekül reduziert werden kann.

Der Haupteinwand gegen einen bimolekularen Mechanismus (1) beruht – bei genauerer Prüfung wohl zu Unrecht – auf dem Vergleich der Autoxydationsgeschwindigkeiten von Cytochrom a_3 in neutraler Lösung und Fe^{2+} in saurer Lösung³. CHANCE hat an der intakten, atmenden Zelle die Geschwindigkeit des Elektronenabtausches (1) messen können⁸. Einen bimolekularen Mechanismus vorausgesetzt, ergibt sich aus den experimentellen Resultaten die Geschwindigkeitskonstante $k \geq 2 \cdot 10^9 \text{ Mol}^{-1} \text{ l min}^{-1}$ (vgl. Abb. 1). Gleichen Mechanismus vorausgesetzt, mißt man für die Oxydation von Fe^{2+} die Geschwindigkeitskonstante $k \cong 10^{-3} \text{ Mol}^{-1} \text{ l min}^{-1}$.⁹ Die beiden Eisenpartikel dürften aber in ihrer Elektronenstruktur völlig verschieden sein, so daß es nicht ganz gerechtfertigt erscheint, auf Grund dieses Vergleichs Rückschlüsse auf den Mechanismus der Cytochromoxydase zu machen. Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, daß die Autoxydationsgeschwindigkeit anderer Hämoproteine, wie Myoglobin und Hämoglobin (schematisch dargestellt in Abb. 1), mit teilweise gleicher Ligandenstruktur wie im Cytochrom a_3 ebenfalls sehr niedrig ist¹⁰. Noch ein auffallender Reaktivitätsunterschied ist hier zu erwähnen: Hämoproteine dieser Art bilden erstaunlich stabile Addukte mit O_2 , in denen während langer Zeit kein irreversibler Ladungsübergang stattfindet. Wir haben statt dessen ein leicht spielendes Gleichgewicht. Das O_2 -Molekül wird unter leicht veränderten O_2 -Druck wieder abgegeben. Weder Cytochrom a_3 noch das Fe^{2+} zeigen diese Eigenschaft.

Im folgenden sollen zunächst einige neue kinetische Versuche mit Modellsystemen beschrieben werden, die – wie wir glauben – die großen Reaktivitätsunterschiede der verschiedenen Eisen(II)-Partikeln gegenüber O_2 plausibel erscheinen lassen und die damit prinzipiell die Möglichkeit offen lassen, den Mechanismus der Cytochromoxydase-Reaktion doch als bimolekularen Elektronenabtausch (1) zu formulieren. Ein direkter Elektronenabtausch (2) setzt voraus, daß das O_2 -Molekül



in die innerste Koordinationssphäre der Fe^{II} -Partikel eindringt (siehe Abb. 2), eine Annahme, die später besser begründet wird. Die Geschwindigkeit des Elektronen-

² A. EHRENBERG und T. YONETANI, *Acta Chem. Scand.* 15 (1961) 1071.

³ P. GEORGE und J. S. GRIFFITH, *The Enzymes*, Vol. I, Academic Press, New York 1959, S. 386.

⁴ M. G. EVANS, N. S. HUSH und N. URI, *Quart. Rev.* 6 (1952) 186.

⁵ R. LEMBERG, *Advances Enzymol.* 23 (1961) 305.

⁶ Nach neueren Untersuchungen von EHRENBERG und YONETANI² über magnetische Eigenschaften von Eisen und Kupfer in der

Cytochromoxydase kommt dieser Hypothese heute wenig Wahrscheinlichkeit zu.

⁷ JUI H. WANG und W. S. BRINIGAR, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 46 (1960) 958.

⁸ BRITTON CHANCE, *Disc. Faraday Soc.* 20 (1955) 205.

⁹ TH. KADEN, D. WALZ und S. FALLAB, *Helv. Chim. Acta* 43 (1960) 1639.

¹⁰ P. GEORGE, *Biochem. J.* 51 (1952) 418.

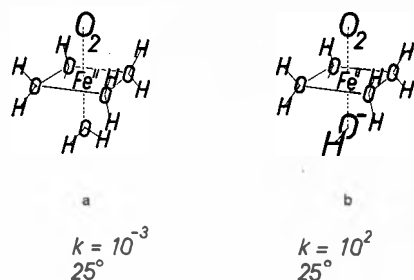


Abb. 2

abtausches dürfte dann in erster Linie durch die weiteren, in der Koordinationssphäre befindlichen Liganden bzw. Ligandatome X bestimmt sein. In stark saurer Lösung liegen praktisch nur vollständig hydratisierte Fe^{2+} vor. Die Wassermoleküle, die sich in der innersten Koordinationssphäre befinden, weisen – statistisch gesehen – eine gewisse räumliche Ordnung auf, und wir haben gute Anhaltspunkte für die Annahme, daß, wie in stabileren Komplexen, eine oktaedrische Anordnung vorliegt. Die Autoxydationsgeschwindigkeit dieser Partikel ist, wie schon erwähnt, außerordentlich klein. Die Geschwindigkeitskonstante für den bimolekularen Vorgang beträgt bei 25° etwa $10^{-3} \text{ Mol}^{-1} \text{ l min}^{-1}$.¹¹ In verdünnter wäßriger Lösung, unter normalem Sauerstoffpartialdruck, entspricht das einer Halbwertszeit von $4 \cdot 10^6 \text{ min}$. In schwach saurer bis neutraler Lösung steigt die Oxydationsgeschwindigkeit proportional der $[\text{OH}^-]$. Das bedeutet, daß FeOH^+ die reaktive Partikel ist, für deren Reaktion mit dem O_2 -Molekül (Abb. 2b) – immer den bimolekularen Mechanismus vorausgesetzt – die Geschwindigkeitskonstante $k = 10^2 \text{ Mol}^{-1} \text{ l min}^{-1}$ erhalten wird.⁹ Ein Ersatz eines Wassermoleküls durch ein Hydroxylion bewirkt also bereits eine Erhöhung der Geschwindigkeitskonstanten um einen Faktor 10^5 .

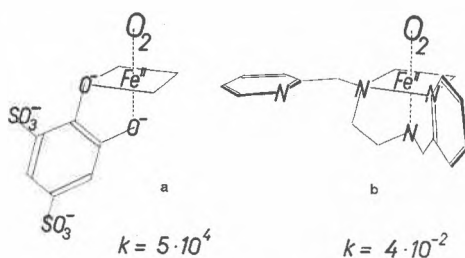
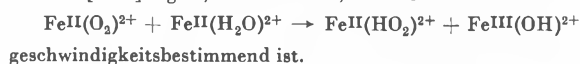


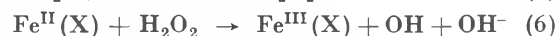
Abb. 3

¹¹ Über den genauen Mechanismus der Autoxydation von Fe^{2+} in stark saurer Lösung, die bereits von verschiedenen andern Autoren untersucht worden ist (siehe z.B. J. WEISS, *Experientia* 9 [1953] 61; A. LAMB und L. W. ELDER, *J. Amer. Chem. Soc.* 53 [1931] 137; R. E. HUFFMANN und N. DAVIDSON, *ibid.* 78 [1956] 4836), herrscht noch keine Klarheit. P. GEORGE (*J. Chem. Soc.* 1954, 4349) kommt auf Grund seiner kinetischen Versuche, aus denen sich eine quadratische Abhängigkeit der Geschwindigkeit von der $[\text{Fe}^{2+}]$ ergibt, zum Resultat, daß die Reaktion



Die Einführung eines zweiten O-Liganden mit negativer Ladung anstelle eines Wassermoleküls hat noch einmal eine starke Erhöhung der Reaktivität gegenüber O_2 zur Folge. Dieses Strukturprinzip ist z. B. in Chelaten mit aromatischen *o*-Dihydroxyverbindungen verwirklicht (Abb. 3 a). Die Geschwindigkeitskonstante beträgt in diesem Falle $5 \cdot 10^4 \text{ Mol}^{-1} \text{ l min}^{-1}$. Das entspricht in verdünnter Lösung unter normalem Sauerstoffpartialdruck einer Halbwertszeit von nur noch 4 sec. Wir haben eine größere Anzahl solcher Komplexbildner in ihrer Wirkung auf die Autoxydationsgeschwindigkeit untersucht¹². Immer dann, wenn in der Koordinationssphäre Hydratwassermoleküle durch negativ geladenen Sauerstoff ersetzt sind, ist die Tendenz für den Elektronenabtausch stark erhöht. Die Autoxydationsgeschwindigkeit bleibt aber niedrig in Komplexen, in denen wir N-Liganden an das Fe^{2+} gebunden finden. Für den Komplexbildner N,N'-Di-(2-picolyl)-äthylendiamin z. B. läßt sich für die Geschwindigkeitskonstante die obere Grenze von $4 \cdot 10^{-2}$ angeben (Abb. 3 b).

In allen diesen Fällen wird nach einem stufenweisen Mechanismus¹³ das O_2 -Molekül schließlich zu H_2O reduziert, siehe Gleichungen (2) bis (7):



Die beiden Säuren-Basen-Gleichgewichte (3) und (5) dürften sich praktisch momentan einstellen. Von den vier eigentlichen Oxydationsstufen sind (4), (6) und (7) sicher rasch im Vergleich zur ersten Stufe, so daß die Reaktion mit O_2 unter Bildung eines O_2^- (2) für den ganzen Vorgang geschwindigkeitsbestimmend ist. Dies kann leicht verifiziert werden. Die Geschwindigkeit der Zunahme an Eisen(III)-Partikeln muß während der ganzen Reaktionsdauer proportional der noch vorhandenen $[\text{Fe}^{2+}]$ bleiben.

Da die Möglichkeit gegeben scheint, daß im Cytochrom a_3 die 6. Koordinationsstelle (siehe Abb. 1) durch eine aus einem Proteinzweig stammende Carboxylatgruppe besetzt ist, interessierten wir uns für die Wirkung einer Carboxyl-Gruppe auf die Autoxydationstendenz von Eisen(II)-Partikeln im allgemeinen. Als Modellverbindungen wählten wir die aus der analytischen Chemie bekannten Komplexone. In diesen Komplexbildnern haben wir eine oder zwei stark basische Aminogruppen, die mit Essigsäureresten substituiert sind. Abstände und Winkel erlauben in diesen Molekülen eine räumliche Anordnung, die für das Metall-Oktaeder

¹² TH. KADEN und S. FALLAB, *Helv. Chim. Acta* 44 (1961) 714.

¹³ In Übereinstimmung mit dem zuerst von F. HABER und J. WEISS, *Proc. Roy. Soc. A* 147 (1934) 332, vorgeschlagenen Mechanismus.

eine gute Paßform darstellt. Als erstes stellten wir jeweils fest, daß die Anfangsgeschwindigkeit der Autoxydation dieser Komplexe proportional der Anfangskonzentration der Eisen(II)-Partikel und proportional der $[O_2]$ ist. Eine polarographische Meßmethode erlaubte uns, mit verschiedenen N_2/O_2 -Gemischen zu arbeiten und so diese wichtige kinetische Beziehung zu testen. Die genaue kinetische Analyse ist im allgemeinen dadurch erschwert, daß in der Lösung nicht nur eine bestimmte komplexe Partikel vorliegt. Meist hat man Gleichgewichte zwischen verschiedenen protonierten Komplexen, die alle gleichzeitig mit Sauerstoff reagieren können und so zur totalen Autoxydationsgeschwindigkeit beitragen. Die gemessene Anfangsgeschwindigkeit v_0 ergibt sich dann als Summe derartiger Beiträge (8).

$$v_0 = k_1[Fe^{II}(X_1)][O_2] + k_2[Fe^{II}(X_2)][O_2] + \dots \quad (8)$$

$$v_0 = k_1'/[H^+] + k_2'/[H^+]^2 + \dots \quad (9)$$

Wenn X_1 einen Ligand darstellt, der unter Abspaltung eines Protons gebunden wird, X_2 einen Ligand, dem zwei Protonen fehlen usw., dann ergibt sich für die Abhängigkeit der Autoxydationsgeschwindigkeit von der $[H^+]$ der Ausdruck (9). Ein exaktes Studium der pH-Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit macht es daher möglich, die einzelnen Geschwindigkeitskonstanten k_1, k_2 usw. zu ermitteln.

Bei der Verfolgung dieser Reaktionen über eine längere Zeit zeigt sich, daß im Gegensatz zu den früheren Versuchen mit Komplexen von aromatischen Hydroxyverbindungen die Proportionalität zwischen Reaktionsgeschwindigkeit und der noch verbleibenden $[Fe^{II}(X)]$ nicht gewahrt bleibt. Nach einer relativ hohen Anfangsgeschwindigkeit scheint die Reaktion nach wenigen Minuten abgebremst, und die Geschwindigkeit wird dann für längere Zeit stationär. Dieses Verhalten läßt sich zwanglos so interpretieren, daß bei diesen Komplexen die Geschwindigkeit der Rückreaktionen ebenfalls ins Gewicht fällt. Sobald nach Reaktionsbeginn sich eine gewisse Konzentration an $Fe^{III}(X)$ aufgebaut hat (2a), beginnt die Rückreaktion (2b), die Reduktion von $Fe^{III}(X)$ durch O_2^- mit der Geschwindigkeit v_- . Die $[O_2^-]$



wird dadurch niedrig und angenähert konstant gehalten, und die Geschwindigkeit v_{2+} der zweiten Oxydationsstufe (4a) wird dementsprechend klein und stationär. Eine einfache und angenäherte Berechnung¹⁴ der uns interessierenden Geschwindigkeitskonstanten k_+ der ersten Oxydationsstufe ist möglich unter Berücksichtigung der Reaktionen (2a), (2b) und (4a). v_{2-} kann in

erster Näherung als vernachlässigbar klein vorausgesetzt werden. Die Geschwindigkeiten der Reaktionen mit H_2O_2 (6) und mit dem OH-Radikal (7) sind sehr rasch, so daß sie die Kinetik nicht störend beeinflussen. Der experimentell gefundene Konzentrationsverlauf deckt sich mit den Resultaten dieser Berechnungen. Überdies wurde gefunden, daß in Versuchen, in denen von vornherein eine gewisse Menge an Eisen(III)-Komplex zugesetzt wird, eine der $[Fe^{III}(X)]$ entsprechende Erniedrigung der Anfangsgeschwindigkeit erfolgt. Der Reaktionsmechanismus scheint daher hinreichend gesichert. Die Resultate solcher Versuche mit verschiedenen Komplexen ergeben eindeutig, daß die Autoxydationstendenz in erster Linie durch die Anzahl und die räumliche Anordnung der Carboxylatgruppen bestimmt ist. Im folgenden wird die Geschwindigkeitskonstante k_+ (in $Mol^{-1} l \min^{-1}$) des bimolekularen Elektronenabtausches (2a) für verschiedene in Lösung existierende komplexe Partikel $Fe^{II}(X)$ diskutiert. In Abb. 4 werden zunächst

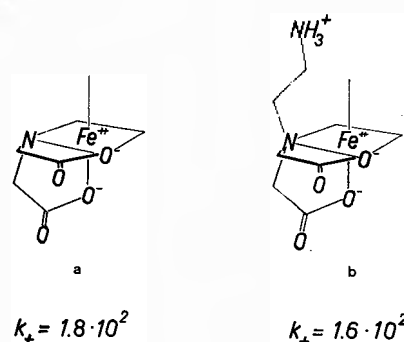


Abb. 4

zwei Eisen(II)-Chelate in ihrer Autoxydationsfreudigkeit verglichen, in denen zwei Carboxylatgruppen an das zentrale Eisen gebunden sind. Wie zu erwarten ist, reagieren die beiden Partikel ungefähr gleich rasch mit Sauerstoff. Der Wert von $1,8 \cdot 10^2$ ist zunächst wiederum mit der Geschwindigkeitskonstanten für das freie, hydratisierte Fe^{2+} (Abb. 2) zu vergleichen. Bezogen auf jene geringe Reaktionsgeschwindigkeit, zeigt das Chelat der Iminodiessigsäure (Abb. 4a) eine um einen Faktor 10^5 erhöhte Reaktivität gegenüber molekularem Sauerstoff. Die zusätzliche Bindung einer Aminogruppe (Abb. 5a) führt nur zu einer insignifikanten Erhöhung von k_+ , die kaum auf einen spezifischen Bindungseffekt zurückgeführt werden kann. Der neu hinzukommende Chelatring dürfte auch einen Einfluß auf die räumliche Stellung der andern Donorgruppen haben und könnte somit in indirekter Weise die Bindungseffekte der Carboxylatgruppen beeinflussen. Interessant ist der Vergleich der Reaktivitäten der Chelate von Äthylendiamin-N,N-diessigsäure und 2-Picolylamin-N,N-diessigsäure (Abb. 5). Der Ersatz der 2-Aminoäthylgruppe durch die 2-Picolylgruppe hat ein Absinken des k_+ -Wertes um etwa einen Faktor 5 zur Folge. Der Unterschied scheint signifikant und könnte auf die spezifische Wirkung des

¹⁴ TH. KADEN und S. FALLAB, *Advances in the Chemistry of Coordination Compounds*, MacMillan, New York 1961, S. 654.

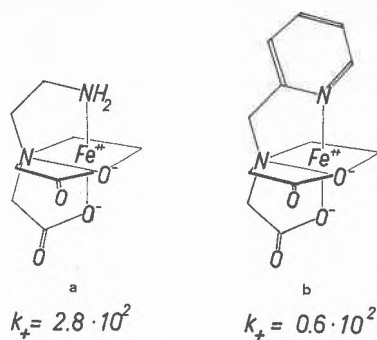


Abb. 5

Pyridinstickstoffs zurückzuführen sein, die demnach derjenigen des negativ geladenen Sauerstoffs als Ligandatome gerade entgegengesetzt wäre. Ein Ersatz des 2-Aminoäthylrestes (Abb. 5a) durch einen Acetatrest führt zu einer signifikanten Erhöhung von k_+ . Das Chelat der Nitrilotriessigsäure (Abb. 6a) reagiert mit Sauerstoff rund 10 mal rascher als das Chelat der Imino-diessigsäure (Abb. 4a). Noch stärker aber wirkt die Einführung einer dritten Carboxylat-Donorgruppe im Chelat der Äthylendiamintetraessigsäure (Abb. 6b)¹⁵. Die Reaktivität dieses Komplexes ist, verglichen mit derjenigen von Eisen-Äthylendiamindiacetat, um einen Faktor von etwa 80 erhöht. Der Unterschied in den Reaktivitäten dieser beiden Komplexe (Abb. 6a und 6b), in denen gleich viele Carboxylatgruppen an das Eisen gebunden sind, dürfte wohl auf die verschiedene räumliche Anordnung der Essigsäurereste zurückzuführen sein. Im Chelat der Äthylendiamintetraessigsäure können alle drei Sauerstoffligandatome in *cis*-Stellung stehen. Im Chelat der Nitrilotriessigsäure hingegen müssen sich notwendigerweise zwei der Sauerstoffligandatome in *trans*-Stellung befinden.

Mit diesen Modellversuchen ist gezeigt, daß relativ geringfügige Änderungen in der innersten Koordinations-

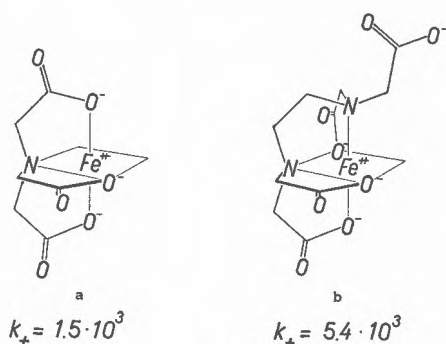


Abb. 6

¹⁵ Fe²⁺ bildet mit Äthylendiamintetraessigsäure in schwach saurer Lösung zunächst einen protonierten Komplex, in dem eine Koordinationsstelle frei bleibt. Auch die bei höherem pH-Wert eintretende Deprotonierung führt nicht zu einer stabilen koordinativen Bindung der vierten Carboxylatgruppe an das zentrale Eisen (G. SCHWARZENBACH, *Helv. Chim. Acta* 33 [1950] 947; A. K. STAVELY und T. RANDALL, *Disc. Faraday Soc.* 26 [1958] 157). Die genaue Untersuchung der pH-Abhängigkeit der Autoxydationsgeschwindigkeit dieses Komplexes ist an anderer Stelle beschrieben worden (siehe Zitat¹⁴).

sphäre des Eisens genügen, um die Geschwindigkeit der Redoxreaktion mit dem Sauerstoffmolekül (2) über einen Bereich von acht Zehnerpotenzen zu variieren. Ein bimolekularer Mechanismus scheint daher für die Cytochromoxydase prinzipiell möglich. Die Versuche machen überdies wahrscheinlich, daß in *trans*-Stellung zum O₂-Molekül (Abb. 1) eine aus dem Protein stammende Carboxylatgruppe an das Eisen gebunden ist und daß diese Ligandengruppe für die relativ hohe Autoxydationsgeschwindigkeit verantwortlich ist.

Auf Grund der kinetischen Resultate allein ist es vorerst für Reaktionen vom Typ (2) nicht möglich, zu entscheiden, ob beim aktivierten Zusammenstoß der Reaktionspartner wirklich direkt der Elektronenabtausch erfolgt. Verschiedene Beobachtungen sprechen dafür, daß zunächst in geringer Konzentration ein instabiles Addukt mit dem noch intakten O₂-Molekül entsteht (10). Alsdann würde in einer zweiten Reaktionsstufe eine Elektronenverschiebung innerhalb des Sauerstoffaddukts und der Zerfall in die Produkte stattfinden (11). Wenn die Einstellung des Gleichgewichts (10) rasch ist im



Vergleich zur Reaktion (11), dann ist die Geschwindigkeit der Autoxydation durch eine monomolekulare Zerfallsreaktion bestimmt, die von der Stabilität des gebildeten Adduktes mit O₂ abhängig ist. Daß ein solcher Mechanismus eher zutrifft als der rein bimolekulare Elektronenabtausch, geht aus der Temperaturabhängigkeit der Oxydationsgeschwindigkeit hervor, die in einigen Fällen untersucht worden ist⁹. Die scheinbare Aktivierungsenergie dieser Reaktionen beträgt etwa 5000 bis 6000 cal/Mol. Auf Grund der Theorie der absoluten Reaktionsgeschwindigkeit ergibt sich daraus, wenn wir einen normalen Frequenzfaktor von etwa 10¹¹ voraussetzen¹⁶, eine Aktivierungsentropie von etwa -30 cal/Grad/Mol. Dieser Wert ist eigentlich unverständlich, da es sich um die Reaktion von Ionen mit einem Neutralkörper ohne Dipolmoment handelt, bei der eine erhebliche Einbuße an Translationsentropie nicht denkbar ist¹⁷. Die Unstimmigkeit weist somit auf die Existenz von reversibel gebildeten O₂-Addukten hin, die indessen bei keiner der bisher untersuchten Reaktionen nachgewiesen werden konnten, da vermutlich die Gleichgewichtskonstanten von (10) zu klein sind.

Für die hohe Stabilität der O₂-Addukte von Fe^{II}-Porphyrinverbindungen, wie Myoglobin und Hämoglobin, konnte bis heute keine befriedigende Erklärung gefunden werden¹⁸. Pferdehämoglobin z. B. zeigt bei 25°

¹⁶ A. A. FROST und R. G. PEARSON, *Kinetics and Mechanism*, New York 1953, S. 92.

¹⁷ J. LEWIS und R. G. WILKINS, *Modern Coordination Chemistry*, New York 1960, S. 100.

¹⁸ Vgl. L. MICHAELIS, *Fed. Proc.* 7 (1948) 509; J. H. WANG, A. N. NAKAHARA und E. B. FLEISCHER, *J. Amer. Chem. Soc.* 80 (1958) 1109.

und pH 6,1 ein Sauerstoffbindungsvermögen, das mit der scheinbaren Gleichgewichtskonstanten von $3 \cdot 10^4$ wiedergegeben werden kann¹⁹. Das ist eine erstaunlich hohe Stabilität, und es ist bisher nicht gelungen, diese Eigenschaft des Hämoglobins mit Modellverbindungen wiederzugeben. Die Stabilität des entsprechenden Komplexes mit CN^- , einem Liganden, der andererseits gegenüber den freien Metallionen ein viel größeres Komplexbildungsvermögen zeigt als O_2 , ist um einen Faktor 10^4 geringer¹⁹. Modellversuche mit dem System Fe^{II} -Porphyrin-CO²⁰ belegen, daß koordinativ gebundene heterozyklische Basen die Stabilität solcher Addukte erhöhen. Im Myoglobin wie im Hämoglobin ist der Imidazolkern eines Histidinrestes koordinativ gebunden (siehe Abb. 1), was demnach die Stabilität der Fe^{II} - O_2 -Bindung erhöhen und gleichzeitig den irreversiblen Elektronenübergang hemmen könnte. Dennoch können solche Bindungseffekte für die hohe Stabilität der O_2 -Komplexe nur zu einem geringen Teil verantwortlich gemacht werden, da, wie leicht im Experiment zu zeigen ist, der Proteinteil entscheidend zur Stabilität beiträgt. Bei einem Gleichgewicht wie (10) muß berücksichtigt werden, daß es sich eigentlich nicht bloß um eine Komplexbildungsreaktion im Sinne einer Addition, sondern um eine Liganden-Austauschreaktion handelt. Die freien Koordinationsstellen sind in wäßriger Lösung immer durch Wassermoleküle besetzt. Wenn nun in der Umgebung des Eisenchelats die Wasserkonzentration sinkt, dann müßte das zu einer Verschiebung des Austauschgleichgewichts führen. Es ist daher sehr wahrscheinlich, daß eine der Funktionen des Proteinteils, des Globins, darin besteht, einen wasserarmen Raum zu schaffen und so die Bildung von Oxyhämoglobin zu begünstigen.

Die Resultate der oben beschriebenen Modellversuche drängen zur Frage, ob eine Deutung der enormen Reaktivitätsunterschiede, die verschiedene Fe^{II} -Chelate gegenüber dem Sauerstoffmolekül zeigen, auf Grund elementarster Strukturmerkmale der reagierenden Partikeln gegeben werden kann. Im folgenden soll, vorerst mehr im Sinne einer Arbeitshypothese als einer feststehenden Theorie, ein solcher Deutungsversuch beschrieben werden. Die Quantenchemie vermag ein detailliertes Bild von der Elektronenstruktur der beiden Reaktionspartner zu geben. Das Fe^{2+} hat auf der äußersten Schale sechs Elektronen. Für die Redoxreaktivität spielen nur diese sechs energetisch labilsten Elektronen eine Rolle. Ihre Aufenthaltswahrscheinlichkeiten, oder in anderer Interpretation ihre räumliche Ladungsverteilung, wird durch fünf entartete $\Psi(3d)$ -Funktionen beschrieben. (In Abb. 7 sind zwei dieser Funktionen in Form von Konturdiagrammen räumlich, perspektivisch dargestellt. Die Konturen umschreiben die Orte hoher Aufenthaltswahrscheinlichkeit.) Innerhalb der fünf $3d$ -Orbi-

tale muß eine bedeutsame Unterscheidung gemacht werden zwischen Orbitalen, die hohe Ladungsdichte zwischen den Koordinatenachsen haben (Abb. 7 a), und solchen, die ein Maximum an Ladungsdichte auf den Achsen aufweisen (Abb. 7 b). Letztere bilden starke σ -Bindungen, und mit den ersteren ist π -Bindung möglich²¹. Im gasförmig gedachten Fe^{2+} ist die Aufenthaltswahrscheinlichkeit der Elektronen für alle fünf Orbitale gleich groß. Im oktaedrischen Komplex hingegen, z. B. im Eisen (II)-hexahydrat, findet eine Aufspaltung in drei energetisch günstigere Orbitale, die man gewöhnlich zusammenfassend mit d_e bezeichnet, und in zwei energetisch weniger günstige Orbitale statt, die man mit d_y bezeichnet.

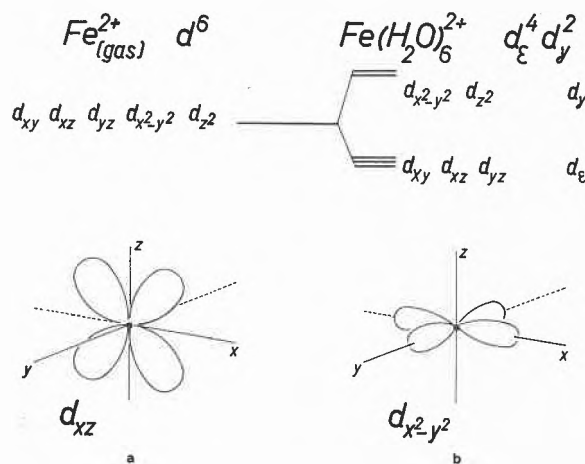


Abb. 7

Die Elektronenstruktur des O_2 -Moleküls kann auf relativ simple Art mit Hilfe der von LENNARD-JONES und MULLIKEN für zwei-atomige Moleküle entwickelten Theorie der Molekülorbitale beschrieben werden²². Nach diesen Vorstellungen besetzen die 16 Elektronen paarweise die zur Verfügung stehenden Molekülorbitale (in Abb. 8 nach steigender Energie geordnet). Für Bindung und Redoxreaktivität spielen zunächst nur die energetisch labilsten, die äußeren Elektronen eine Rolle.

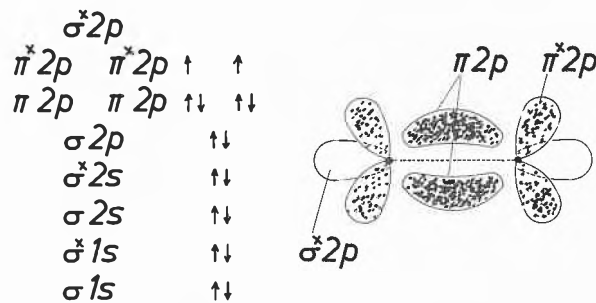


Abb. 8

¹⁹ C. D. CORYELL, *Chemical Specificity in Biological Interactions*, New York 1954, S. 90.

²⁰ A. NAKAHARA und J. H. WANG, *J. Amer. Chem. Soc.* 80 (1958) 6526.

²¹ L. E. ORGEL, *An Introduction to Transition-Metal Chemistry*, Methuen, 1960, S. 36.

²² C. A. COULSON, *Valence*, Oxford University Press, 1961, S. 91.

Die $\sigma 2p$ -Elektronen sitzen relativ dicht auf der Molekülachse zwischen den Atomkernen (in Abb. 8 der Übersichtlichkeit halber nicht eingezeichnet). Es folgen die etwas lockerer gebundenen $\pi 2p$ -Elektronen, die sich ebenfalls zwischen den Atomkernen, aber oberhalb und unterhalb bzw. vor und hinter der Molekülachse befinden und bindenden Charakter haben. Schließlich folgen die π -Antibindungsorbitale, eines in der Tafelenebene und eines senkrecht zur Tafelenebene, die nur halbbesetzt sind (in Abb. 8 schwach punktiert), und das energetisch labilste $\sigma^* 2p$ -Antibindungsorbital, das unbesetzt ist. Das O_2 -Molekül hat also sowohl Donor- wie Akzeptoreigenschaften. Es könnte als σ -Donor in der Vertikalen oder als π -Akzeptor in der Horizontalen, aber auch in der Vertikalen wirken. Aus diesen Elektronenstrukturen ergibt sich ohne weiteres, daß für einen Komplex zwischen Fe^{2+} und O_2 zwei räumlich verschiedene Strukturen in Frage kommen: eine lineare Struktur, in der eine mögliche schwache σ -Bindung durch $d_{\pi p \pi}$ -Überlappung verstärkt ist (Abb. 9b), und eine zweite Struktur, in der das O_2 -Molekül quer zur Vertikalachse steht (Abb. 9a). In dieser Anordnung ist eine σ -Donorbindung und eine π -Akzeptorbindung möglich.

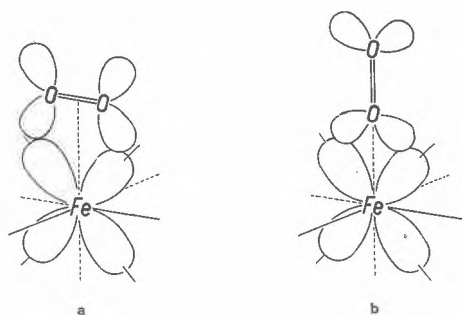


Abb. 9. Mögliche Strukturen von $Fe^{2+} \cdots O_2$
 $d_{\pi p \pi}$ -Bindung

Für den Elektronenabtausch ergibt sich als naheliegendste Annahme, daß bei der Redoxreaktion, bei der das O_2 -Molekül als Elektronenempfänger wirkt, das Elek-

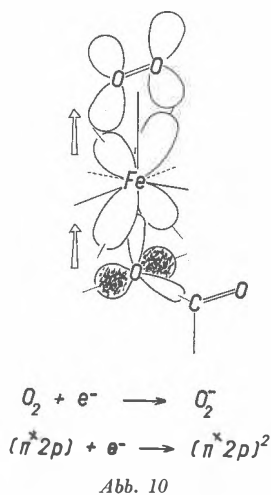


Abb. 10

tron in das niedrigste nicht vollbesetzte Orbital, in das $\pi^* 2p$ -Antibindungsorbital, eintritt. Die Frage lautet jetzt, wie die übrige koordinative Umgebung des Eisens einen solchen Elektronenabzug beeinflussen kann. Im Falle einer Carboxylatgruppe, die in *trans*-Stellung zum O_2 -Molekül koordinativ an das Eisen gebunden ist, haben wir ein völlig freies p -Elektronenpaar, das quer zur Bindungsrichtung steht und somit eine π -Donorwirkung auf ein d_{π} -Orbital des Eisens ausübt (Abb. 10). Die d_{π} -Orbitale werden dadurch deformiert, und es kann so die Überlappung mit den π -Antibindungsorbitalen des Sauerstoffmoleküls verstärkt und der Elektronenübergang erleichtert werden. Die Wirkung des Liganden würde sich demnach durch die π -Elektronenwolke des Koordinationsverbands fortpflanzen.

Eine derartige π -Donorwirkung des Ligandatoms auf das Eisen ist bei koordinativ gebundenem Aminstickstoff nicht möglich (Abb. 11a). Wir haben eine angenä-

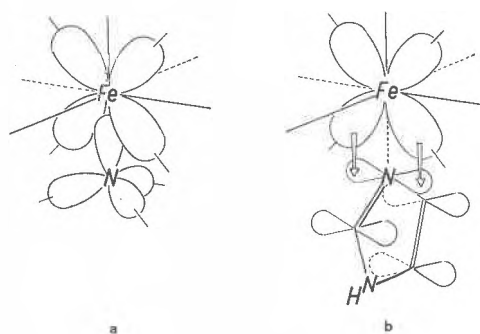


Abb. 11

hert tetraedrische Anordnung der vier Bindungsfunktionen des Stickstoffs, und die koordinative Bindung ist demnach eine reine σ -Bindung. Die unteren drei sp^3 -Hybridorbitale sind durch Bindung an Kohlenstoff oder Wasserstoff vollkommen beansprucht. Aus der räumlichen Verteilung der Ladungsdichte der d_{π} -Orbitale des Eisens ist ohne weiteres ersichtlich, daß diese Bindung keinen direkten Einfluß auf den Elektronenübergang auf das Sauerstoffmolekül haben kann. Ein drittes Bild dieser Art veranschaulicht die mögliche Wirkung eines aromatisch gebundenen Stickstoffs als Ligandatome (Abb. 11b). Ein Elektron des Stickstoffs befindet sich in den stark delokalisierten π -Bindungszuständen des Rings²³. In diesem Falle ist es aber denkbar, daß energetisch günstig gelegene delokalisierte π -Antibindungsorbitale eine π -Akzeptorwirkung auf das Eisen ausüben. Dieser Effekt muß sich hemmend auf den Elektronenübergang auswirken und könnte zugleich der Grund für die stabilisierende Wirkung auf das Addukt mit dem Sauerstoffmolekül sein.

Diese Überlegungen sollen, wie schon erwähnt, vorerst bloß mögliche Wege der Deutung eröffnen, die noch

²³ Siehe Zitat²², S. 256.

einer weiteren Bestätigung sowohl durch experimentelle Befunde als auch durch quantitative Berechnungen bedürfen. Da von keinerlei Voraussetzung über die Anzahl der nichtbindenden Elektronen im Metallion ausgegangen wurde, muß die Hypothese allgemeine Gültigkeit für Metallionen mit unvollständig besetzter *d*-Schale haben.

Innerhalb der 3*d*- und der 4*d*-Übergangsperioden müßten, um nur einige leicht im Experiment überprüfbare Reaktionen zu nennen, die Autoxydationen: $\text{Ti}^{3+} \rightarrow \text{Ti}^{4+}$, $\text{V}^{3+} \rightarrow \text{V}^{4+}$, $\text{Co}^{2+} \rightarrow \text{Co}^{3+}$, $\text{Cu}^+ \rightarrow \text{Cu}^{2+}$, $\text{Mo}^{5+} \rightarrow \text{Mo}^{6+}$ und $\text{Ru}^{3+} \rightarrow \text{Ru}^{4+}$ ähnlichen Gesetzmäßigkeiten unterliegen, wie die $\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$ -Reaktionen.
