

Das IR-Spektrum von (2) enthält alle für Thioacylhydrazine charakteristischen Banden^[3].

Die dreifache Bande bei 2700 bis 2780 cm⁻¹ im IR-Spektrum von (3) führen wir auf eine Gruppierung ^3NHR_2 zurück; Dimethylhydrazin-hydrochlorid zeigt in diesem Bereich ebenfalls eine aufgespaltene Bande. Die starke Bande bei 1460 cm⁻¹ schreiben wir einer vorwiegenden C-N-Doppelbindung zu.

Für die Betainstruktur (3) sprechen die pK_a-Werte der beiden Isomeren, die photometrisch bestimmt wurden. (2): pK_{a1} = 2,8; pK_{a2} = 10,4; (3): pK_{a1} = 3,4; pK_{a2} = 11,7. Der Wert pK_{a2} = 10,4 (2) wurde durch potentiometrische Titration bestätigt.

Wir deuten diese Befunde durch die Annahme der auf S. 381 angegebenen Gleichgewichte.

Der Vergleich der pK_a-Werte für (2) mit denen anderer Thioacylhydrazine^[4] zeigt für pK_{a2} Übereinstimmung (9,2 bis 11,1), während pK_{a1} für (2) kleiner ist als für andere Thioacylhydrazine (4,2 bis 6,2). Da der pK_{a2}-Wert für (3) größer als der für (2) ist, kann (3) kein Thiol sein, da er dann kleiner als oder höchstens ebenso groß sein sollte wie für Verbindungen, in denen die Form (1) durch Einbeziehung der Gruppierung $-\text{N}-\text{N}-\text{C}(=\text{S})-$ in einen mesomeriefähigen Ring in Betracht gezogen werden kann. Für solche Verbindungen bestimmte Sandström^[5] kürzlich pK_a-Werte zwischen 5,01 und 8,19.

Eingegangen am 6. Februar 1967 [Z 456]

[*] Prof. Dr. W. Walter und cand. chem. K.-J. Reubke
Chemisches Staatsinstitut, Institut für Organische Chemie
2 Hamburg 13, Papendamm 6

[1] H. Bredereck, B. Föhlisch u. K. Walz, Liebigs Ann. Chem. 688, 93 (1965).

[2] R. Mayer u. J. Orgis, Z. Chem. 4, 457 (1964).

[3] K. A. Jensen u. P. H. Nielsen, Acta chem. scand. 20, 597 (1966).

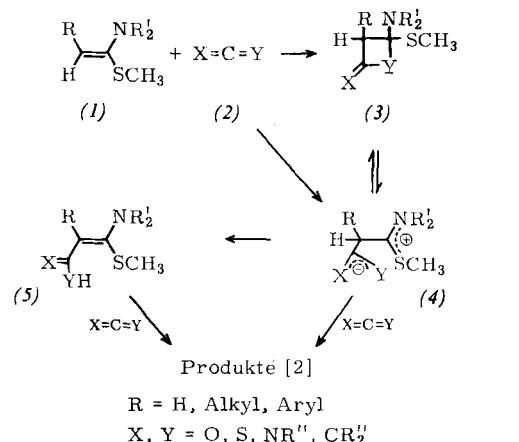
[4] K. A. Jensen, H. R. Baccaro, O. Buchardt, G. E. Olsen, C. Pedersen u. J. Toft, Acta chem. scand. 15, 1109 (1961).

[5] J. Sandström u. J. Wennerbeck, Acta chem. scand. 20, 57 (1966).

Stabile 1,4-Dipole aus Ketenacetalen und Schwefelkohlenstoff und ihre Verwendung zur Synthese von Heterocyclen

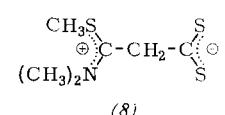
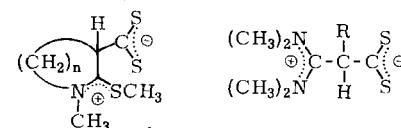
Von R. Gompper und W. Elser[*]

Die Reaktionen einfacher Keten-S,N-acetale (1)^[1] mit Acylierungsmitteln (2) liefern entweder acyierte Keten-S,N-acetale (5) oder, auf dem Weg über (4) oder (5), Heterocyclen^[2] (Pyrimidine u.a.^[2]).

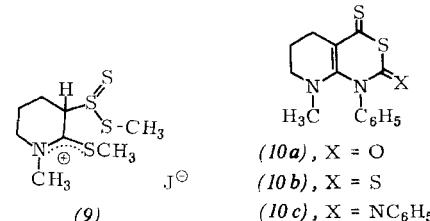


Um zu prüfen, ob die 1,4-Dipole (4) Zwischenprodukte sind und ob sie direkt aus (1) und (2) oder aus den Cycloadditionsprodukten (3) entstehen, haben wir (1) und entsprechende Ketenaminale mit Schwefelkohlenstoff in Acetonitril

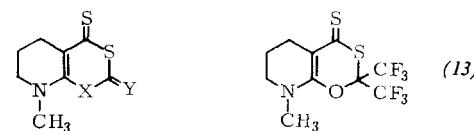
bei -40 °C umgesetzt. Dabei entstehen orangefarbene bis rote kristallisierte Verbindungen (z.T. erhält man sie erst durch Ausfällen mit Äther), die bei -40 bis -20 °C haltbar sind; bei Raumtemperatur zersetzen sie sich langsam. Nach den Elementaranalysen handelt es sich um 1:1-Addukte. Ihre IR-Spektren (Hostaflonöl) sind durch intensive Banden bei 1590–1620 cm⁻¹ charakterisiert, wie man sie auch in den IR-Spektren der Quartärsalze von Thioamiden beobachtet. Wir schließen daraus, daß es sich um die 1,4-Dipole (6), (7) und (8) handelt.



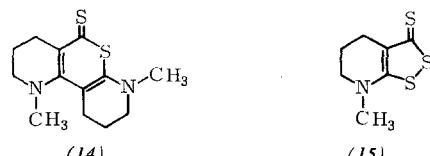
Mit dieser Formulierung stehen die NMR-Spektren (aufgenommen in flüssigem SO₂) in Einklang. Auffallend ist die Temperaturabhängigkeit der NMR-Spektren von (7): Bei 0 bis ~10 °C erscheint das Signal der N-CH₃-Protonen als Singulett; bei -50 °C dagegen beobachtet man im Spektrum von (7a) ein Dublett (Intensitätsverhältnis 1:1), in dem von (7b) ebenfalls ein Dublett, jedoch mit einem Intensitätsverhältnis von 3:1. In den NMR-Spektren von (8) findet sich das N-CH₃-Signal stets als Singulett. Die Verbindungen (6), (7) und (8) lassen sich leicht alkylieren: Das rote (6b) reagiert z.B. mit Methyljodid zum gelben Salz (9), Fp = 143–145 °C.

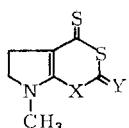


Die 1,4-Dipole (6) geben (4+2)-Cycloadditionen (mit Ausnahme der bei 40 °C vorgenommenen Synthese von (14) bei -20 bis 0 °C in Acetonitril durchgeführt). So reagiert (6b) mit Phenylisocyanat zu (10a), Fp = 197–199 °C, mit Phenylisothiocyanat zu (10b), Fp = 194 °C, mit Diphenylcarbodiimid zu (10c), Fp = 191–193 °C, mit Diphenylketen zu (11), Fp = 210–211 °C, mit Cyan-methoxycarbonyl-thioketen^[3] zu (12), Fp = 223 °C, mit Hexafluoraceton zu (13), Fp = 133 °C, mit 1-Methyl-2-methylthio-1,4,5,6-tetrahydro-pyridin^[1] zu (14), Fp = 182–183 °C und mit Schwefel zu (15), Fp = 143–144 °C. Elementaranalysen, IR- und NMR-Spektren entsprechen den angegebenen Strukturen. Bei der

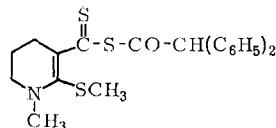


(11) X = O, Y = C(C₆H₅)₂
(12) X = S, Y = C(CN)CO₂CH₃





(16), X = O, Y = C(C₆H₅)₂
(17), X = C(C₆H₅)₂, Y = O



(18)

Umsetzung von (6a) mit Diphenylketen entsteht neben (16), Fp = 202–203 °C, das Isomer (17), Fp = 262–265 °C.

Die Verbindung (11) bildet sich auch beim Stehenlassen der Lösung von (18) (rote Nadeln, Zers. bei 88 °C), erhalten aus (6b) und Diphenylacetylchlorid, in Acetonitril. Damit ist ge-

zeigt, daß die Cycloadditionen an (6), (7) und (8) zweistufig verlaufen könnten; der Synchronprozeß ist jedoch nicht ausgeschlossen.

Eingegangen am 21. Februar 1967 [Z 454]

[*] Prof. Dr. R. Gompper und Dr. W. Elser
Institut für Organische Chemie der Universität
8 München 2, Karlstraße 23

[1] R. Gompper u. W. Elser, Tetrahedron Letters 1964, 1971.
[2] W. Elser, Dissertation, Technische Hochschule Stuttgart, 1965.

[3] Freigesetzt nach dem Verfahren von K. Dickoré u. R. Wegler, Angew. Chem. 78, 1023 (1966); Angew. Chem. internat. Edit. 5, 970 (1966).

VERSAMMLUNGSBERICHTE

Nucleophile enzymatische Reaktionen des Acetyl-CoA

Von H. Eggerer [*]

Da Acetyl-CoA kein Carbanion [**] bildet [1, 2], war es schwierig, den Mechanismus enzymatischer Carboxymethyllierungen von Oxosäuren mit Acetyl-CoA zu erkennen. Für zwei Enzyme konnte ein aldolartiger Mechanismus nachgewiesen werden. Für diesen sind formal drei Schritte erforderlich: 1) Enolisierung des Acetyl-CoA; 2) Addition des Enols an das Carbonyl zum β-Hydroxyacyl-CoA; 3) Hydrolyse dieses Intermediats.

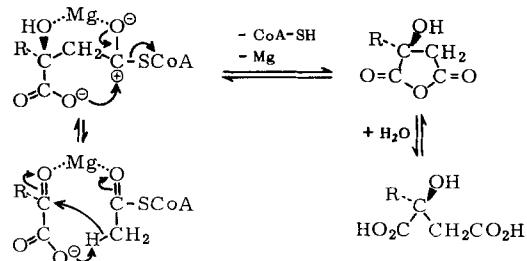
Citrat-Synthase katalysiert die Synthese des Citrats aus Acetyl-CoA und Oxalacetat. Schritt 2) und 3) konnten durch simultane Aldolspaltung und Hydrolyse mit Citryl-CoA, der isolierte Schritt 3) mit (S)-Malyl-CoA aufgezeigt werden. Schritt 1) lieferte den Schlüssel zum Verständnis der enzymatischen Katalyse: Schritt 1) erfordert das Carboxylat-Anion des Reaktionspartners Oxalacetat als basischen Cofaktor [2]. Der Nachweis gelang mit (S)-Malat, das statt Oxalacetat vom Enzym gebunden wird, sich aber nicht an das Enol addieren kann. (S)-Malat induziert daher die Enol-Bildung und bewirkt den Isotopenaustausch zwischen dem Methyl-Wasserstoff der Acetylgruppe und tritiumhaltigem Wasser [3]. In tritiumhaltigem Wasser in Abwesenheit von (S)-Malat synthetisiertes Citrat ist tritiumfrei; Acetyl-CoA bleibt nach teilweiser Reaktion mit Oxalacetat unmarkiert: Im langsamsten Schritt der Synthese entstandenes enolisches Acetyl-CoA reagiert sofort mit der Ketocarbonylgruppe zu (S)-Citryl-CoA. Da dessen „chemische“ Hydrolyse in neutraler wäßriger Lösung über 2-Hydroxy-2-carboxymethyl-succinanhydrid abläuft [4, 5], dürfte auch seine enzymatische Hydrolyse mit diesem Schritt eingeleitet werden.

Malat-Synthase katalysiert die Synthese des Malats aus Acetyl-CoA und Glyoxylat und benötigt dafür Mg²⁺-Ionen als Cofaktoren [6]. Das Enzym enolisiert Acetyl-CoA (Schritt 1), und zwar abhängig von den Mg²⁺-Ionen [7], deren

Wirkung als Säurekatalyse aufgefaßt wird: Die Thioester-Carbonylgruppe wird bei Bindung an die Lewis-Säure polarisiert, der Methyl-Wasserstoff wird acid.

Da die Enolisierung langsam erfolgt, schien es wahrscheinlich, daß mit jedem Enzym je ein Teilmechanismus – basische und saure Katalyse – nachgewiesen wurde, die in beiden Enzymen kooperativ arbeiten. Das chemische Modell dafür ist der bifunktionelle Katalysator von Swain und Brown [8]. Übereinstimmend damit induzieren α-Ketosäuren die Enolisierung des Acetyl-CoA mit Malat-Synthase, und zwar um so wirksamer, je kurzkettiger und damit glyoxylat-ähnlicher sie sind. Pyruvat hemmt die Synthese des Malats kompetitiv ($K_i = 10^{-3}$ M) und hat messbare Affinität zum Enzym ($K_M = 10^{-3}$ M). Geschwindigkeit der Enolisierung im „bifunktionellen enzymatischen System“ und Synthesegeschwindigkeit des Malats sind praktisch gleich. Carboxylat-Anion und Lewis-Säure arbeiten kooperativ: Die enzymatische Enolisierung hört auf, wenn das Mg²⁺-Ion oder wenn das Pyruvat entfernt wird. Da enolisches Acetyl-CoA im langsamsten Schritt der Synthese entsteht (Nachweis wie bei Citrat-Synthase angegeben), reagiert es sofort mit der Carbonylgruppe des Glyoxylats zu (S)-Malyl-CoA. Als Substrat eingesetztes (S)-Malyl-CoA wird von Malat-Synthase hydrolysiert (Schritt 3).

Der folgende Reaktionsverlauf stimmt mit den experimentellen Befunden überein:



Citrat-Synthase; R = CH₂CO₂H

Malat-Synthase; R = H

Die Reaktanten werden vom Enzym so gebunden, daß sie in zwangsläufiger Reaktion intramolekular in die Produkte umgewandelt werden.

In den verwandten Enzymkatalysen und bei Citrat-Synthase kann das Mg²⁺-Ion von einer konstitutiv im Protein enthaltenen Lewis-Säure ersetzt, und der Rest R der α-Ketosäure sterisch entgegengesetzt angeordnet sein.

[Colloquium im Chemischen Institut der Universität Marburg, am 18. November 1966] [VB 46]

[8] C. G. Swain u. F. J. Brown, J. Amer. chem. Soc. 74, 2538 (1952).

[*] Dr. H. Eggerer
Institut für Biochemie der Universität München
8 München 2, Karlstraße 23

[**] Im Text wird zwischen Acetyl-CoA-Carbanion und -Enol nicht unterschieden.

[1] A. Markus u. B. Vennesland, J. biol. Chemistry 233, 726 (1958).

[2] J. Bové, O. R. Martin, L. L. Ingraham u. P. K. Stumpf, J. biol. Chemistry 234, 999 (1958).

[3] H. Eggerer, Biochem. Z. 343, 111 (1965).

[4] W. Buckel u. H. Eggerer, Herbsttagung d. Ges. f. physiol. Chemie, Marburg 1966. Referate, S. 18.

[5] H. Eggerer, Liebigs Ann. Chem. 666, 192 (1963).

[6] G. H. Dixon, H. L. Kornberg u. P. Lund, Biochim. biophysica Acta 41, 217 (1960).

[7] H. Eggerer u. A. Klette, Europ. J. Biochem., im Druck.