

Welches Oxidationsmittel ist wirklich verantwortlich für Oxygenierungen an P450-Modellsystemen? – Eine kinetische Betrachtung**

Alicja Franke, Christoph Fertinger und Rudi van Eldik*

Die reaktiven Intermediate bei Porphyrineisen(III)-katalysierten Oxygenierungen organischer Substrate wurden in den letzten zwanzig Jahren intensiv experimentell und theoretisch erforscht. Untersuchungen zur kompetitiven Olefinepoxidierung^[1] und zur ortsspezifischen Mutagenese^[2] lassen auf die Beteiligung mehrerer Oxidationsmittel schließen. Dagegen postulieren theoretische Studien, dass ein hochvalentes Porphyrineisen(IV)-Kationradikal $[(\text{Por}^+ \cdot) \text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}]$, CpdI die einzige aktive Spezies bei katalysierten Oxygenierungen ist.^[3] Dieser Widerspruch wird besonders am Mechanismus der Sulfoxidierung von Thioethern deutlich: Die jüngsten experimentellen Befunde von Cryle und De Voss stützen die Annahme, dass die Hydroperoxoiesenspezies (Cpd0) bei der Sulfoxidierung als starkes Oxidationsmittel fungiert,^[4] wogegen theoretische Studien von Shaik et al. diese Möglichkeit ausschließen und darauf hinweisen, dass Cpd0 deutlich unreaktiver als CpdI ist.^[5] Darüber hinaus zeigen die experimentellen Arbeiten an Nicht-Häm-Systemen von Nam et al., dass Cpd0 ein sehr schwaches Oxidationsmittel ist.^[6]

Vor kurzem berichteten wir über die spektroskopische und kinetische Untersuchung der Bildung von $[(\text{Por}^+ \cdot) \text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}]$ an einem neuen Enzymmodell für P450 in Acetonitril.^[7] Mithilfe direkter kinetischer Messungen bei tiefen Temperaturen stellten wir einen kompletten Katalyzyklus ähnlich dem von P450 auf, bei dem *cis*-Stilben vom Cpd-I-Analogon oxidiert wird, was zu einer nahezu kompletten Regeneration des Katalysators führt.^[7] Jedoch kann alleine die Tatsache, dass CpdI als starkes Oxidationsmittel gegenüber verschiedenen Kohlenwasserstoffen wirkt, eine Beteiligung anderer oxidierender Intermediate nicht ausschließen. Das Addukt aus Porphyrineisen(III) und Oxidationsmittel wird in der Literatur in diesem Zusammenhang sicher am häufigsten diskutiert.^[1,2] Deshalb besteht großes Interesse an der Reaktivität von Cpd0 gegenüber organischen Substraten bei direkten Oxidationsreaktionen. Neueste Studien von Nam et al.^[8] zeigten, dass die Zugabe von *m*-Chlorperbenzoësäure (*m*-CPBA) in vierfachem Überschuss zu $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{Cl})]$ (*TMP* = *meso*-Tetramesitylporphyrin) in einer Mischung von

$\text{CH}_3\text{CN}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ bei -40°C zur Bildung von $[(\text{TMP}^+ \cdot) \text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}]$ führt, das sich durch ein hohes Oxidationsvermögen gegenüber organischen Substraten auszeichnet. Obwohl man $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(m\text{-CPBA})]$ als erstes Intermediat im Katalyzyklus von $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{Cl})]$ ansah, wurde in dieser Veröffentlichung kein spektroskopischer Nachweis für seine Bildung und seine Reaktivität erbracht. Wir berichten hier über die Reaktivität des $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(m\text{-CPBA})]$ -Intermediats (**1**) sowohl bei der direkten Oxidation als auch unter Katalysebedingungen. Durch die Wahl geeigneter Reaktionsbedingungen waren wir in der Lage, die Bildung von **1** spektroskopisch zu verfolgen, da es bei niedrigen Temperaturen ausreichend stabil ist, um seine Reaktivität bei direkter Epoxidierung und Sulfoxidation zu untersuchen.

Die Zugabe eines kleinen Überschusses an *m*-CPBA (1:8:1) zu einer Lösung von $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{OH})]$ (das chlorid-substituierte Derivat $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{Cl})]$) ist weniger geeignet^[9] in Acetonitril bei -15°C führt zu spektralen Änderungen, die auf eine zweistufige Reaktion hindeuten: Der erste Reaktionsschritt ist durch einen kleinen, aber signifikanten Anstieg der Soret-Bandenabsorbanz charakterisiert, der mit einer Verschiebung um 1–2 nm zu größeren Wellenlängen und einer deutlichen Abnahme der Absorbanz im Bereich zwischen 440 und 540 nm einhergeht (Abbildung 1). Darauf folgt eine langsamere Reaktion, die sich in einer großen Abnahme der Absorbanz an der Soret-Bande und einem Anstieg zwischen 550 und 700 nm niederschlägt. Das Produkt der zweiten Reaktion zeigt das charakteristische UV/Vis-Spektrum eines

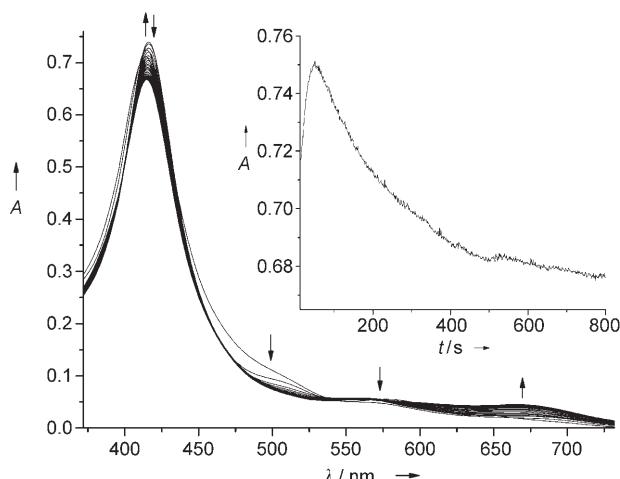


Abbildung 1. Spektrale Änderung nach der Zugabe von $1.35 \times 10^{-5} \text{ M}$ *m*-CPBA zu $7.4 \times 10^{-6} \text{ M}$ $[\text{Fe}(\text{TMP})(\text{OH})]$ in Acetonitril bei -15°C . Einsetzung: kinetische Reaktionsverfolgung an der Soret-Bande. Auf die schnelle Bildung von **1** folgt die langsame heterolytische Spaltung der O-O-Bindung unter Bildung von **2**.

[*] Dr. A. Franke, C. Fertinger, Prof. R. van Eldik
Lehrstuhl für Anorganische und Analytische Chemie
Department Chemie und Pharmazie
Universität Erlangen-Nürnberg
Egerlandstraße 1, 91058 Erlangen (Deutschland)
Fax: (+49) 9131-852-7387
E-Mail: vaneldik@chemie.uni-erlangen.de

[**] Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Unterstützung über das SFB-Projekt 583 „Redoxaktive Metallkomplexe“.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.200800907> zu finden.

hochvalenten Oxoporphyrineisen(IV)- π -Kationradikals $[(\text{TMP}^+)^{\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}}]$ (**2**; Abbildung 1).^[10]

Das Spektrum des ersten Intermediats^[10] und dessen einfache Umwandlung zu $[(\text{TMP}^+)^{\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}}]$ unter den gewählten Reaktionsbedingungen bestätigen die Konstitution dieser Spezies als $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(m\text{-CPBA})]$. Die Zugabe von Oxidationsmittel im Unterschuss zu einer Lösung der Porphyrineisen(III)-Spezies (0.6:1 bezogen auf $c([\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{OH})])$) führt zur sehr langsamen Bildung von **1**, das in Acetonitril bei -15°C mindestens 500 s lang stabil bleibt (Abbildung 2).

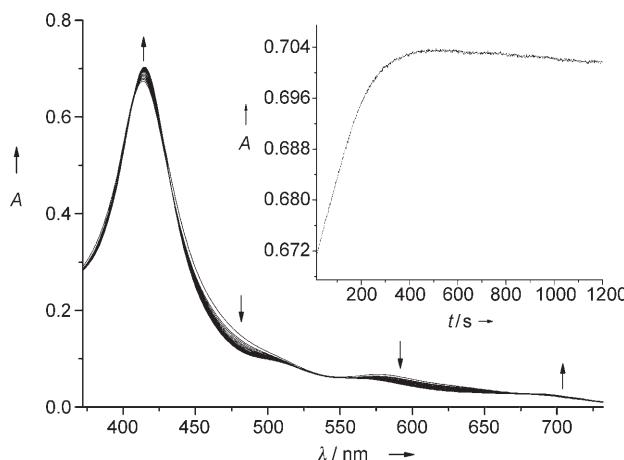


Abbildung 2. Spektrale Änderungen bei der Bildung von **1** in Acetonitril bei -15°C . Experimentelle Bedingungen: $c([\text{Fe}(\text{TMP})(\text{OH})]) = 6.5 \times 10^{-6} \text{ M}$, $c(m\text{-CPBA}) = 3.8 \times 10^{-6} \text{ M}$. Einschub: Reaktionsverfolgung an der Soret-Bande.

Diese Beobachtungen stimmen mit früheren Studien von Groves und Watanabe überein.^[10] Diese konnten zeigen, dass der Abbau des Acylperoxoporphyrineisen(III)-Komplexes und damit die Bildung des Oxoporphyrineisen(IV)-Komplexes signifikant durch Säure beschleunigt wird (Säurekatalyse erleichtert und beschleunigt die heterolytische Spaltung der O-O-Bindung). Im untersuchten Fall führt schon ein sehr kleiner Überschuss von *m*-CPBA (1:1.2) zur irreversiblen Umwandlung von **1** in **2**. Dagegen sollte bei einem Unterschuss von *m*-CPBA die heterolytische Spaltung der O-O-Bindung (und damit die Bildung von $[(\text{TMP}^+)^{\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}}]$) nicht säurekatalysiert sein und in einer signifikanten Stabilisierung von **1** resultieren. Analog haben Untersuchungen zur ortspezifischen Mutagenese gezeigt, dass Enzyme, bei denen die Weitergabe von Protonen durch Veränderungen des Aminosäurerests am aktiven Zentrum unterbrochen ist, nicht in der Lage sind, Cpd0 in CpdI umzuwandeln.^[2b,c] Die Wahl geeigneter Reaktionsbedingungen (aprotisches Lösungsmittel, Temperatur, $c([\text{Fe}(\text{TMP})(\text{OH})])/c(m\text{-CPBA})$ -Verhältnis) ermöglichte es uns, beide Intermediate **1** und **2**, die im Katalyzyklus von $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{OH})]$ auftreten, zu stabilisieren und mit ausgewählten organischen Substraten wie *cis*-Stilben und Dimethylsulfid (DMS) auf ihre Reaktivität zu untersuchen.

Bei den direkten Oxidationsreaktionen wurden die Substrate in eine Acetonitrillösung von **1** oder **2** eingespritzt;

anschließend wurden mithilfe einer Quarzglassonde, die mit einem J&M-TIDAS-Rapid-Scan-Spektrophotometer verbunden war, die spektralen Änderungen verfolgt. Die Lösung von **1** wurde mit einem Unterschuss von *m*-CPBA hergestellt, und ihre Stabilität wurde vor dem Einspritzen des Substrats kontinuierlich UV/Vis-spektroskopisch überwacht. Die Zugabe eines Überschusses an *cis*-Stilben zur Acetonitrillösung von **1** bei -15°C (Abbildung S1 a in den Hintergrundinformationen) führt zu einer sehr langsamen Reaktion, die auch nach 1200 s noch nicht beendet ist. Die spektralen Änderungen, die mit dieser Reaktion einhergehen, bestehen aus einer langsamen Abnahme der Soret-Bande bei gleichzeitiger Verschiebung zu kleineren Wellenlängen und dem Auftreten einer neuen Bande bei 550 nm. Das sichtbare Spektrum des Produkts unterscheidet sich von demjenigen von $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{OH})]$ und lässt auf die Bildung von $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{CH}_3\text{CN})_2]$ (**3**) als Endprodukt schließen.^[11] Die Geschwindigkeitskonstante erster Ordnung für diese Reaktion ist mit $k_{\text{obs}}^{\text{Cpd0/Stilben}} = 9.4 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ bei -15°C und $1.68 \times 10^{-3} \text{ M}$ *cis*-Stilben sehr klein. Erwähnenswert ist, dass sich die Geschwindigkeit der spontanen Zersetzung von **1** zu **3** ohne Zugabe eines Substrats mit $6.2 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ im gleichen Größenordnungsbereich bewegt. Dagegen führt die Zugabe der gleichen Menge *cis*-Stilben zu einer Lösung von **2** unter vergleichbaren Bedingungen (Abbildung S1 b in den Hintergrundinformationen) zu einer viel schnelleren Reaktion mit $k_{\text{obs}}^{\text{Cpd1/Stilben}} = 1.1 \times 10^{-1} \text{ s}^{-1}$ bei -15°C . Die spektralen Änderungen dieser Reaktion deuten auf eine Reduktion von **2** zu einem $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})]$ -Derivat hin (Anstieg der Absorbanz an der Soret-Bande und Abfall zwischen 550 und 750 nm), dessen Spektrum im sichtbaren Bereich mit dem von **3** übereinstimmt.

Wird Dimethylsulfid^[12] zu einer Lösung von **1** oder **2** gegeben, ist es möglich, die Sulfoxidation von DMS über die Bildung von **3** zu beobachten. Bei beiden oxidierenden Spezies verläuft sie viel schneller als die entsprechende Oxidation von *cis*-Stilben. Für die Oxygenierung von **1** bzw. **2** ergibt sich $k_{\text{obs}}^{\text{Cpd0/DMS}} = 3.5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ bei -15°C und $c(\text{DMS}) = 1.7 \times 10^{-4} \text{ M}$ bzw. $k_{\text{obs}}^{\text{Cpd1/DMS}} = 0.27 \text{ s}^{-1}$ bei -35°C und $c(\text{DMS}) = 1.7 \times 10^{-5} \text{ M}$ (Abbildung S2 a bzw. S2 b in den Hintergrundinformationen).

Die Oxygenierung von *cis*-Stilben und DMS durch **1** wurde unter Bedingungen pseudo-erster Ordnung und bei verschiedenen Substratüberschüssen untersucht. Bei der Zugabe höherer Konzentrationen von *cis*-Stilben oder DMS zur Lösung aus **1** in Acetonitril wird die Zersetzungsreaktion von **1** deutlich beschleunigt (siehe Abbildung 3 als Beispiel für die Oxygenierung von *cis*-Silben).

Aus der Auftragung der Abhängigkeit von $k_{\text{obs}}^{\text{Cpd0/Stilben}}$ von $c(\text{cis-Stilben})$ resultiert eine Gerade mit signifikantem Achsenabschnitt (Abbildung S3 a in den Hintergrundinformationen), und es ergibt sich die Geschwindigkeitskonstante zweiter Ordnung zu $k^{\text{Cpd0/Stilben}} = (0.142 \pm 0.006) \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ bei -15°C . Das Auftreten eines Achsenabschnitts von $(5.4 \pm 0.8) \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ deutet auf die parallele spontane Zersetzung von **1** bei den gewählten Untersuchungsbedingungen hin (Geschwindigkeitskonstante $6.2 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$). Der auf gleiche Weise bestimmte Wert für die Oxygenierung von DMS durch **1** (Abbildung S3 b in den Hintergrundinformationen) ist mit

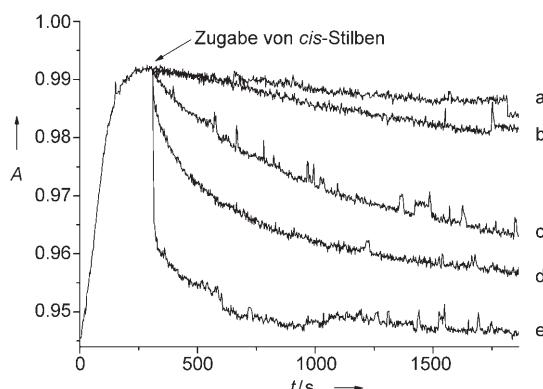
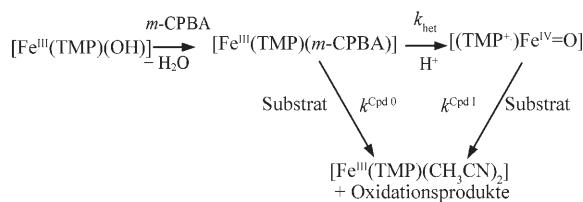


Abbildung 3. Zersetzung von **1** nach Zugabe von *cis*-Stilben in unterschiedlichen Konzentrationen: a) spontane Zersetzung; b) 1.35×10^{-3} , c) 6.76×10^{-3} , d) 1.35×10^{-2} , e) 2.71×10^{-2} M *cis*-Stilben. Experimentelle Bedingungen: $c([\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{OH})]) = 9.3 \times 10^{-6}$ M, $c(m\text{-CPBA}) = 5.4 \times 10^{-6}$ M in Acetonitril bei -15°C . Kinetische Reaktionsverfolgung an der Soret-Bande.

$k^{\text{Cpd0/DMS}} = (9.7 \pm 0.1) \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ bei -15°C 70-mal höher als der von *cis*-Stilben.

Für einen Vergleich der Reaktivitäten von **1** und **2** wurde auch die Reaktion von **2** bei verschiedenen *cis*-Stilben- und DMS-Konzentrationen untersucht. Trägt man die erhaltenen Werte für $k_{\text{obs}}^{\text{CpdI/Stilben}}$ gegen $c(\text{i}\text{cis}\text{-Stilben})$ auf, resultiert daraus eine Gerade ohne nennenswerten Achsenabschnitt (Abbildung S4 in den Hintergrundinformationen). Die Geschwindigkeitskonstante zweiter Ordnung ergibt sich zu $k^{\text{CpdI/Stilben}} = (66 \pm 2) \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ bei -15°C , was etwa dem 470-Fachen des Werts für **1** ($k^{\text{Cpd0/Stilben}}$) entspricht. Die ermittelte Geschwindigkeitskonstante zweiter Ordnung für die Sulfoxidation von DMS mit **2** ist mit $k^{\text{CpdI/DMS}} = (1.7 \pm 0.1) \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ bei -35°C sehr hoch (Abbildung S5 in den Hintergrundinformationen). Hierbei ist zu erwähnen, dass die Reaktivität von **1** oder **2** sowie die Oxygenierungsgeschwindigkeit stark vom jeweiligen Substrat abhängen. Direkte Messungen der Geschwindigkeitskonstanten zweiter Ordnung für beide am Katalyzyzyklus von $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{OH})]$ beteiligten Intermediate ergaben, dass bei der direkten Epoxidierung von *cis*-Stilben oder der Sulfoxidation von DMS **1** nicht mit **2** konkurrieren kann. Etwas anders liegt der Fall bei Untersuchungen unter Katalysebedingungen, wo sich das Substrat schon von Beginn an im Reaktionsmedium befindet, denn hier spielt nicht nur das relative Verhältnis $k^{\text{CpdI}}/k^{\text{Cpd0}}$ eine entscheidende Rolle im Wettbewerb zwischen Cpd0 und CpdI um die Substratoxidation – wie in Schema 1 dargestellt,



Schema 1. Zwei konkurrierende Reaktionswege, die das aus $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{OH})]$ und *m*-CPBA gebildete Acylperoxoporphyrineisen(III) in Gegenwart eines Substrats einschlagen kann.

kann das aus $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{OH})]$ und *m*-CPBA gebildete **1** in Gegenwart des Substrats auf zwei verschiedenen Wegen reagieren, nämlich entweder Sauerstoff zum *cis*-Stilben übertragen (k^{Cpd0}) oder die O-O-Bindung heterolytisch spalten und das deutlich reaktivere Intermediat **2** bilden (k_{het}), das anschließend seinerseits wieder mit dem Substrat reagiert (k^{CpdI}).

Direkten Messungen zufolge ist $k^{\text{CpdI}} \gg k^{\text{Cpd0}}$; allerdings ist die entscheidende Frage, wie schnell die heterolytische Spaltung der O-O-Bindung verglichen mit dem Sauerstofftransfer von **1** zum Substrat ist. Folglich muss das Verhältnis $k^{\text{Cpd0}}/k_{\text{het}}$ in die Betrachtungen miteinbezogen werden. Es ist bekannt, dass der heterolytische Bruch der O-O-Bindung von **1** säurekatalysiert ist.^[10] Bei einem kleinen Überschuss *m*-CPBA (1:1.8) und in Abwesenheit von Substraten wandelt sich **1** in Acetonitril bei -15°C binnen 1000 s mit $k_{\text{obs}}^{\text{het}} = 5.0 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ in **2** um (Abbildung 1, Einschub). Welches Verhalten wird nun in Gegenwart eines Substrats erwartet? Ein relativ hoher Überschuss *cis*-Stilben (1.7×10^{-3} M, 1:161 bezogen auf $c([\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{OH})])$; siehe Abbildung S6a in den Hintergrundinformationen) stört die Bildung von **1** nicht, das sich etwa in gleichem Maß in der Lösung anreichert wie bei der Reaktion ohne Substrat. An die Bildung von **1** schließt sich eine viel langsamere Reaktion an; die damit einhergehenden spektralen Änderungen liefern keinen Hinweis auf das Entstehen von **2**, sondern sprechen für die Bildung von **3**. Auf den ersten Blick könnte man daraus schließen, dass **1** gebildet wird und anschließend mit *cis*-Stilben zu **3** als Endprodukt abreagiert (also **1** schneller mit dem Substrat reagiert, als es eine heterolytische O-O-Bindungsspaltung eingeht). Bei näherer Betrachtung des $k_{\text{obs}}^{\text{het}}$ -Wertes wird jedoch deutlich, dass es sich hierbei nicht um die Reaktion von **1** mit *cis*-Stilben handeln kann, da sich selbige bei den direkten Messungen als deutlich langsamer erwiesen hat. Konkret sollte bei $c(\text{i}\text{cis}\text{-Stilben}) = 1.7 \times 10^{-3}$ M der Wert für $k_{\text{obs}}^{\text{Cpd0}}$ bei etwa $7.8 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ liegen, was etwa einem Fünftel des gemessenen Wertes für die zweite Reaktion in Gegenwart von *cis*-Stilben entspricht.

Um diese Annahme zu untermauern, wurde die Reaktion von $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{OH})]$ mit *m*-CPBA bei gleichem Überschuss an *cis*-Stilben mit einem Unterschuss des Oxidationsmittels durchgeführt (um die Bildung von **2** zu verhindern). Wie erwartet folgt auf die Bildung von **1** eine zweite Reaktion, die unter diesen Bedingungen deutlich langsamer wird (Abbildung S6b in den Hintergrundinformationen) und eine Geschwindigkeitskonstante im Bereich jener der Reaktion von **1** mit *cis*-Stilben aufweist. Aus dieser Beobachtung kann gefolgert werden, dass schon bei einem sehr kleinen Überschuss des Oxidationsmittels (im untersuchten System) ist das Oxidationsmittel gleichzeitig die Protonenquelle) das durch die Reaktion von $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{OH})]$ mit *m*-CPBA gebildete **1** nicht für die Oxidation von *cis*-Stilben verantwortlich sein kann, da die heterolytische Spaltung der O-O-Bindung deutlich schneller zu sein scheint als der Sauerstofftransfer von **1** zum Substrat.

Die Tatsache, dass die Bildung von **2** in Gegenwart eines großen *cis*-Stilben-Überschusses nicht beobachtbar ist, kann der sehr schnellen Reaktion von **2** mit dem Substrat zugeschrieben werden. Bei einem kleinen Überschuss des

Oxidationsmittels bedeutet dies, dass nicht die Oxygenierung des Substrats durch **2**, sondern das Entstehen von **2** durch die heterolytische Spaltung der O-O-Bindung der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist (Schema 1). Tatsächlich deckt sich die beobachtete Konstante für die Folgereaktion der Bildung von **1** bei kleinem *m*-CPBA- und großem *cis*-Stilben-Überschuss ($k_{\text{obs}}' = 4.3 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$) gut mit derjenigen, die bei Abwesenheit des Substrats unter ansonsten gleichen Bedingungen für die Spaltung der O-O-Bindung ermittelt wurde ($k_{\text{obs}}^{\text{het}} = 5.0 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$). Obwohl die heterolytische O-O-Bindungsspaltung unter diesen Bedingungen der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist, verläuft sie bemerkenswerterweise immer noch schneller als die Sauerstoffübertragung von **1** zu *cis*-Stilben. Dementsprechend ist unter den untersuchten Reaktionsbedingungen **2** und nicht **1** die aktive Spezies, die für die Oxygenierung von *cis*-Stilben verantwortlich ist.

Einen überzeugenden Beleg für diese Annahme liefert ein Experiment, bei dem das Substrat und *m*-CPBA in kleinem Überschuss eingesetzt werden. Unter diesen Bedingungen wird erwartet, dass die Reaktion von **2** mit *cis*-Stilben wegen der geringen Konzentration von *cis*-Stilben nicht sonderlich schnell ist, also die heterolytische O-O-Bindungsspaltung in **1** nicht der geschwindigkeitsbestimmende Schritt in Schema 1 ist. Tatsächlich sind bei Zugabe eines kleinen Überschusses des Oxidationsmittels zu einer Lösung von $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{OH})]$, die eine kleine Menge des Substrats enthält, drei aufeinander folgende Reaktionen beobachtbar: zuerst die Bildung von **1**, anschließend der heterolytische Bindungsbruch zu **2**, das schließlich mit *cis*-Stilben **3** als Endprodukt bildet (Abbildung S6c in den Hintergrundinformationen). Dieses Experiment macht deutlich, dass auch bei sehr kleinen Oxidationsmittelüberschüssen die heterolytische Spaltung der O-O-Bindung des ersten Intermediats erheblich schneller verläuft als der Sauerstofftransfer zum Substrat.

Auf der Grundlage der k_{obs} -Werte der einzelnen Reaktionsschritte kann berechnet werden, dass nur bei $c(\text{cis-Stilben}) = 3.1 \times 10^{-2} \text{ M}$ (was etwa einem 5000-fachen Überschuss bezogen auf den Porphyrinkomplex entspricht) die Oxygenierung von *cis*-Stilben durch **1** mit dem heterolytischen Bindungsbruch konkurrieren kann. Unter den gewählten Bedingungen kann **2** nicht mehr für die Oxygenierung von *cis*-Stilben verantwortlich sein, sofern die Konzentration des Oxidationsmittels bei kleinen Überschüssen gehalten wird und das Substrat in Konzentrationen höher als $3.1 \times 10^{-2} \text{ M}$ vorliegt. In diesem Fall ist nämlich die Bildung von **2** viel langsamer als der Sauerstofftransfer von **1** zum Substrat. Die experimentelle Bestätigung für diese Annahme wird in Abbildung S7 in den Hintergrundinformationen dargestellt. Die Zugabe von $5 \times 10^{-2} \text{ M}$ *cis*-Stilben zu einer aus $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{OH})]$ und einem kleinen Überschuss *m*-CPBA hergestellten Lösung von **1** (das Substrat wurde vor der Umwandlung von **1** zu **2** eingespritzt) führt zu einer sehr schnellen Reaktion mit **3** als Endprodukt. Diese Reaktion scheint viel schneller zu sein, als mit **2** als Oxidationsmittel erwartet. Es gilt allerdings zu beachten, dass der Sauerstofftransfer von **2** zu *cis*-Stilben zwar viel schneller als die Oxygenierung von **1** verläuft, er aber zunächst die Bildung von **2** erfordert, was unter diesen Bedingungen der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist. Mit anderen Worten kann die

beobachtete Reaktion nicht schneller sein als der heterolytische Bruch der O-O-Bindung bei der gewählten *m*-CPBA-Konzentration. All diese Befunde deuten darauf hin, dass **1** unter extremen Bedingungen (wie einem Überschuss an *cis*-Stilben von mehreren Tausend Äquivalenten und einem sehr kleinen Überschuss *m*-CPBA) die Möglichkeit hat, als Oxidationsmittel gegenüber *cis*-Stilben zu wirken.

Diese Konkurrenzsituation ist etwas anders gelagert, wenn ein reaktiveres Substrat wie Dimethylsulfid in der Reaktionslösung zugegen ist. Da die Sulfoxidation von DMS durch **1** viel schneller ist als die entsprechende Epoxidierung von *cis*-Stilben, kann sie mit der heterolytischen Spaltung der O-O-Bindung bei deutlich geringeren Substratkonzentrationen konkurrieren. Schon eine DMS-Konzentration von etwa $4.5 \times 10^{-4} \text{ M}$ reicht aus, um Bedingungen zu schaffen, bei denen der Sauerstofftransfer von **1** zu DMS mit dem heterolytischen Bruch der O-O-Bindung in Konkurrenz treten kann, sofern die Konzentration des Oxidationsmittels bei sehr geringen Überschüssen gehalten wird (in unserem Fall bei $c(m\text{-CPBA}) = 1.6 \times 10^{-5} \text{ M}$).

Direkte kinetische Studien der Epoxidierungs- und Sulfoxidationsreaktionen von **1** und **2** haben gezeigt, dass das Oxidationsvermögen des Oxoporphyrineisen(IV)- π -Kationradikals gegenüber organischen Substraten um einige Zehnerpotenzen größer ist als das des Acylperoxoporphyrineisen(III)-Komplexes. Es ist eine vorsichtige Bewertung des relativen Verhältnisses zwischen der Geschwindigkeit der heterolytischen O-O-Bindungsspaltung zu **2** und der Geschwindigkeit des Sauerstofftransfers von **1** zum Substrat nötig, obwohl sich die Sauerstoffübertragung von **2** zum jeweiligen Substrat unter den gewählten Bedingungen sehr schnell vollzieht. (Die Bedingungen sind so gewählt, dass die Bildung der hochvalenten Eisenspezies der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist und sich das Substrat von Beginn an in der Lösung befindet). Bedenkt man, dass die hier vorgestellte Bildung von **2** aus **1** durch die Reaktionsbedingungen bewusst äußerst langsam eingestellt worden ist, wogegen sie biologischen Systemen als sehr schnell gilt (gesteuert durch die Abgabe eines Protons von den Aminosäureresten des aktiven Zentrums), lassen die hier präsentierten In-vitro-Befunde darauf schließen, dass die hochvalente Oxoeisen-Spezies CpdI die einzige aktive Spezies ist, die *in vivo* für die Oxygenierungen im enzymatischen Katalysezyklus von P450 verantwortlich ist.

Experimentelles

Materialien: Alle Lösungen wurden in Acetonitril (99.9 % AMD CHROMASOLV von Sigma-Aldrich) angesetzt. $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-meso-Tetra}(2,4,6\text{-trimethylphenyl})\text{porphyrinhydroxid}$ ($[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{OH})]$) wurde von Frontier Scientific Porphyrin Product bezogen. Von Aldrich wurden *cis*-Stilben (96 %) und Dimethylsulfid verwendet. *m*-Chlorperbenzoësäure (Acros Organics) wurde vor der Verwendung zwecks Reinigung aus Hexan umkristallisiert.

Tieftemperatur-Stopped-Flow-Apparatur und Software: Zeit-aufgelöste UV/Vis-Spektren wurden mit einem Hi-Tech-SF-3L-Tieftemperatur-Stopped-Flow-Gerät (Hi-Tech Scientific, Salisbury) aufgenommen, das mit einem J&M-TIDAS-16/300-1100-Diodenzeilenspektrophotometer (J&M, Aalen) ausgestattet war. Die Messzelle hat einen optischen Weg von 1.0 cm und wurde über flexible Licht-

leiterkabel mit dem Spektrophotometer verbunden. Es wurden Spritzen mit einem Volumen von 5 mL verwendet. Die Mischkammer wurde in ein Ethanolbad getaucht, das sich in einem Dewar-Gefäß mit flüssigem Stickstoff befand. Das Ethanolbad wurde mit flüssigem Stickstoff gekühlt, die Temperatur mithilfe eines Platin-Thermometers gemessen und durch eine temperaturgesteuerte PID-Thyristorheizung (beides Hi-Tech) auf $\pm 0.1^\circ\text{C}$ konstant gehalten. Mit der integrierten Software J&M Kinspec 2.30 wurden vollständige Spektren zwischen 372 und 732 nm aufgenommen.

Messung der Tieftemperaturspektren: Die zeitaufgelösten UV/Vis-Spektren wurden mit einer Quarzglassonde (Spectralytics, Aalen) aufgenommen, die mit einem J&M-TIDAS-16/300-1100-Diodenzeilenspektrophotometer (J&M, Aalen) verbunden war. Die Sonde hat eine optische Weglänge von 1.0 cm und wurde per Lichtleiterkabel mit dem Spektrophotometer verbunden. Es wurde ein doppelwandiger Reaktor verwendet, der durch die Kombination einer Methanol-Umlaufkühlung (Colora WK 14-1 DS, Lorch) und einer 800-W-Heizung temperiert wurde ($\pm 0.1^\circ\text{C}$). Mit der integrierten J&M-Software Kinspec 2.30 wurden vollständige Spektren zwischen 372 und 732 nm aufgenommen.

Eingegangen am 25. Februar 2008
Online veröffentlicht am 2. Juni 2008

Stichwörter: Eisen · Oxidationen · Porphyrinoide · Radikale · Reaktionskinetik

-
- [1] a) W. Nam, Y. O. Ryu, W. J. Song, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2004**, *9*, 654; b) W. Nam, M. H. Lim, H. J. Lee, C. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 6641; c) J. P. Collman, A. S. Chien, T. A. Eberspacher, J. I. Brauman, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 11098; d) J. P. Collman, L. Zeng, R. A. Decréau, *Chem. Commun.* **2003**, 2974; e) K. Machii, Y. Watanabe, I. Morishima, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 6691; f) W. Nam, S. W. Jin, M. H. Lim, J. Y. Ryu, C. Kim, *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 3647.
 - [2] a) S. Jin, T. A. Bryson, J. H. Dawson, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2004**, *9*, 644; b) A. D. N. Vaz, D. F. McGinnity, M. J. Coon, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 3555; c) A. D. N. Vaz, S. J. Pernecký,
 - [3] a) F. Ogliaro, S. P. de Visser, S. Cohen, P. K. Sharma, S. Shaik, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2806; b) M. Eda, T. Kamachi, K. Yoshizawa, T. Toraya, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2002**, *75*, 1469; c) S. Shaik, D. Kumar, S. P. de Visser, A. Altun, W. Thiel, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2279; d) S. Shaik, H. Hirao, D. Kumar, *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 532.
 - [4] a) M. J. Cryle, J. J. De Voss, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 8401; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 8221; b) P. R. Ortiz de Montellano, J. J. De Voss, *Nat. Prod. Rep.* **2002**, *19*, 477.
 - [5] C. Li, L. Zhang, C. Zhang, H. Hirao, W. Wu, S. Shaik, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 8316.
 - [6] a) M. J. Park, J. Lee, Y. Suh, J. Kim, W. Nam, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 2630; b) M. S. Seo, T. Kamachi, T. Kouno, K. Murata, M. J. Park, K. Yoshizawa, W. Nam, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 2341.
 - [7] N. Hessenauer-Ilicheva, A. Franke, D. Meyer, W.-D. Woggon, R. van Eldik, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12473.
 - [8] A.-R. Han, Y. J. Jeong, Y. Kang, J. Y. Lee, M. S. Seo, W. Nam, *Chem. Commun.* **2008**, 1076.
 - [9] Das hydroxidsubstituierte Derivat von $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})]$ wurde wegen des deutlich größeren Unterschiedes zwischen dem UV/Vis-Spektrum von $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{OH})]$ und dem von **1** in Acetonitril gewählt. Beispielsweise führt die Zugabe einer sehr kleinen Menge *m*-CPBA zum $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{Cl})]$ -Derivat ebenfalls zu Bildung von **1** (Daten nicht angegeben), allerdings sind seine UV/Vis-Charakteristika denen von $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{Cl})]$ recht ähnlich (wenn auch nicht identisch zu ihnen), was die UV/Vis-Dektion von **1** erschwert.
 - [10] a) J. T. Groves, Y. Watanabe, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 7834; b) J. T. Groves, Y. Watanabe, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 8443.
 - [11] **3** kann auch durch Ansäuern einer Lösung von $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{OH})]$ in Acetonitril mit einer nichtkoordinierenden Säure wie *p*-Toluolsulfosäure erhalten werden (Daten nicht angegeben).
 - [12] Das potenzielle Koordinationsvermögen von DMS wurde UV/Vis-spektroskopisch getestet. Dabei stellte sich heraus, dass DMS im untersuchten DMS-Konzentrationsbereich nicht an das Eisenzentrum von $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMP})(\text{OH})]$ koordiniert.