

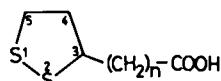
Die hydrophoben und Metallionen-koordinierenden Eigenschaften von α -Liponsäure – ein Beispiel für intramolekulare Gleichgewichte in Metallionen-Komplexen

Von Helmut Sigel*

In der Biochemie sind hydrophobe Wechselwirkungen als strukturbestimmende Faktoren bei Makromolekülen wohlbekannt. Weit weniger bekannt hingegen ist, daß solche Wechselwirkungen geringer Energie auch die Strukturen niedermolekularer Spezies beeinflussen können. Das Gleiche gilt für schwache Metallion-Ligand-Wechselwirkungen. Diese beiden Faktoren bestimmen intramolekulare, konzentrationsunabhängige Gleichgewichte zwischen isomeren Metallionen-Komplexen, wie für α -Liponsäure als Ligand gezeigt wird. Das Coenzym Liponsäure bietet Metallionen zwei Haftstellen: die Carboxygruppe, die als Carboxylat koordiniert wird, und die Disulfidbrücke. Die Carboxylatgruppe bestimmt gegenüber den biologisch wichtigen Metallionen die koordinativen Eigenschaften des Liganden, aber eine Metallion-Disulfid-Wechselwirkung ist dennoch möglich und kann unter sterisch günstigen Bedingungen sehr wichtig werden; dies könnte auch für enzymatische Verhältnisse zutreffen, da hier die Carboxygruppe der Liponsäure nicht mehr frei vorliegt, sondern über eine Amidbindung mit dem Protein verknüpft ist. Wegen der Valeriansäure-Seitenkette ist die Lipoylgruppe außerdem für hydrophobe Ligand-Ligand-Wechselwirkungen in Komplexen mit gemischten Liganden bestens geeignet. Solche hydrophoben Wechselwirkungen scheinen ideal, um eine Wanderung der 14 Å langen Lipoyllysylgruppe auf der Oberfläche des Enzyms zu ermöglichen und doch eine korrekte Fixierung zu gewährleisten.

1. Einleitung

α -Liponsäure (1,2-Dithiolan-3-valeriansäure) – auch als 6,8-Dithiooctansäure bekannt – ist im Tier- und Pflanzenreich weit verbreitet^[1]. Sie wurde vor ungefähr 35 Jahren entdeckt; schon bald wurde der wachstumsbeschleunigende Effekt auf manche Mikroorganismen erkannt^[2-4] und die chemische Struktur bestimmt^[5,6] (Fig. 1)**. α -(+)-Liponsäure^[7] ist ein wichtiges proteingebundenes Coenzym, das z. B. als transacylierender Cofaktor in α -Ketosäure-Dehydrogenase-Multienzymkomplexen auftritt^[8-10]. Es gibt Hinweise darauf, daß die Liponsäure auch bei der oxidativen Phosphorylierung eine wichtige Rolle spielt^[11].



n = 4 : Liponsäure (LP)
n = 2 : Bisnorliponsäure (BL)
n = 0 : Tetranorliponsäure (TL)

Fig. 1. Konstitution der α -Liponsäure und zweier Analoga.

Enzymsysteme, die die oxidative Decarboxylierung von Brenztrauben- und α -Ketoglutarsäure unter intermediärer Liponsäurebeteiligung katalysieren, wurden aus Zellen

von Pro- und Eukaryoten als funktionelle Einheiten isoliert; ihr Molekulargewicht beträgt mehrere Millionen^[8]. So wurde z. B. der Pyruvat-Dehydrogenase-Multienzymkomplex aus *Azotobacter*, *Streptococcus*, Hefe, Kartoffeln und Säugetierherzen gewonnen^[1,9]; das Enzymsystem aus *Escherichia coli* und verschiedenen Säugetierorganen ist besonders gut untersucht^[8-10]. Faszinierend ist in diesem Zusammenhang die Frage nach der Organisation von Struktur und Reaktionsfolge in einem solchen Multienzymkomplex. Ein Auftreten hydrophober Wechselwirkungen oder eine Beteiligung mobiler Metallionen erscheinen zumindest als Hypothese plausibel.

Die Kinetik und Regulation der von Pyruvat-Dehydrogenase-Kinase und -Phosphatase – isoliert aus Rindernieren und -herzen – katalysierten Prozesse sind teilweise bekannt^[8]. Brenztraubensäure (Pyruvat), das Substrat der Pyruvat-Dehydrogenase, hemmt nicht-kompetitiv die als regulatorische Untereinheit fungierende Pyruvat-Dehydrogenase-Kinase. Die halbmaximale Aktivität der Phosphatase wird bei einer Mg^{2+} -Konzentration von ca. 2 mM erreicht; dies ist ungefähr das 100fache der $Mg(ATP)^{2-}$ -Konzentration (ca. 0.02 mM), bei der die Kinase ihre halbmaximale Aktivität erreicht^[8]. Außer Mg^{2+} benötigt die Pyruvat-Dehydrogenase-Phosphatase auch noch Ca^{2+} (halbmaximale Aktivität bei ca. 1 μM)^[12,13]. In dessen Gegenwart wird die Phosphatase an die Transacetylase gebunden, wobei die Mg^{2+} -abhängige Dephosphorylierung der phosphorylierten Pyruvat-Dehydrogenase erleichtert wird^[12]. Es ist möglich, daß Ca^{2+} als Brücke zwischen der Phosphatase und der Transacetylase dient, oder daß Ca^{2+} eines der beiden Enzyme koordiniert und dabei eine Konformationsänderung hervorruft, die dann die Bildung des Enzymkomplexes begünstigt^[8]. In jedem Fall spielen Metallionen in diesen Liponsäure-abhängigen Systemen eine wichtige Rolle. In diesem Zusammenhang ist auch von In-

[*] Prof. Dr. H. Sigel

Institut für Anorganische Chemie der Universität
Spitalstraße 51, CH-4056 Basel (Schweiz)

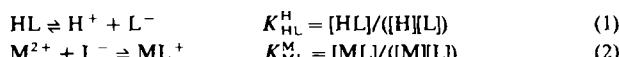
[**] Abkürzungen, außer den in Fig. 1 angegebenen: Ac, Acetat; ATP, Adenosin-5'-triphosphat; bpy, 2,2'-Bipyridyl; Bnz, Benzoat; Chac, 2-Cyclohexylacetat; Dmds, Dimethyldisulfid; Dms, Dimethylsulfid; L, Ligand; M^{n+} , Metallion; phen, 1,10-Phenanthrolin; Pp, 3-Phenylpropionat; Prop, Propionat; Thtc, Tetrahydrothiophen-2-carboxylat (Thiolan-2-carboxylat); Val, Valeriat.

teresse, daß Schwermetallvergiftungen mit Liponsäure behandelt wurden^[1, 14, 15]; in der Tat bildet sie z. B. mit Hg^{2+} Komplexe^[16, 17]. Die Hemmung der mikrosomalen Membran-ATPase aus Taubenhirn durch Cu^{2+} wird durch Liponsäure ebenfalls aufgehoben^[18]. Das weitverbreitete Vorkommen von Liponsäure^[1, 7, 9] und von Metallionen^[19] in biologischen Systemen sowie der therapeutische Gebrauch dieses Disulfids regten Untersuchungen über die koordinationschemischen Eigenschaften dieses Coenzyms an.

Aus der in Figur 1 gezeigten Formel von α -Liponsäure ist ersichtlich, daß dieses Moleköl zwei mögliche Haftstellen für Metallionen hat, die im physiologischen pH-Bereich als Carboxylat vorliegende COOH-Gruppe und die Disulfidbrücke. Die Koordinationstendenz dieser Unterheiten in Lösung wird im folgenden zusammengefaßt und im Hinblick auf die biochemische Bedeutung diskutiert. Die intramolekularen hydrophoben Ligand-Ligand-Wechselwirkungen in ternären Komplexen werden dort, wo es darauf ankommt, ebenfalls erörtert.

2. Carboxylatgruppe: Basizität und Bildung von Komplexen mit Metallionen

Die Aciditätskonstante von α -Liponsäure [Gl. (1)] und die Stabilitätskonstanten binärer Carboxylatkomplexe [Gl. (2)] wurden durch potentiometrische pH-Titration bestimmt (25°C).



Die in 50proz. wäßrigem Dioxan (v/v ; $I=0.1$, NaClO_4) erhaltenen Aciditätskonstanten^[20] für (\pm)-Liponsäure ($\text{p}K_{\text{HL}}^{\text{H}}=6.37$), (\pm)-Bisnorliponsäure (6.05) und (\pm)-Tetranorliponsäure (4.84) zeigen, daß mit abnehmender Kettenlänge die Acidität zunimmt. Dies entspricht den Resultaten bei einfachen Carbonsäuren: Valerian- ($\text{p}K_{\text{HL}}^{\text{H}}=6.44$)^[21] < Propion- (6.29)^[22] < Essig- (6.01)^[22] < Ameisensäure (4.75)^[22]. Der elektronenziehende Einfluß der Disulfidgruppe wird besonders aus einem Vergleich der Konstanten für Essigsäure (6.01) und (\pm)-Tetranorliponsäure (4.84)^[20] deutlich; letztere ist beträchtlich saurer^[23].

Die Stabilität der binären 1:1-Komplexe von α -Lipoat mit Mn^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} (vgl. [20]), Cd^{2+} oder Pb^{2+} (vgl. [24]) wird lediglich durch die Basizität der Carboxylatgruppe bestimmt. Dies zeigt sich daran, daß eine Gerade resultiert, wenn die $\lg K_{\text{ML}}^{\text{M}}$ -Werte einer Reihe von Komplexen mit strukturell verwandten Liganden gegen die $\text{p}K_{\text{HL}}^{\text{H}}$ -Werte der Liganden aufgetragen werden (Fig. 2)^[26, 27]. Auf der Referenzgeraden der binären ML^+ -Komplexe [Gl. (2)] der einzähnigen Carboxylate Formiat, Acetat, Propionat und Valeriat^[20-22] liegen auch die α -Lipoatkomplexe. Wie zu erwarten, gibt es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Daten der (+)- und (-)-Isomere von α -Lipoat und denen des (\pm)-Gemischs^[20]. Sollte eine Wechselwirkung des Metallions mit der Disulfidgruppe von α -Lipoat existieren, so erhöht sie doch nicht die Komplexstabilität.

Im Gegensatz hierzu sind die Metallionen-Komplexe der beiden Lipoat-Analoga mit verkürzter Seitenkette und von Tetrahydrothiophen-2-carboxylat in einer Reihe von Fällen eindeutig stabiler (Fig. 2) als aufgrund der Carboxy-

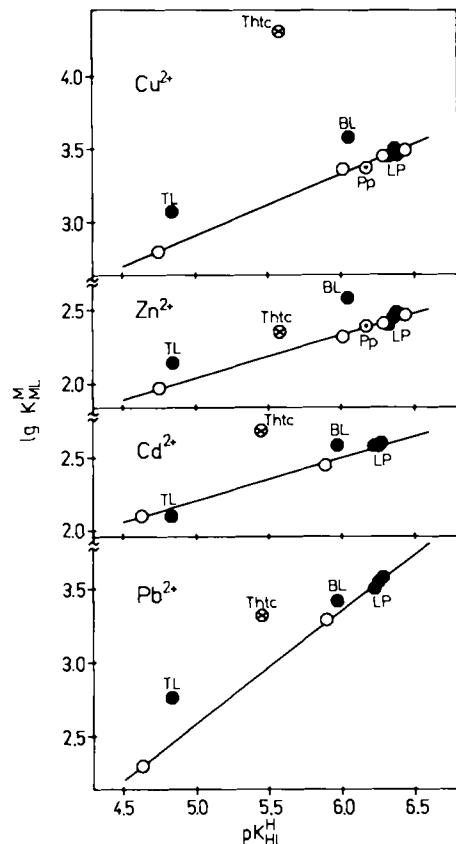


Fig. 2. Beziehung zwischen $\lg K_{\text{ML}}^{\text{M}}$ [Gl. (2)] und $\text{p}K_{\text{HL}}^{\text{H}}$ [Gl. (1)] für die binären ML^+ -Komplexe von α -Lipoat (LP; die drei Punkte beziehen sich auf (+)-, (-)- und (\pm)-LP), (\pm)-Bisnorlipoat (BL) und (\pm)-Tetranorlipoat (TL) (●), Tetrahydrothiophen-2-carboxylat (Thtc, \otimes) sowie 3-Phenylpropionat (Pp, \ominus ; vgl. Abschnitt 5 und Fig. 3). Die Vergleichsgeraden resultieren aus den Daten der entsprechenden Komplexe mit einzähnigen Carboxylatliganden (○) (von links nach rechts): Formiat, Acetat, Propionat und Valeriat. Die aufgetragenen Werte ($I=0.1$, NaClO_4 oder NaNO_3 ; 25°C ; 50proz. wäßriges Dioxan) stammen für die Cu^{2+} - und Zn^{2+} -Komplexe (NaClO_4) aus Tabelle 1 von [20] und Tabelle 2 von [25]; die Daten der Cd^{2+} - und Pb^{2+} -Komplexe (NaNO_3) sind aus Tabelle 1 von [24].

latbasizität zu erwarten ist. Hier müssen die Disulfid- und die Sulfidgruppe an der Koordination beteiligt sein; die Stabilität der so entstandenen Chelate wird in Abschnitt 3.2 diskutiert.

Die $\text{p}K$ -Werte [Gl. (1)] von Liponsäure und die $\lg K$ -Werte [Gl. (2)] der entsprechenden $\text{M}(\text{LP})^+$ -Komplexe werden in wäßriger Lösung um etwa 1.5 niedriger sein. Dies läßt sich aus den Daten von Essigsäure und ihren Komplexen abschätzen ($I=0.1$; 25°C); so gilt in 50proz. Dioxan^[20-22]:

$$\text{p}K_{\text{H}(\text{Ac})}^{\text{H}} = 6.01 \pm 0.01, \lg K_{\text{Cu}(\text{Ac})}^{\text{Cu}} = 3.36 \pm 0.03, \lg K_{\text{Zn}(\text{Ac})}^{\text{Zn}} = 2.32 \pm 0.03$$

und in Wasser^[28]:

$$\text{p}K_{\text{H}(\text{Ac})}^{\text{H}} = 4.54 \pm 0.01, \lg K_{\text{Cu}(\text{Ac})}^{\text{Cu}} = 1.81 \pm 0.02, \lg K_{\text{Zn}(\text{Ac})}^{\text{Zn}} = 0.86 \pm 0.06$$

Die Konstanten für (\pm)-Liponsäure in 50proz. Dioxan betragen^[20]:

$$\text{p}K_{\text{H}(\text{LP})}^{\text{H}} = 6.37 \pm 0.01, \lg K_{\text{Cu}(\text{LP})}^{\text{Cu}} = 3.50 \pm 0.02, \lg K_{\text{Zn}(\text{LP})}^{\text{Zn}} = 2.47 \pm 0.02$$

Die Stabilität der Lipoatkomplexe in Wasser wird sehr wahrscheinlich ebenfalls allein durch die Basizität der Carboxylatgruppe bestimmt; dies wurde bei (+)-Biotin bereits nachgewiesen^[29]. Daß die Stabilität der mit O-Liganden gebildeten Komplexe mit abnehmender Wasseraktivität zunimmt, ist eine allgemeine Erfahrung und für biologische Systeme wahrscheinlich bedeutungsvoll^[30].

Zusammenfassend ist zu betonen, daß die Metallionenbindenden Eigenschaften der Liponsäure zwar durch die Carboxylatgruppe bestimmt werden; dies bedeutet aber nicht, daß die Disulfidgruppe keinerlei koordinative Eigenschaften hat. Die Befunde besagen lediglich, daß sich Metallion-Disulfid-Wechselwirkungen unter den beschriebenen Verhältnissen nicht auswirken. Eine Metallion-Carboxylat-Koordination könnte jedoch nur bei Biosynthese und Metabolismus^[7,31-34] von Liponsäure eine Rolle spielen, nicht aber deren enzymatische Aktivität beeinflussen, da dann der Lipoylrest am Enzym amidegebunden vorliegt^[1,8] und die Carboxygruppe für eine Metallionen-Koordination nicht mehr zur Verfügung steht.

3. Disulfidkoordination

3.1. Stabilität von Disulfidkomplexen

Die Stabilität von Disulfidkomplexen mit den biologisch wichtigen Metallionen ist erwartungsgemäß klein; kürzlich gelang es jedoch die Stabilitätskonstanten solcher schwächer Komplexe ¹H-NMR-spektroskopisch zu bestimmen^[35]: Diamagnetische Metallionen induzieren durch ihre Koordination eine Verschiebung der Resonanzsignale benachbarter Protonen zu tieferem Feld. Der einfachste – und auch genügend wasserlösliche – Ligand für solche Untersuchungen ist Dimethyldisulfid (Dmds). Die Stabilitätskonstanten einiger seiner Komplexe – entsprechend Gl. (3) – sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

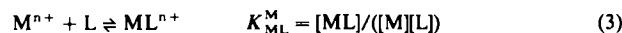


Tabelle 1. Vergleich der Stabilität einiger Dimethyldisulfid(Dmds)-Komplexe mit derjenigen der entsprechenden Dimethylsulfid(Dms)-Komplexe (34 °C) [a].

M^{n+}	$\lg K_{M(Dmds)}^M$ (D ₂ O)	$\lg K_{M(Dms)}^M$ (H ₂ O)	I [b]
Ca ²⁺	-1.4	-1.6	2-4.5 (NaClO ₄)
Zn ²⁺	-1.4	-1.4	2-4.5 (NaClO ₄)
Cd ²⁺	-1.4	-0.3 ± 0.2	2-4.5 (NaClO ₄)
Pb ²⁺	-1.5	-1.05 ± 0.2	2-3 (NaNO ₃)
Ag ⁺	2.01 ± 0.09	3.7 ± 0.3	0.1 (NaNO ₃)

[a] Entnommen der Tabelle 1 in [35]. Die meisten der aufgeführten Stabilitätskonstanten sind rohe Schätzungen; falls nicht anders angegeben, ist die untere Fehlergrenze der Werte -0.5 und die obere +0.2 lg-Einheiten. [b] In Klammern: Grundelektrolyt.

Die Stabilität der Dmds-Komplexe biologisch wichtiger Metallionen ist tatsächlich sehr gering; dies gilt auch für die Komplexe der Schwermetallionen Cd²⁺ und Pb²⁺.

Selbstverständlich haben die weichen^[36] Metallionen, wie Cu⁺, Ag⁺ oder Hg²⁺, eine größere Koordinationstendenz gegenüber der Disulfidgruppe; die Kristallstruktur von Disulfidkomplexen, z. B. mit Cu⁺, konnte bestimmt werden^[37,38], obwohl bei Koordination dieser Metallionen

die Disulfidbindung häufig gespalten wird^[39,40]. So wurde, um die Stabilitätskonstante des Ag(Dmds)⁺-Komplexes zu erhalten, der pH-Wert der D₂O-Lösung mit DNO₃ auf etwa 2 eingestellt; dies verhindert eine bei höheren pH-Werten stattfindende^[41] Spaltung der Disulfidbrücke: der Ag(Dmds)⁺-Komplex ist in Lösung bei pH 2 während 24 h stabil^[35]. Versuche, das Hg²⁺-Dmds-System zu studieren, schlugen fehl, da sich ein weißer Niederschlag bildete^[35]; dies könnte das Nitrat eines Hg(Dmds)_x²⁺-Komplexes oder das Produkt einer Spaltung der Disulfidbindung sein^[42]. Hg²⁺ scheint in Gegenwart von Dimethyldisulfid zu disproportionieren^[35]; ähnliche Beobachtungen wurden schon früher gemacht^[43].

All diese Ergebnisse^[35] sind in Einklang mit denen, die mit Liponsäure^[17] erhalten wurden: Bei Zugabe von Liponsäure in 95proz. Ethanol zu Hg(NO₃)₂ in verdünntem HNO₃ bildet sich sofort ein schwerer, weißer Niederschlag, dem die Formel Hg(LP)(OH)₂ zugeschrieben wurde; nach IR-Messungen ist die Carboxylatgruppe von Liponsäure protoniert, und Hg²⁺ ist an die Disulfidgruppe koordiniert. Mit Co²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺ und Pb²⁺ bildet Liponsäure keine isolierbaren Produkte^[17]; solche entstehen erst nach photolytischer oder thermischer Spaltung der Disulfidbrücke. Alle diese Metallionen – einschließlich Hg²⁺ – reagieren mit der zum Dithiol reduzierten Dihydroliponsäure zu schwerlöslichen Komplexen^[17].

Ein Vergleich der in Tabelle 1 aufgeführten Stabilitätskonstanten zeigt^[35], daß die komplexbildenden Eigenschaften der Disulfid- und der Sulfidgruppe gegenüber harten Metallionen (z. B. Ca²⁺^[36]) ähnlich sind, während sie sich für einige der „borderline“-Metallionen (z. B. Cd²⁺^[39,44] und Pb²⁺) etwas unterscheiden: Die Disulfidkomplexe sind weniger stabil als die entsprechenden Sulfidkomplexe (obwohl die Disulfidkomplexe mit zwei S-Atomen statistisch begünstigt sind). Mit dem weichen Ag⁺ werden diese Eigenschaften noch deutlicher: Der Ag⁺-Komplex von Dimethyldisulfid ist um einen Faktor 50 instabiler als derjenige von Dimethylsulfid. Dies deutet darauf hin, daß die S₂R₂-Gruppe etwas weniger weich ist als die SR₂-Gruppe.

Die Resultate in Tabelle 1 stimmen mit den Erwartungen überein^[35]: Aufgrund der p_π-d_π-Wechselwirkung^[1,45-47] sind in einem Disulfid die Elektronen für eine Koordination weniger verfügbar als in einem Sulfid; dementsprechend sollten Komplexe von S₂R₂ etwas weniger stabil sein als diejenigen von SR₂.

Die Ergebnisse können auch als weiteres Beispiel für den sogenannten α -Effekt betrachtet werden. Danach ist z. B. OH⁻ eine bessere Base als OOH⁻ und NH₃ eine bessere als H₂NNH₂; dies gilt in der Tat auch für S(CH₃)₂ und S₂(CH₃)₂^[48]: Das Disulfid ist weniger basisch als das Sulfid, das selbst eine extrem schwache Base ist ($pK_a = -6.8$ ^[49]). Basizitätsabschätzungen ergaben die Reihenfolge (CH₃)₂S > (CH₃)₂S₂ \approx CH₃SH^[48] und damit für die Disulfidgruppe $pK_a < -6.8$.

In diesem Zusammenhang ist außerdem ein Vergleich der koordinativen Eigenschaften der 1,2-Dithiolangruppe und des Thiolan(Tetrahydrothiophen)rests interessant. Vergleicht man die Stabilität z. B. der Cu²⁺-Komplexe von Tetrnorlipoat und Tetrahydrothiophen-2-carboxylat, so zeigt sich in Figur 2, daß die Stabilität um 0.23 bzw. 1.16 lg-Einheiten größer ist als man aufgrund der Basizität der

Carboxylatgruppe erwartet hat (Vergleichsgerade). Anders ausgedrückt, die Koordinationstendenz des Thiolanrests ist etwa achtmal größer als die des 1,2-Dithiolanrests. Dieses Resultat und die entsprechenden Beobachtungen für andere Metallionen (vgl. Tabelle 2 in Abschnitt 3.2) sind in Einklang mit den auf Tabelle 1 beruhenden Schlußfolgerungen.

Die Disulfid- p_{π} - d_{π} -Wechselwirkung ist in einfachen aliphatischen Disulfiden am ausgeprägtesten; in diesen beträgt der Winkel zwischen den durch RSS und SSR definierten Ebenen etwa 90° ^[45-47]. Tatsächlich hängt die SS-Bindungslänge vom Torsionswinkel ab^[50, 51]. Für $\text{CSSC} \approx 90^\circ$ beträgt die Bindungslänge ungefähr 202 pm und für $\text{CSSC} \approx 0^\circ$ ca. 210 pm^[52]. Im 1,2-Dithiolanring erreicht dieser Winkel nur etwa 27° ^[1] bis 35° ^[53] und die SS-Bindungslänge beträgt 205.3 pm^[53]; die p_{π} - d_{π} -Wechselwirkung ist zwar etwas vermindert^[1], doch ist die Elektronendichte, die für die Koordination eines Metallions an einem dieser Schwefelatome zur Verfügung steht, immer noch kleiner als am Schwefel des Tetrahydrothiophens, und die Komplexstabilitäten sind so erklärbar^[1].

Die Wechselwirkung zwischen harten Metallionen und Sulfiden wird mit Abnahme der Wasseraktivität – z. B. beim Übergang von Wasser zu 50proz. wäßrigem Ethanol – stärker; die entsprechende Komplexbildung wird begünstigt^[29, 44, 59]. Dasselbe darf für die Disulfid-Metallionen-Wechselwirkung angenommen werden. Im Hinblick auf biologische Systeme ist dies von Interesse, da an der Oberfläche eines Proteins die Wasseraktivität verringert und somit eine Metallion-Disulfid-Wechselwirkung unter diesen Verhältnissen begünstigt sein sollte.

3.2. Chelatbildung unter Einbeziehung der Disulfidgruppe

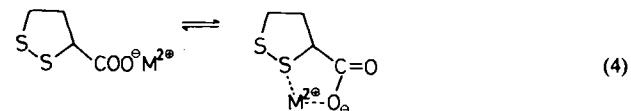
Nach dem im vorigen Abschnitt Diskutierten ist zu erwarten, daß die Komplexe zwischen Disulfiden und den in biologischen Systemen wichtigen harten oder „borderline“-Metallionen, wie z. B. Mg^{2+} , Ca^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} oder Cu^{2+} , nicht sehr stabil sind. Dies darf jedoch nicht zu dem Schluß verleiten, derartige Wechselwirkungen seien nicht wichtig, denn erstens kann – wie bereits angedeutet – die

[*] Man könnte versucht sein zu folgern, daß im Tetrahydrothiophenrest der Schwefel eher in einer sp^3 -ähnlichen Weise (entsprechend einem Winkel von ca. 109°) hybridisiert ist als S2 im 1,2-Dithiolanring von Liponsäure. Eine solche Annahme wäre jedoch nicht in Einklang mit den Ergebnissen von Kristallstrukturuntersuchungen; bei Biotin [54] beträgt der Winkel am Schwefel im Tetrahydrothiophenring 89.4° , der Winkel an S2 im 1,2-Dithiolanring von Liponsäure beträgt 92.8° [53]. Unter der Annahme, daß die Winkel sich in Lösung nicht verändern, läßt sich nicht erklären, warum die Koordinationstendenz des Sulfids größer ist als die des Disulfids. In Liponsäure beträgt der Winkel an S1 95.5° und an S2 92.8° [53]. Unter dem Gesichtspunkt einer orientierten Elektronendichte (d. h. mehr sp^3 -ähnlich) sollte also S1 etwas bevorzugt sein [aus sterischen Gründen ist allerdings nur das etwas weniger geeignete S2 in Tetranorlipoat für die Chelatbildung erreichbar (vgl. auch Abschnitt 3.2)]. In Übereinstimmung hiermit – und möglicherweise sterisch zusätzlich begünstigt durch die größere Distanz zur Seitenkette – ist S1 die bevorzugte Reaktionsstelle in elektrophilen Reaktionen, in denen keine sterischen Restriktionen wie bei der Chelatbildung bestehen. So wird z. B. bei chemischen Oxidationen von Liponsäure, ebenso wie im Lipoatmetabolismus in *Pseudomonas putida*, vorzugsweise S1 unter Bildung des Monoxids angegriffen [34]; ähnlich werden auch die Acetylierung [55] und die photoreduktive Acylierung [56, 57] an Position 1 bevorzugt. Dies steht im Gegensatz zu einem natürlichen Enzymsystem [55-57], aus dem 6-Acetylthio-8-mercaptopoctansäure isoliert wurde (vgl. z. B. auch [58]); in Enzymsystemen steuern also andere Einflüsse die Reaktion.

Komplexstabilität bei einer reduzierten Wasseraktivität zunehmen und zweitens, was noch bedeutender ist, genügt eine schwache Wechselwirkung, um spezifische Strukturen hervorzubringen; dies wird im folgenden gezeigt.

Im α -Lipoat sind Disulfidbrücke und Carboxylatgruppe zu weit entfernt, um einen stabilen Chelatkomplex erwarten zu können; und diese Erwartung stimmt mit den in Abschnitt 2 beschriebenen Ergebnissen überein. Mit den kettenverkürzten Kataboliten^[31, 34] Bisnorlipoat und Tetranorlipoat verhält es sich anders, weil hier sieben- und fünfgliedrige Chelate gebildet werden können. Tatsächlich sind auch alle Cu^{2+} -, Zn^{2+} -, Cd^{2+} - und Pb^{2+} -Komplexe von (\pm)-Tetranorlipoat und (\pm)-Bisnorlipoat – mit der einzigen Ausnahme von $\text{Cd}(\text{TL})^+$ – um 0.08 bis 0.31 lg-Einheiten stabiler als man aufgrund der Basizität der Carboxylatgruppe dieser Liganden erwartet (Fig. 2). Dies röhrt daher, daß die Disulfidgruppe an der Komplexbildung teilnimmt und daß Chelate gebildet werden. Ein Vergleich dieser Stabilitätszunahme mit derjenigen der entsprechenden Tetrahydrothiophen-2-carboxylat-Komplexe (Fig. 2) zeigt, daß im allgemeinen die Wechselwirkung im Sulfid stärker ist als im Disulfid. Das weist zudem darauf hin – und zwar ohne alle Berechnungen –, daß das Ausmaß der Chelatbildung in diesen Komplexsystemen verschieden sein muß.

Daraus ergibt sich, daß ein intramolekulares Gleichgewicht zwischen einer „offenen“ und einer „geschlossenen“ Form existiert. Dies sei am Beispiel der Tetranorlipoatkomplexe in Gl. (4) verdeutlicht:



Wenn das chelatisierte Isomer – in dem ein O-Atom der Carboxylatgruppe und ein S-Atom der Disulfidbrücke koordiniert sind – als $\text{M}(\text{L})_{\text{O},\text{S}}^+$ und das einfache, carboxylatgebundene Isomere als $\text{M}(\text{L})_{\text{O}}^+$ bezeichnet wird, dann kann die Lage von Gleichgewicht (4) mit der entsprechenden Gleichgewichtskonstanten K_{Ch} beschrieben werden:

$$K_{\text{Ch}} = [\text{M}(\text{L})_{\text{O},\text{S}}^+]/[\text{M}(\text{L})_{\text{O}}^+] \quad (5)$$

Diese intramolekulare Gleichgewichtskonstante ist dimensionslos und dementsprechend von der absoluten Konzentration an ML^+ [Gl. (2)] unabhängig. Wie bereits früher gezeigt wurde^[35, 60], kann K_{Ch} nach Gl. (6) berechnet werden:

$$K_{\text{Ch}} = \frac{K_{\text{ML}}^{\text{M}}}{K_{\text{ML}(\text{L})_{\text{O}}}^{\text{M}}} - 1 \quad (6)$$

K_{ML}^{M} [Gl. (2)] ist die globale und experimentell bestimmte Konstante des betrachteten isomeren Komplexsystems; $K_{\text{ML}(\text{L})_{\text{O}}}^{\text{M}}$ ist die Stabilitätskonstante der einfachen, carboxylatgebundenen Spezies. Der entscheidende Parameter ist

$$\lg \Delta = \lg K_{\text{ML}}^{\text{M}} - \lg K_{\text{ML}(\text{L})_{\text{O}}}^{\text{M}} \quad (7)$$

$\lg \Delta$ kann aus der Differenz zwischen dem experimentell bestimmten Wert $\lg K_{\text{ML}}^{\text{M}}$ eines gegebenen Komplexsystems und der entsprechenden Referenzlinie in Figur 2 ge-

schätzt werden. Sobald K_{Ch} bekannt ist, kann der Anteil an $M(L)_{O,S}^+$ – entsprechend Gleichgewicht (4) – ebenfalls erhalten werden.

Tabelle 2. Ausmaß der Chelatbildung in binären Metallionen-Komplexen mit Carboxylatliganden (L^-), die eine zusätzliche Sulfid- oder Disulfid-Haftstelle haben (in 50proz. wässrigem Dioxan; $I=0.1$; $25^\circ C$) [a].

L^-	M^{2+}	$\lg K_{ML}^M$ [Gl. (2)]	$\lg \Delta$ [Gl. (7)]	K_{Ch} [Gl. (5)]	Anteil an $M(L)_{O,S}^+$ [b] [%] [Gl. (4)]
Thc ⁻	Mn^{2+}	1.80 ± 0.05	≈ 0	≈ 0	≤ 20
	Cu^{2+}	4.31 ± 0.03	1.16	13.5	93 ± 1 (1)
	Zn^{2+}	2.35 ± 0.03	0.15	0.41	29 ± 5 (8)
	Cd^{2+}	2.68 ± 0.02	0.34	1.2	54 ± 2 (4)
	Pb^{2+}	3.32 ± 0.03	0.40	1.5	60 ± 3 (5)
(\pm)-TL ⁻	Mn^{2+}	1.87 ± 0.03	≈ 0.04	≈ 0.1	≈ 9 (≤ 20)
	Cu^{2+}	3.07 ± 0.03	0.23	0.70	41 ± 4 (7)
	Zn^{2+}	2.14 ± 0.03	0.15	0.41	29 ± 5 (8)
	Cd^{2+}	2.10 ± 0.04	≈ 0	≈ 0	≤ 11
	Pb^{2+}	2.76 ± 0.04	0.31	1.0	50 ± 5 (7)
(\pm)-BL ⁻	Mn^{2+}	2.11 ± 0.02	≈ 0.16	≈ 0.4	≈ 29
	Cu^{2+}	3.58 ± 0.02	0.23	0.70	41 ± 3 (5)
	Zn^{2+}	2.58 ± 0.02	0.23	0.70	41 ± 3 (5)
	Cd^{2+}	2.58 ± 0.02	0.09	0.23	19 ± 4 (8)
	Pb^{2+}	3.42 ± 0.03	0.08	0.20	17 ± 6 (10)

[a] Die Daten für die beiden ersten Liganden sind die leicht modifizierten Ergebnisse von [35]. Die anderen Ergebnisse wurden aus den in [20] und [24] publizierten Daten berechnet; vgl. auch Fig. 2. Die bei $\lg K_{ML}^M$ angegebenen Fehlergrenzen entsprechen der dreifachen Standardabweichung des Mittelwerts. [b] Die Fehlergrenzen wurden aus den für $\lg K_{ML}^M$ angegebenen ermittelt. Die in runder Klammer angegebenen Werte wurden berechnet, indem zu den für $\lg K_{ML}^M$ angegebenen Fehlern noch 0.02 \lg -Einheiten addiert wurden; auf diese Weise wird ein möglicher Fehler der Referenzgeraden berücksichtigt. Dieser Fehler wird auf höchstens 0.02 \lg -Einheiten geschätzt (abgesehen vielleicht von den Mn^{2+} -Systemen), da die Geraden auf mehreren unabhängigen Systemen beruhen (Fig. 2). Die in Klammern angegebenen Werte sind somit eine Art oberste Fehlergrenze, die sich noch rechtfertigen ließe.

Die berechneten Werte für die intramolekulare Gleichgewichtskonstante K_{Ch} und der Anteil an „geschlossenem“ Isomer $M(L)_{O,S}^+$ für Tetrahydrothiophen-2-carboxylat-, (\pm)-Tetranorlipoat- und (\pm)-Bisnorlipoat-Komplexe sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Der Anteil an chelatisiertem Isomer hängt stark vom Metallion ab: Der gesamte mögliche Bereich, d. h. von Spuren bis zu 100%, wird beobachtet. Diese Ergebnisse zeigen deutlich, daß die Disulfidgruppe nicht nur an der Komplexbildung teilnehmen, sondern sogar eine bestimmte Struktur fixieren kann, falls sich das Schwefelatom in einer sterisch günstigen Position befindet.

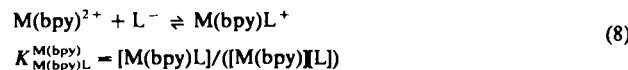
Ein Vergleich der Komplexe mit den sterisch sehr ähnlichen Liganden Tetranorlipoat und Tetrahydrothiophen-2-carboxylat zeigt, daß der Anteil an chelatisiertem Isomer $M(L)_{O,S}^+$ in den M^{2+} -Thc⁻-Systemen normalerweise größer ist als in den M^{2+} -TL⁻-Systemen, was die im Vergleich zu Disulfiden etwas besseren Koordinationseigenschaften von Sulfiden bestätigt (vgl. Abschnitt 3.1). Zusätzlich werden bei genauerer Betrachtung sogar noch feinere Details sichtbar: die ähnliche Koordinationstendenz von Zn^{2+} gegenüber SR₂ und S₂R₂ oder die Tendenz von Cd^{2+} , bevorzugt SR₂ zu koordinieren. Überraschenderweise führt die Notwendigkeit, einen siebengliedrigen Chelatkomplex zu bilden, nicht zur deutlichen Schwächung der Disulfidkoordination, denn bei den Bisnorlipoatkomplexen ist der Anteil an $M(L)_{O,S}^+$ ähnlich groß wie bei Tetranorlipoatkomplexen, die fünfgliedrige Chelate bilden können.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß die Eigenschaften der Disulfidgruppe die Koordination weicher Metallionen begünstigen, während die Tendenz, mit den biochemisch wichtigen, d. h. harten oder „borderline“-Metallionen in Wechselwirkung zu treten, offensichtlich schwach und ziemlich unspezifisch ist (Tabelle 1). Es muß jedoch betont werden, daß diese scheinbar vernachlässigbaren koordinativen Eigenschaften dann zu erhöhter Komplexbildung führen können, wenn Liganden diese schwach koordinierenden Gruppen in Nachbarschaft zu stärkeren Bindungsstellen haben (Tabelle 2). Im Hinblick auf biologische Systeme ist wichtig, daß Gleichgewichte zwischen Isomeren bestimmter Komplexe ziemlich leicht erhalten werden können; ein Faktor, der sehr wohl mit ein Schlüssel zur immer wieder beobachtbaren Selektivität sein könnte.

4. Hydrophobe Wechselwirkungen in Komplexen mit verschiedenen Liganden

4.1. Die Stabilität ternärer Komplexe

Für die ternären Komplexe aus Cu^{2+} oder Zn^{2+} , 2,2'-Bipyridyl (bpy) und α -Liponsäure oder einem Analogon mit verkürzter Seitenkette erhält man in erster Näherung ein Bild, das dem für die binären Komplexe (Abschnitt 2) ähnelt [Gl. (8)]:



Trägt man $\lg K_{M(bpy)L}^{M(bpy)}$ der ternären Systeme mit den einfachen Carboxylatliganden Formiat, Acetat usw. gegen pK_{HL}^H auf, so erhält man wiederum „Vergleichsgeraden“

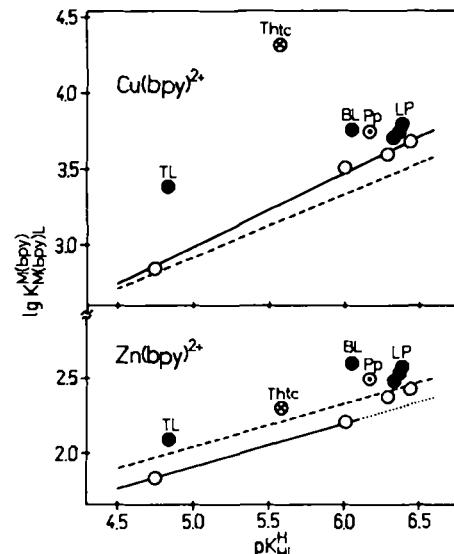


Fig. 3. Beziehung zwischen $\lg K_{M(bpy)L}^{M(bpy)}$ [Gl. (8)] und pK_{HL}^H [Gl. (1)] für die ternären $M(bpy)L^+$ -Komplexe von α -Lipoat (LP; die drei Punkte beziehen sich auf (+), (-) und (\pm)-LP), (\pm)-Bisnorlipoat (BL), (\pm)-Tetranorlipoat (TL) (●), Tetrahydrothiophen-2-carboxylat (Thc, Θ) und 3-Phenylpropionat (Pp, \odot ; vgl. Abschnitt 5 und Fig. 2). Die Vergleichsgeraden resultieren aus den Daten der entsprechenden Komplexe mit einzähnigen Carboxylatliganden (○) (von links nach rechts): Formiat, Acetat, Propionat und Valerat; für $Zn(bpy)L^+$ ist die Vergleichsgerade nur durch die Daten von Formiat und Acetat gelegt und dann versuchsweise extrapoliert (punktierter Teil; vgl. die Abschnitte 4.2 und 4.3). Die gestrichelten Geraden beziehen sich auf die binären 1:1-Komplexe (Fig. 2); sie sind zum Vergleich eingezeichnet. Sämtliche aufgetragenen Werte ($I=0.1$, $NaClO_4$; $25^\circ C$; 50proz. wässriges Dioxan) stammen aus den Tabellen 1 und 2 von [20] sowie Tabelle 2 von [25].

(Fig. 3); auch die Werte vieler anderer Systeme liegen relativ nahe bei diesen Geraden (d. h. meistens etwa 0.3 lg-Einheiten darüber). Dies zeigt, daß die Stabilität dieser ternären Komplexe zu einem großen Teil durch die Basizität der Carboxylatgruppen der Liganden bestimmt wird.

Die Tatsache, daß in Figur 3 die Referenzgerade der ternären Cu^{2+} -Komplexe etwas oberhalb der Geraden der binären Komplexe verläuft, während sie sich für die Zn^{2+} -Systeme etwas unterhalb befindet, stimmt mit der allgemeinen Erfahrung überein^[24, 61–64]. Wenn keine sterischen Hinderungen vorliegen, erhält man für die Kombination einer heteroaromatischen N-Base und eines O-Liganden mit Cu^{2+} einen *positiven* Wert^[65] für $\Delta \lg K_{\text{Cu}}$ [Gl. (9)], d. h. der ternäre Komplex [Gl. (8)] ist etwas stabiler als der binäre [Gl. (2)]:

$$\begin{aligned} \Delta \lg K_M &= \lg K_{M(\text{bpy})L}^M - \lg K_{ML}^M \\ &= \lg K_{ML(\text{bpy})}^M - \lg K_{M(\text{bpy})}^M \end{aligned} \quad (9)$$

Die gleiche Ligandenkombination führt mit Zn^{2+} und den anderen Metallionen der 2. Hälfte der 3d-Reihe ebenfalls zu einer – verglichen mit der statistischen Erwartung^[66] – erhöhten Stabilität, die aber normalerweise etwas weniger ausgeprägt ist^[28, 61–64].

Aus dem unteren Teil von Figur 3 ist ersichtlich, daß die Werte der ternären $\text{Zn}(\text{bpy})^{2+}$ -Komplexe mit Propionat und Valeriat eindeutig von der Referenzgeraden abweichen, welche sich aus den Werten der entsprechenden Komplexe mit Formiat und Acetat ergibt. Ähnlich zeichnet sich auch durch die größere Steigung der Referenzgeraden im oberen Teil von Figur 3 eine schwache Stabilitätsverhöhung bei den ternären $\text{Cu}(\text{bpy})^{2+}$ -Komplexen mit Propionat und Valeriat ab. Die ternären Komplexe beider Metallionen mit α -Lipoat und 3-Phenylpropionat sind ungefähr 0.2 lg-Einheiten stabiler als sich aufgrund der Basizität der Carboxylatgruppen dieser Liganden erwarten läßt. Da alle diese Carboxylatliganden keine, oder zumindest keine einfach erreichbaren, zusätzlichen Koordinationsstellen aufweisen, kann die leichte, jedoch signifikante, Stabilitätsverhöhung der ternären Lipoat- und aliphatischen Carboxylatkomplexe *nur* auf eine intramolekulare hydrophobe Ligand-Ligand-Wechselwirkung zwischen dem aromatischen 2,2'-Bipyridyl und den aliphatischen Teilen der Carboxylatliganden zurückgeführt werden.

Für Bisnorlipoat und Tetranorlipoat ist die Situation komplizierter, da hier auch die Disulfidgruppen für eine Koordination zugänglich sind, wie von den entsprechenden binären Komplexen bekannt ist (Abschnitt 3.2). Die Stabilität und Struktur der ternären Komplexe dieser Liganden wird deshalb in Abschnitt 5 getrennt diskutiert.

4.2. Weitere Belege für intramolekulare hydrophobe Ligand-Ligand-Wechselwirkungen

Es ist heute erwiesen, daß „stacking“ (Stapel-Anordnung) aromatischer Ringsysteme und hydrophobe Wechselwirkungen zwischen aromatischen und aliphatischen Gruppen^[67] durch Metallionen-Brücken zwischen diesen Gruppen gefördert werden können, vorausgesetzt, daß auch geeignete Haftstellen für Metallionen vorhanden sind^[64, 68–70]. „Stacking“ von aromatischen Ringsystemen

in ternären Komplexen ist nicht nur in Lösung^[25, 64, 71–75], sondern auch in Festkörpern^[76–79] nachgewiesen worden. Für die hier betrachteten Komplexe ist von Bedeutung, daß intramolekulare Ligand-Ligand-Wechselwirkungen auch in den ternären Komplexen aus $\text{Zn}(\text{phen})^{2+}$ oder $\text{Cu}(\text{phen})^{2+}$ und Valeriat^[80] vorkommen, wie die Stabilitätsdaten zeigen.

Eine ideale Methode, solche hydrophoben Wechselwirkungen direkt nachzuweisen, sind $^1\text{H-NMR}$ -Messungen. Protonierung oder Metallionenkoordination führt zu einer Verschiebung der Resonanzsignale benachbarter Protonen nach *tieferem* Feld. Im Gegensatz hierzu ist in einem Komplex, in dem sich die aliphatische Kette eines Carboxylatliganden über oder unter der Ebene eines aromatischen Rings befindet, infolge des Ringstroms des aromatischen Systems^[81] eine Verschiebung der Resonanzsignale der aliphatischen Protonen nach *höherem* Feld zu erwarten (bezogen auf die Signale des nicht komplexierten Carboxylatliganden). NMR-spektroskopisch können daher die Koordination, z. B. von diamagnetischem Zn^{2+} (vgl. auch Abschnitt 3.1), und vor allem die Ligand-Ligand-Wechselwirkung innerhalb eines ternären Komplexes, der einen Liganden mit einer aromatischen Gruppe und einen mit einem aliphatischen Rest enthält, nachgewiesen werden.

Das Ausmaß der intramolekularen hydrophoben Wechselwirkung in den ternären $\text{Zn}(\text{bpy})\text{L}^{2+}$ - und $\text{Zn}(\text{phen})\text{L}^{2+}$ -Komplexen sollte von der Länge und möglicherweise auch vom Volumen des aliphatischen Teils der Carboxylatliganden L abhängen. Die Ergebnisse NMR-spektroskopischer Untersuchungen dieser Komplexe^[69] sind in Figur 4 dargestellt: Den Einfluß, den die Koordination von Zn^{2+} , $\text{Zn}(\text{bpy})^{2+}$ oder $\text{Zn}(\text{phen})^{2+}$ auf den aliphatischen Teil der Carboxylatliganden hat, ist quantitativ erfaßt, indem die *relative* Signalposition der endständigen Methylgruppe(n) der Liganden in Abhängigkeit von Zn^{2+} , $\text{Zn}(\text{bpy})^{2+}$ und $\text{Zn}(\text{phen})^{2+}$ aufgetragen wurde. Wie erwartet, führt die Koordination von Zn^{2+} zu einer Signalverschiebung

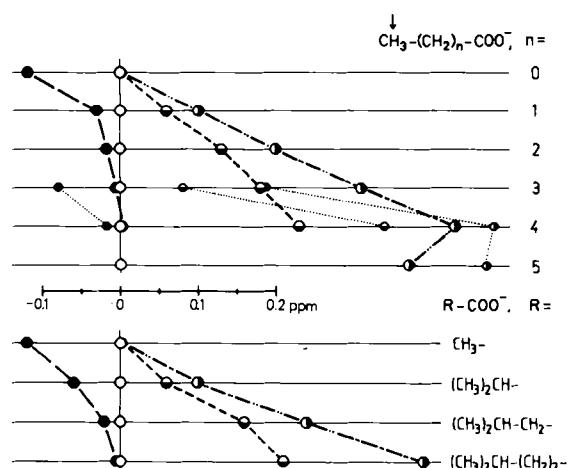


Fig. 4. Tief- und Hochfeldverschiebungen der endständigen Methylgruppe(n) in den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren von geradkettigen (oberer Teil) und verzweigten aliphatischen Carboxylatliganden (unterer Teil) unter dem Einfluß der Koordination von Zn^{2+} (●), $\text{Zn}(\text{bpy})^{2+}$ (◐) oder $\text{Zn}(\text{phen})^{2+}$ (◑), bezogen auf die Position des Resonanzsignals der nicht koordinierten Carboxylate (O). Für Pentanoat (Valeriat, $n=3$), Hexanoat ($n=4$) und Heptanoat ($n=5$) ist auch die Verschiebung der Methylengruppe, welche der endständigen Methylgruppe benachbart ist, gezeigt (kleinere Symbole, punktierte Linien). Eine Ausdehnung der beiden Serien wurde durch Unlöslichkeit der Liganden verhindert. Die Messungen wurden in H_2O bei 35°C durchgeführt. Die aufgetragenen Werte wurden aus [69] entnommen; Hochfeldverschiebungen sind positiv, Tieffeldverschiebungen negativ.

nach tieferem Feld; diese Tieffeldverschiebung nimmt mit zunehmender Entfernung zwischen der Methylgruppe und der Koordinationsstelle ab. Tatsächlich ist der Einfluß von Zn^{2+} nur bei Acetat groß. Mit zunehmender Kettenlänge nimmt er rasch ab; bei vier Kohlenstoffatomen ist er bereits klein (Butyrat und 3-Methylbutyrat) und bei längeren Ketten vernachlässigbar. Dagegen nimmt die Verschiebung nach höherem Feld durch die Koordination von $Zn(bpy)^{2+}$ und $Zn(phen)^{2+}$ mit zunehmender Kettenlänge rasch zu. Die stärkeren Hochfeldverschiebungen durch $Zn(phen)^{2+}$ sind in Einklang mit dem im Vergleich zu 2,2'-Bipyridyl größeren π -System und damit größeren Ringstrom von 1,10-Phenanthrolin.

Das Resonanzsignal der zur endständigen Methylgruppe benachbarten Methylengruppe in Pentanoat (Valeriat; $n=3$ in Fig. 4) wird durch $Zn(bpy)^{2+}$ und $Zn(phen)^{2+}$ ebenfalls hochfeldverschoben, allerdings weniger als das Methylsignal selbst (vgl. Fig. 4). Bei Hexanoat ($n=4$ in Fig. 4) ist in beiden ternären Komplexen die Verschiebung der entsprechenden Methylengruppe bereits größer, und bei Heptanoat ($n=5$) wird das Signal der Methylengruppe durch $Zn(phen)^{2+}$ ebenfalls bedeutend stärker verschoben als das der endständigen, benachbarten Methylgruppe, aber die Signale beider Gruppen werden nun weniger stark verschoben als die der entsprechenden Gruppen von Hexanoat. Für die Struktur dieser ternären Komplexe mit linearen Carboxylatliganden liegt daher der Schluß nahe, daß das beste „Arrangement“ bei $Zn(phen)^{2+}$ wahrscheinlich mit Hexanoat und bei $Zn(bpy)^{2+}$ mit Valeriat oder Hexanoat vorliegt^[69]. Eine mögliche Struktur eines solchen ternären Komplexes ist für $M(bpy)(Valeriat)^+$ in Figur 5 dargestellt.

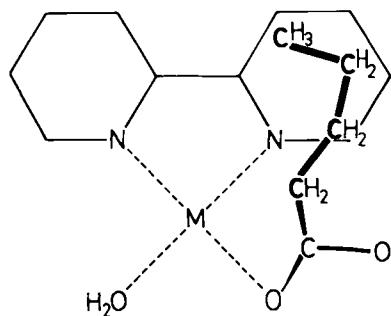


Fig. 5. Mögliche Struktur (schematisch) von $M(bpy)(Valeriat)^+$ für das Isomer mit der hydrophoben Ligand-Ligand-Wechselwirkung zwischen dem Alkylrest von Valeriat und dem aromatischen Ringsystem von 2,2'-Bipyridyl.

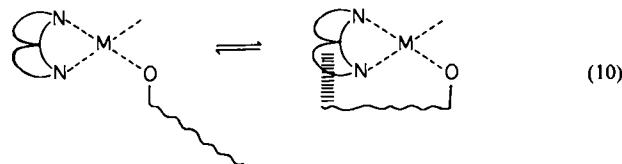
Es ist interessant festzustellen^[69], daß die Hochfeldverschiebung durch $Zn(bpy)^{2+}$ und $Zn(phen)^{2+}$ bei den Carboxylatliganden mit verzweigter aliphatischer Kette bei ähnlichem Gang etwas größer ist als diejenige bei den entsprechenden linearen Carboxylaten mit gleicher Kettenlänge (vgl. Fig. 4). Der Grund hierfür dürfte der etwas höhere Anteil an „geschlossenem“ Komplex (vgl. Abschnitt 4.3) sein, verursacht durch die im Vergleich zur Ethylgruppe erhöhte Hydrophobie der Isopropylgruppe.

Mit 1H -NMR-Messungen kann auch die Adduktbildung zwischen den aliphatischen Gruppen solcher Carboxylate und 2,2'-Bipyridyl oder 1,10-Phenanthrolin in Abwesenheit von Metallionen nachgewiesen werden. Wie erwartet, ist dann jedoch die Wechselwirkung sehr schwach, und die

Stabilitätskonstanten konnten deshalb nur geschätzt werden^[69]: $K_{(bpy)L}^{(bpy)} \approx 1 \text{ M}^{-1}$ und $K_{(phen)L}^{(phen)} \approx 2 \text{ M}^{-1}$ (in Wasser). Ähnliche Resultate wurden für die Wechselwirkung zwischen der Isopropylgruppe von L-Leucin und bpy oder phen erhalten^[70]: $K_{(bpy)_{H \cdot leu}}^{(bpy)} = 0.6 \pm 0.4 \text{ M}^{-1}$ und $K_{(phen)_{H \cdot leu}}^{(phen)} = 1.4 \pm 0.9 \text{ M}^{-1}$ (in 25proz. Methanol). Diese Ergebnisse stimmen mit theoretischen Berechnungen^[67] für die hydrophobe Wechselwirkung zwischen Leucin und Phenylalanin in wässriger Lösung bei 25 °C gut überein: $K_{(Phe)_{(Leu)}}^{(Phe)} \approx 2 \text{ M}^{-1}$.

4.3. Ausmaß der intramolekularen Ligand-Ligand-Wechselwirkungen

Unter Berücksichtigung der Befunde des vorangegangenen Abschnitts ist es leicht verständlich, warum $M(bpy)(Lipoat)^+$ -Komplexe eine erhöhte Stabilität zeigen: Die Valeriatseitenkette von α -Lipoat eignet sich ideal für hydrophobe Wechselwirkungen. Das Auftreten eines Komplexes mit der in Figur 5 gezeigten Struktur, die die leichte Stabilitätserhöhung (Fig. 3) und die beobachtete Hochfeldverschiebung der 1H -NMR-Resonanzsignale (Fig. 4) bewirkt, bedeutet nicht, daß alle ternären $M(bpy)(L)^+$ -Spezies in dieser „zusammengefalteten“ Form vorkommen. Vielmehr gibt es in Lösung sicherlich ein intramolekulares und daher konzentrationsunabhängiges Gleichgewicht zwischen einer „offenen“ und einer „geschlossenen“ Form, d. h. zwischen zwei Isomeren, wie es in Gleichgewicht (10) angedeutet ist.



Bezeichnet man diese beiden Isomere als $M(bpy)(L)_O^+$ und $M(bpy)(L)_{Hy}^+$, so ist die dimensionslose Konstante dieses Gleichgewichts durch Gl. (11) definiert:

$$K_{Hy} = [M(bpy)(L)_{Hy}]/[M(bpy)(L)_O] \quad (11)$$

Die Werte für K_{Hy} können mit Gl. (12) berechnet werden (Details vgl. ^[70]),

$$K_{Hy} = \frac{10^{\Delta \lg K_M/\exp}}{10^{\Delta \lg K_M/\text{op}}} - 1 \quad (12)$$

vorausgesetzt, die Werte von $\Delta \lg K_M/\exp$ und $\Delta \lg K_M/\text{op}$ sind bekannt [zur Definition von $\Delta \lg K_M$ vgl. Gl. (9)].

Für die vorliegenden Fälle wurde $\Delta \lg K_M/\exp$ für die ternären Komplexe aus M^{2+} , bpy und einem aliphatischen Carboxylat oder Lipoat experimentell bestimmt^[20]. Da in den $M(bpy)(HCOO)^+$ - und $M(bpy)(Ac)^+$ -Komplexen keine oder höchstens eine geringfügige intramolekulare Wechselwirkung auftritt (Fig. 3 und 4)^[69, 80], können wir die entsprechenden (experimentell bestimmten)^[20] Werte von $\Delta \lg K_M$ als $\Delta \lg K_{M/\text{op}}$ verwenden und somit K_{Hy} für die $M(bpy)(L)^+$ -Systeme berechnen. Die K_{Hy} -Werte ermöglichen die Berechnung des Anteils an „geschlossenem“ Isomer, d. h. des Komplexes mit der intramolekularen hydrophoben Wechselwirkung (Fig. 5). Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 für die ternären Komplexe mit α -Lipoat und einigen aliphatischen Carboxylaten zusammengestellt.

Tabelle 3. Schätzungen der intramolekularen dimensionslosen Gleichgewichtskonstanten K_{Hy} [Gl. (11) und (12)] und des Anteils an „geschlossenem“ Isomer [Gl. (10)] bei den ternären $M(A)(B)$ -Komplexen mit einer intramolekularen hydrophoben Ligand-Ligand-Wechselwirkung zwischen einem heteroaromatischen N-Liganden (A) und einem zweiten Liganden (B) mit einem aliphatischen Rest (50proz. wäßriges Dioxan; $I=0.1$, $NaClO_4$; $25^\circ C$) [a].

Nr. $M(A)(B)$ [a]	$\Delta \lg K_{M/\text{exp}}$	$\Delta \lg K_{M/\text{op}}$	$\Delta \Delta \lg K_M$ [Gl. (11, 12)]	K_{Hy}	$M(A)(B)_{Hy}$ [Gl. (10)]	Anteil an [%]
			[b]			
1 $Cu(bpy)(HCOO)^+$	0.04					
2 $Cu(bpy)(Ac)^+$	0.15	0.10	—	—	—	—
3 $Cu(bpy)(Prop)^+$	0.15	0.10	≈ 0.05	≈ 0.12	≈ 11	
4 $Cu(bpy)(Val)^+$	0.19	0.10	0.09	0.23	19	
5 $Cu(bpy)((+)-LP)^+$	0.34	0.10	0.24	0.74	43	
6 $Cu(bpy)((-)-LP)^+$	0.25	0.10	0.15	0.41	29	
7 $Cu(bpy)((\pm)-LP)^+$	0.24	0.10	0.14	0.38	28	
8 $Zn(bpy)(HCOO)^+$	-0.14					
9 $Zn(bpy)(Ac)^+$	-0.16	-0.12	—	—	—	—
10 $Zn(bpy)(Prop)^+$	-0.03	-0.12	0.09	0.23	19	
11 $Zn(bpy)(Val)^+$	-0.04	-0.12	0.08	0.20	17	
12 $Zn(bpy)((+)-LP)^+$	0.11	-0.12	0.23	0.70	41	
13 $Zn(bpy)((-)-LP)^+$	0.08	-0.12	0.20	0.58	37	
14 $Zn(bpy)((\pm)-LP)^+$	0.07	-0.12	0.19	0.55	35	
15 $Cu(phen)(HCOO)^+$	0.06					
16 $Cu(phen)(Ac)^+$	0.04	0.05	—	—	—	—
17 $Cu(phen)(Prop)^+$	0.10	0.05	0.05	0.12	11	
18 $Cu(phen)(Val)^+$	0.17	0.05	0.12	0.32	24	
19 $Cu(phen)(Chac)^+$	0.26	0.05	0.21	0.62	38	
20 $Zn(phen)(HCOO)^+$	-0.14					
21 $Zn(phen)(Ac)^+$	-0.16	-0.15	—	—	—	—
22 $Zn(phen)(Prop)^+$	-0.11	-0.15	0.04	0.10	9	
23 $Zn(phen)(Val)^+$	-0.02	-0.15	0.13	0.35	26	
24 $Zn(phen)(Chac)^+$	0.06	-0.15	0.21	0.62	38	

[a] Die Konstanten, aus denen $\Delta \lg K_{M/\text{exp}}$ berechnet wurde, stammen für Nr. 1–14 aus [20] und für Nr. 15–24 aus [80]. Ein Teil der Resultate, die die einfachen Carboxylatliganden betreffen, sind auch in Tabelle 3 von [29] aufgeführt. [b] $\Delta \Delta \lg K_M = \Delta \lg K_{M/\text{exp}} - \Delta \lg K_{M/\text{op}}$ (vgl. Text); d. h. dieser Wert ist der entscheidende Parameter von Gl. (12).

Zwar muß betont werden, daß die K_{Hy} -Werte und die daraus resultierenden Anteile an „geschlossenem“ Isomer in Tabelle 3 als Schätzungen zu betrachten sind, da sie aus Differenzen zwischen Stabilitätskonstanten stammen, und diese Konstanten mit einem gewissen experimentellen Fehler behaftet sind, doch muß auch gesagt werden, daß beim Gebrauch der Differenz $\Delta \Delta \lg K_M$ (vgl. Fußnote [b] in Tabelle 3) in diesen Berechnungen sich systematische Fehler zu einem großen Teil aufheben^[70]. Tatsächlich sind die Trends, die diese Resultate anzeigen, höchst plausibel, d. h. der Anteil an „geschlossenem“ Isomer nimmt mit zunehmender Kettenlänge des beteiligten aliphatischen Carboxylatliganden zu: Propionat < Valeriat < α -Lipoat. In ähnlicher Weise begünstigt auch eine Vergrößerung des aromatischen Ringsystems die hydrophobe Wechselwirkung, vorausgesetzt, die Kette des aliphatischen Carboxylats ist lang genug; so gilt z. B. für Valeriat: $M(bpy)^{2+}$ (Nr. 4, 11) < $M(phen)^{2+}$ (Nr. 18, 23). Daß eine Vergrößerung der Alkylgruppe des Carboxylats ebenfalls die „geschlossene“ Form begünstigt, ist zu erwarten; in der Tat ist die hydrophobe Wechselwirkung von $M(phen)^{2+}$ mit 2-Cyclohexylacetat (Nr. 19, 24) ausgeprägter als mit Valeriat (Nr. 18, 23).

Keine Bedeutung sollte gegenwärtig den verschiedenen Ausmaßen an intramolekularen hydrophoben Wechselwirkungen in den ternären Komplexen der optischen Isomere von α -Lipoat zugeschrieben werden; eine sehr sorgfältige Untersuchung des angedeuteten Trends wäre notwendig, bevor irgendwelche Schlüsse gezogen werden sollten. Die

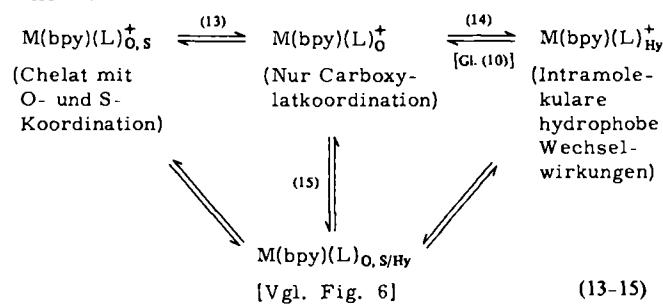
in Tabelle 3 für die $M(bpy)(\text{Lipoat})^+$ -Komplexe angegebenen Anteile an „geschlossenem“ Isomer sind denen sehr ähnlich, die kürzlich^[29] für die entsprechenden Komplexe mit (+)-Biotin berechnet wurden: 29 und 31% für $M(bpy)((+)-\text{Biotinat})_{Hy}^+$ mit $M^{2+} = Cu^{2+}$ bzw. Zn^{2+} . Dieses Resultat ist erfreulich, da beide Liganden, Lipoat und Biotinat, eine Valeriatseitenkette enthalten.

Es war zu erwarten, daß die Eigenschaften der Cu^{2+} - und Zn^{2+} -Komplexe etwas verschieden sind, bevorzugt doch Cu^{2+} eine quadratisch-planare (oder deutlich verzerrt-oktaedrische) und Zn^{2+} eine oktaedrische (oder tetraedrische) Koordinationssphäre. Diese unterschiedlichen Geometrien könnten in gewissen Fällen^[70] zu einem etwas verschiedenen Ausmaß an intramolekularer Ligand-Ligand-Wechselwirkung führen, doch scheint es, daß dies für die Systeme von Tabelle 3 kaum von Bedeutung ist.

Es ist instruktiv, die Resultate von Tabelle 3 auch von einem energetischen Standpunkt aus zu vergleichen, insbesondere unter Berücksichtigung der theoretischen Berechnungen von Scheraga^[67]. Er berechnete für die hydrophobe Wechselwirkung zwischen dem Phenylrest von Phenylalanin und der Isopropylgruppe von Leucin in wäßriger Lösung bei $25^\circ C$ $\Delta G^0 = -1.7$ kJ/mol. Zieht man den gesamten Bereich der $\Delta \Delta \lg K_M$ -Werte (0.04–0.24 lg-Einheiten) von Tabelle 3 in Betracht, so ergibt sich $\Delta G^0 = -0.23$ bis -1.4 kJ/mol. Die theoretischen und die experimentellen Daten stimmen also recht gut überein, besonders wenn man bedenkt, daß in den hier besprochenen Beispielen die aliphatische Gruppe oft nicht verzweigt ist und die Berechnungen von Scheraga auf einer sterisch optimalen Wechselwirkung beruhen. Es ist offensichtlich, daß in den ternären Komplexen die Mobilität der Liganden beeinträchtigt ist, und daß daher häufig die Wechselwirkung nicht unter den sterisch günstigsten Bedingungen erfolgen wird.

5. Gibt es Isomerengleichgewichte, bei denen Disulfidkoordination und hydrophobe Wechselwirkungen eine Rolle spielen?

In den binären Komplexen von Bisnor- und Tetrnorlipoat ist die Disulfidgruppe an der Koordination durch die Bildung von sieben- bzw. fünfgliedrigen Chelaten beteiligt (Abschnitt 3.2). Diese Liganden enthalten jedoch auch einen aliphatischen Teil mit fünf bzw. drei Kohlenstoffatomen; nach den Resultaten der Abschnitte 4.2 und 4.3 genügt dies für eine hydrophobe Wechselwirkung mit dem aromatischen System von 2,2'-Bipyridyl in den ternären $M(bpy)L^+$ -Komplexen. Somit werden – zumindest theoretisch – folgende intramolekulare Gleichgewichte möglich^[*]:



[*] Nimmt man an, daß die Gleichgewichte (13) und (14) vorkommen, so kann Gl. (8) als Gl. (16) reformuliert werden:

Ausgehend von diesem Schema können wir nun die erhöhte Stabilität (Fig. 3) der ternären Komplexe $M(bpy)L^+$, in denen L Bisnorlipoat, Tetranorlipoat, Tetrahydrothiophen-2-carboxylat oder 3-Phenylpropionat ist, diskutieren. In den ternären Komplexen des zuletzt genannten Liganden ist nur ein „stacking“ der aromatischen Ringsysteme möglich, da dieser Ligand außer der Carboxylatgruppe keine Haftstelle für Metallionen hat¹¹. Ein Vergleich der Stabilitätserhöhung für $M(bpy)(Pp)^+$ mit derjenigen von $M(bpy)(BL)^+$ ergibt sowohl für Cu^{2+} als auch für Zn^{2+} , daß die ternären Bisnorlipoatkomplexe stabiler sind (Fig. 3). Da intramolekulare hydrophobe Wechselwirkungen weniger ausgeprägt sind als das „stacking“ aromatischer

[*] Dementsprechend vereinfacht sich Gl. (19) zu $K_{I(tot)} = K_{Hy}$.

Ringsysteme (hydrophobe Wechselwirkungen tragen weniger zur Gesamtstabilität bei^[70]), muß in den ternären Komplexen $M(bpy)(BL)^+$ auch eine Metallion-Disulfid-Wechselwirkung existieren, die den zusätzlichen Stabilitätsanstieg verursacht.

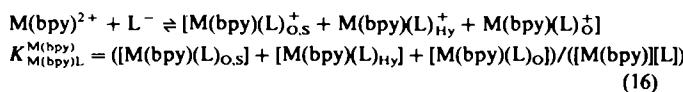
Ein weiterer relativ klarer Fall ist $Cu(bpy)(Thtc)^+$: Bedingt durch die quadratisch-planare Koordinationssphäre des Metallions kann chelatisiertes Tetrahydrothiophen-2-carboxylat nicht gleichzeitig eine Ligand-Ligand-Wechselwirkung mit dem ebenfalls koordinierten 2,2'-Bipyridyl eingehen. Außerdem sollte die Cu^{2+} -Sulfid-Wechselwirkung in binären und ternären Komplexen ungefähr gleich groß sein^[62], d. h. $\Delta \lg K_{Cu} \approx 0$. Tatsächlich ist z. B. für $Cu(bpy)(CH_3CH_2-S-CH_2COO)^+$ $\Delta \lg K_{Cu} = -0.01^{[82]}$ und für $Cu(bpy)(Thtc)^+$ $\Delta \lg K_{Cu} = 0.01^{[21]}$. Somit kann

Tabelle 4. Intramolekulare Isomerengleichgewichte in den ternären Komplexen $M(bpy)(L)^+$ unter Beteiligung einer S-Koordination und/oder hydrophober Wechselwirkungen (50proz. wäßriges Dioxan; $I = 0.1$, $NaClO_4$; $25^\circ C$) [a, b].

$M(bpy)(L)^+$	$\lg K_{M(bpy)L}^{M(bpy)}$ [Gl. 8, 18]	$\lg \Delta$ [c]	$K_{I(tot)}$ [Gl. (19, 20)]	Anteil an $M(bpy)(L)_{I(tot)}^+$ [%]	$M(bpy)(L)_{O,S}^+$ [Gl. (13)]	$M(bpy)(L)_{Hy}^+$ [Gl. (10, 14)]	$M(bpy)(L)_{O,S/Hy}^+$ [Gl. (15)]	$M(bpy)(L)_{O}^+$ [%]
$Cu(bpy)(Thtc)^+$	4.32 ± 0.03	1.07	11	92 ± 1 (1)	92	—	—	8
$Cu(bpy)(\pm\text{-}TL)^+$	3.38 ± 0.04	0.44	1.8	64 ± 3 (5)	41	23	—	36
$Cu(bpy)(Bnz)^+$	3.58 ± 0.03	0.18	0.51	34 ± 5 (8)	—	34	—	66
$Cu(bpy)(\pm\text{-}BL)^+$	3.76 ± 0.02	0.32	1.1	52 ± 2 (4)	41	11	—	48
$Cu(bpy)(Pp)^+$	3.75 ± 0.02	0.26	0.82	45 ± 3 (5)	—	45	—	55
$Zn(bpy)(Thtc)^+$	2.30 ± 0.03	0.23	0.70	41 ± 4 (7)	—	41	—	59
$Zn(bpy)(\pm\text{-}TL)^+$	2.09 ± 0.03	0.23	0.70	41 ± 4 (7)	—	41	—	59
$Zn(bpy)(Bnz)^+$	2.40 ± 0.03	0.17	0.48	32 ± 5 (8)	—	32	—	68
$Zn(bpy)(\pm\text{-}BL)^+$	2.61 ± 0.04	0.40	1.5	60 ± 4 (6)	—	60	—	40
$Zn(bpy)(Pp)^+$	2.50 ± 0.01	0.25	0.78	44 ± 1 (4)	—	44	—	56

[a] Diese Resultate wurden aus publizierten Daten [20–22, 25] berechnet; vgl. auch Fig. 3. Die mit $\lg K_{M(bpy)L}^{M(bpy)}$ angegebenen Fehlerrgrenzen entsprechen der dreifachen Standardabweichung des Mittelwerts; vgl. auch Fußnote [b] von Tabelle 2. [b] Die kursiv gedruckten Zahlen sind vorläufige Zuweisungen. [c] Dies ist der entscheidende Parameter von Gl. (20). Für die ternären Cu^{2+} -Komplexe wurde diese Differenz zwischen den experimentellen Werten und der „Vergleichsgeraden“ der binären Komplexe (vgl. den oberen Teil von Fig. 3) unter Abzug von 0.10 \lg -Einheiten (– Durchschnitt der $\Delta \lg K_{Cu}$ -Werte von $Cu(bpy)(HCOO)^+$ und $Cu(bpy)(Ac)^+$; vgl. Tabelle 3) berechnet; mit diesem Abzug wurde die Tatsache, daß sich ternäre Komplexe bilden, in Rechnung gestellt. Für die ternären Zn^{2+} -Komplexe entsprechen die für $\lg \Delta$ angegebenen Werte der Differenz zwischen den experimentellen Daten und der zugehörigen „Vergleichsgeraden“ (unterer Teil von Fig. 3).

(Fortsetzung der Anmerkung von Seite 428 rechts unten)



Mit Gl. (16), $K_{M(bpy)L}^{M(bpy)}$ (d. h. der Bildungskonstante der einfachen carboxylatkoordinierten Spezies), K_{Hy} [Gl. (11)] und $K_{O,S}$ [Gl. (17); vgl. Gl. (13)] kann Gl. (18) abgeleitet werden [35, 60, 70]:

$$K_{O,S} = [M(bpy)(L)_{O,S}^+] / [M(bpy)(L)_O^+] \quad (17)$$

$$K_{M(bpy)L}^{M(bpy)} = K_{M(bpy)(L)_O^+}^{M(bpy)} (1 + K_{O,S} + K_{Hy}) \quad (18)$$

Die Schwierigkeit wird hier sicher sein, die intramolekularen Konstanten $K_{O,S}$ und K_{Hy} unabhängig voneinander zu bestimmen, während es einfacher sein sollte, ihre Summe zu erhalten, d. h. diejenige Konstante, die der gesamten intramolekularen Wechselwirkung entspricht:

$$K_{I(tot)} = K_{O,S} + K_{Hy} \quad (19)$$

Offensichtlich ist $K_{I(tot)}$ auch die Gleichgewichtskonstante für Gl. (15), falls die gesamte Disulfidkoordination und hydrophobe Wechselwirkung im selben ternären Komplex vorkommen, d. h. wenn Gl. (13) und Gl. (14) nicht existieren. Sollten hingegen die Gleichgewichte (13), (14) und (15) gleichzeitig bestehen, dann wird die Situation noch komplizierter.

Aus Gl. (18) und (19) folgt Gl. (20):

$$K_{I(tot)} = \frac{K_{M(bpy)L}^{M(bpy)}}{K_{M(bpy)(L)_O^+}^{M(bpy)}} - 1 \quad (20)$$

Gl. (20) kann nun für Berechnungen analog zu Gl. (6) verwendet werden.

wohl der gesamte Stabilitätsanstieg, der für diesen ternären Komplex zu beobachten ist (Fig. 3), einer Cu^{2+} -Sulfid-Wechselwirkung zugeschrieben werden: Der Komplex liegt zu 92% als chelatisiertes $Cu(bpy)(Thtc)_{O,S}^+$ -Isomer vor (Tabelle 4); tatsächlich ist dies innerhalb der Fehlerrgrenze der gleiche Anteil, der für die binäre $Cu(Thtc)_{O,S}^+$ -Spezies errechnet wurde (93%, Tabelle 2).

Betrachtet man nun nochmals $Cu(bpy)(BL)^+$ ($\Delta \lg K_{Cu} = +0.18^{[20]}$), in dem zusätzlich zur Metallion-Disulfidkoordination eine hydrophobe Ligand-Ligand-Wechselwirkung existiert, so ist anzunehmen, insbesondere unter Berücksichtigung der Resultate mit $Cu(bpy)(Thtc)^+$, daß die Cu^{2+} -Disulfid-Wechselwirkung ungefähr so stark ist wie in $Cu(BL)^+$. Mit dieser Annahme wurden die in Tabelle 4 angegebenen Anteile an $Cu(bpy)(BL)_{O,S}^+$, $Cu(bpy)(BL)_{Hy}^+$ und $Cu(bpy)(BL)_O^+$ versuchsweise abgeschätzt. Die entsprechenden Argumente können auch auf das $Cu(bpy)(TL)^+$ -System angewendet werden ($\Delta \lg K_{Cu} = +0.31^{[20]}$), wenn man die Resultate für $Cu(bpy)(Benzoat)^+$ in Betracht zieht. Wiederum ist zu schließen, daß beide Wechselwirkungstypen auftreten, d. h. daß Gleichgewichte (13) und (14) wichtig sind. Die resultierenden vorläufigen Schätzungen der Anteile der Isomere sind ebenfalls in Tabelle 4 aufgeführt.

Ein weiterer Aspekt muß bei $\text{Cu}(\text{bpy})(\text{BL})^+$ und $\text{Cu}(\text{bpy})(\text{TL})^+$ erwähnt werden: Nimmt man an, daß auch eine apicale Cu^{2+} -Disulfidkoordination vorkommt, dann wird eine gleichzeitige hydrophobe Wechselwirkung möglich (siehe unten und Fig. 6). In Kristallen des Kupferkomplexes von oxidiertem Glutathion wurde kürzlich eine solche apicale (axiale) Koordination der Disulfidbrücke nachgewiesen^[83], doch deutet die lange Cu—S-Distanz von 3.22 Å darauf hin, daß diese Wechselwirkung schwach ist und in wässriger Lösung wahrscheinlich nicht existiert. Trotzdem kann das spurenhafe Auftreten der Isomere $\text{Cu}(\text{bpy})(\text{BL})_{\text{O.S/Hy}}^+$ und $\text{Cu}(\text{bpy})(\text{TL})_{\text{O.S/Hy}}^+$ zur Zeit nicht ausgeschlossen werden.

Für den ternären Komplex $\text{Zn}(\text{bpy})(\text{BL})^+$ wurde bereits gefolgt, daß es beide Wechselwirkungstypen geben muß, und die entsprechenden Argumente gelten auch für $\text{Zn}(\text{bpy})(\text{TL})^+$ und $\text{Zn}(\text{bpy})(\text{Thc})^+$. Die Stabilitätszunahmen (Fig. 3; Tabelle 4) können nicht *allein* einer hydrophoben Wechselwirkung *oder* einer Disulfidkoordination zugeschrieben werden (vgl. mit den Daten der Tabelle 2). Bei der oktaedrischen (oder tetraedrischen) Koordinationsphäre von Zn^{2+} ist jedoch gleichzeitig eine Disulfidkoordination (ungefähr senkrecht zum Ring)^[29, 46, 84] und eine hydrophobe Wechselwirkung möglich (was auch an Molekülmodellen evident wird); diese Situation ist in Figur 6 dargestellt. Da diese Struktur energetisch günstiger sein sollte als $\text{Zn}(\text{bpy})(\text{L})_{\text{O.S}}^+$ und $\text{Zn}(\text{bpy})(\text{L})_{\text{Hy}}^+$, wurde in Tabelle 4 angenommen, daß diese Isomere nur in Spuren auftreten, während $\text{M}(\text{bpy})(\text{L})_{\text{O.S/Hy}}^+$ das dominierende Isomer ist.

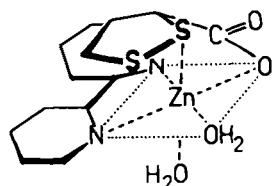


Fig. 6. Mögliche Struktur (schematisch) eines Isomers mit einer Zn^{2+} -Disulfidkoordination und einer hydrophoben Ligand-Ligand-Wechselwirkung im ternären Komplexsystem aus Zn^{2+} , 2,2'-Bipyridyl und Tetranorlipoat.

Abschließend ist festzustellen, daß bei den Mischligand-Komplexen mit Bisnorlipoat oder Tetranorlipoat Isomereengleichgewichte auftreten, bei denen sowohl die Metallion-Disulfidkoordination als auch die hydrophoben Ligand-Ligand-Wechselwirkungen wichtig sind. Es ist aber auch klar, daß gegenwärtig die Anteile der einzelnen Isomere nur ungefähr bestimmt werden können.

6. Schlußfolgerungen über die Eigenschaften der Lipoylgruppe

Ist Liponsäure an ein Protein als Amid gebunden^[1, 8], so wird die 1,2-Dithiolangruppe doch recht flexibel bleiben. Bis jetzt ist nicht bekannt, ob eine Metallion-Disulfid-Wechselwirkung in biochemischen Reaktionen vorkommt, an denen die Lipoylgruppe beteiligt ist, aber unsere Befunde (Abschnitt 3) zeigen, daß diese Möglichkeit in Betracht gezogen werden sollte. Über solch eine schwache Wechselwirkung könnte der aktive Enzym-Substrat-Komplex entstehen. Die unterschiedliche Elektronendichte an den beiden Schwefelatomen (Abschnitt 3.1)^[52] führt dazu,

daß ein Metallion, falls sterisch möglich, bevorzugt an S1 koordiniert wird; dies schafft ein Elektronendefizit an S2, was einen Hydrid-Transfer von einem Substrat beträchtlich erleichtern könnte. Das Resultat wäre ein Bruch der S-S-Brücke und die Bildung der reduzierten Spezies Dihydroliponsäure. Es liegt auf der Hand, daß anstatt eines Hydrids auch jede andere passende Gruppe zu einer solchen Metallion-aktivierten Spezies transferiert werden kann.

Die Reduktion der Disulfidbrücke der Lipoylgruppe führt zu zwei RS⁻-Gruppen, die – in Übereinstimmung mit allgemeinen Beobachtungen^[85] – für die meisten Metallionen^[17] viel stärkere Haftstellen sind. Dies ist wahrscheinlich der Grund, weshalb Liponsäure bei der Behandlung von Schwermetallvergiftungen verwendet werden konnte^[1, 14, 15, 17].

Die sterisch richtige „Fixierung“ der Lipoylgruppe an der Oberfläche des Proteins könnte durch hydrophobe Wechselwirkungen weiter gefördert oder eventuell sogar nur durch sie erreicht werden (d. h. ohne eine Metallion-Schwefel-Koordination). Aus Abschnitt 4 (und 5) ist ersichtlich, daß eine intramolekulare Ligand-Ligand-Wechselwirkung dieser Art in Mischligand-Komplexen vorkommt, die außer der Lipoylgruppe noch ein aromatisches Ringsystem enthalten. In Enzymsystemen scheint eine entsprechende Wechselwirkung, z. B. zwischen dem Tryptophanylrest und der Valeriatkette der Lipoylgruppe sehr wohl möglich. Außerdem scheint der Bedarf für eine sterisch „korrekte Ausrichtung“ der Lipoylgruppe gegeben zu sein: In den Pyruvat- und α -Ketoglutarat-Dehydrogenase-Komplexen^[8] von *Escherichia coli* ist die Carboxygruppe von Liponsäure an eine ϵ -Aminogruppe einer Lysyleinheit des Proteins amidegebunden, was zu einem beweglichen Arm von ungefähr 14 Å Länge führt, an dem der reaktive Dithiolanring hängt. Auch die Lysylseitenkette ist hydrophob^[29]. Eine schematische Darstellung der möglichen Rotation einer solchen Lipoyllsylgruppe innerhalb eines Multienzymkomplexes ist in Figur 7 gezeigt.

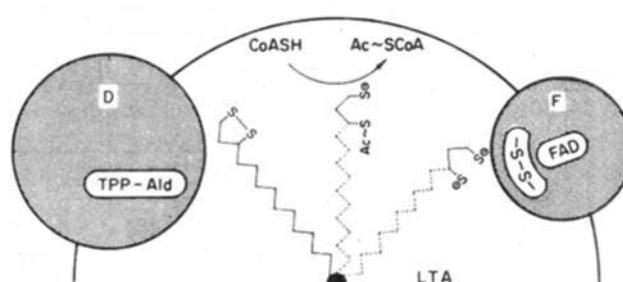


Fig. 7. Schematische Darstellung (nach Reed [8]) der möglichen Rotation einer Lipoyllsylkettenmolekül zwischen an Pyruvat-Dehydrogenase (D) gebundem α -Hydroxyethylthiaminpyrophosphat (TPP-Ald), der Acetyltransferase mit CoA (Coenzym A) und dem reaktiven Disulfid des Flavoproteins (F). Die Lipoyllsylgruppe ist ein integraler Bestandteil der Dihydrolipoyl-Transacetylase (LTA). Reproduziert mit Erlaubnis des Autors und der American Chemical Society.

Es scheint, daß die dynamischen Faktoren, welche an Lipoyl-enzymatischen Prozessen beteiligt sind, bestimmte strukturelle Gegebenheiten benötigen (Fig. 7). Es ist aber ebenfalls klar, daß diese strukturellen Bedingungen leicht zu standekommen sollten, um die Umwandlung des Dithiolanrings in einem Kreisprozeß zu ermöglichen. Die hier beschriebene Metallion-Disulfidkoordination und die hydro-

phobe Wechselwirkung scheinen diese Bedingung vom energetischen Gesichtspunkt aus zu erfüllen. Die Werte für $\lg \Delta$ (Tabelle 2 und 4) und $\Delta \Delta \lg K_M$ (Tabelle 3) reichen von 0.04 bis 0.44 lg-Einheiten und entsprechen $\Delta G^0 = -0.23$ bis -2.5 kJ/mol. Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die Lipoylgruppe auf vielseitige Weise mit anderen Molekülen oder Ionen in Wechselwirkung treten kann.

7. Ausblick

Was haben wir nun – vom Spezialfall Liponsäure einmal abgesehen – gelernt? Läßt sich das Erörterte verallgemeinern? Nun, Metallionen sind häufig und sie spielen im biologischen Geschehen eindeutig eine wichtige Rolle^[19]. Wood hat dies – wohl bewußt etwas überspitzt – so formuliert^[86]: „If you think that biochemistry is the organic chemistry of living systems, then you are misled; *biochemistry is the coordination chemistry of living systems*“. Tatsächlich ist eine Wechselwirkung zwischen Metallionen und Disulfid- oder Sulfidgruppen zu erwarten, da diese Gruppen – sie treten z. B. in Cystin^[39], Liponsäure, der oxidierten Form von Glutathion^[40], Methionin^[39, 87], S-Methylcystein^[39, 87], Penicillin^[87] und (+)-Biotin^[29] auf – recht häufig anzutreffen sind. Das bekannteste Beispiel ist vermutlich die Cu^{2+} -Koordination an die Sulfidgruppe eines Methionylrestes in Plastocyanin, einem „blauen“ Kupferprotein^[88].

Daß eine Wechselwirkung solcher schwefelhaltiger Gruppen auch mit anderen biologisch wichtigen, aber verglichen mit Cu^{2+} schwächer^[30, 89] koordinierenden Metallionen wie Zn^{2+} und Mn^{2+} , ja eventuell sogar Mg^{2+} und Ca^{2+} , zu erwarten ist, wird aus den in diesem Beitrag zusammengefaßten Ergebnissen deutlich. Entscheidend ist dabei, daß die *Stabilität des Komplexes* sehr wohl durch die Koordination z. B. an eine Carboxylatgruppe bestimmt werden kann, daß aber die *Struktur des Komplexes* durch eine sich in einer sterisch günstigen Position befindende Sulfid- oder Disulfidgruppe festgelegt wird. Diese Metallion-Schwefel-Wechselwirkung führt zu *intramolekularen* Gleichgewichten zwischen Isomeren; die Lage dieser Gleichgewichte ist dabei von der Konzentration unabhängig! Sollte ein solches Isomer dank einer bestimmten Struktur das reaktive Substrat für eine bestimmte Reaktion sein, so kann ein „fließender“ Prozeß oder auch ein Kreisprozeß relativ leicht aufrecht erhalten werden, da die für die Umwandlung der Isomere benötigte Energie gering ist. Für eine Verschiebung der Gleichgewichtslage zwischen solchen Isomeren genügt bereits eine Änderung der Wasserstruktur, wie sie z. B. an der Oberfläche eines Proteins stattfindet. Es wird nicht einfach sein, eine derartig schwache Wechselwirkung zwischen Metallionen und Sulfid- oder Disulfidgruppen nachzuweisen, aber ein gezieltes Suchen scheint nun möglich und auch lohnend.

Ganz Ähnliches gilt für die ebenfalls strukturierend wirkenden hydrophoben Wechselwirkungen, die zwischen aliphatischen oder aromatischen sowie zwischen aliphatischen und aromatischen Gruppen auftreten können^[67]. Für solche Wechselwirkungen sind z. B. die Purinbasen einiger Nucleotide^[72-76, 90], der Indolrest von Tryptophan^[72, 75], oder die Isopropylgruppe von Leucin^[70] besonders geeignet. Tatsächlich wurden entsprechende Ligand-Ligand-

Wechselwirkungen in ternären Komplexen bereits nachgewiesen und die Lage der intramolekularen Gleichgewichte teilweise abgeschätzt^[64, 70, 91]. Kürzlich wurde an Cr^{3+} - und Co^{3+} -Komplexen gezeigt^[92], daß solche hydrophoben Wechselwirkungen die Stereoselektivität bestimmen können.

Das Zusammenspiel hoch- und niedermolekularer Liganden durch die beschriebenen Wechselwirkungen wird aus folgendem Beispiel deutlich. Carboanhydrase ist ein Zink-Metalloenzym, dessen aktives Zentrum sich in einer Proteineinbuchtung mit hydrophoben Eigenschaften befindet^[93, 94]; dieses Enzym wird durch monoanionische Sulfonamide gehemmt^[93, 95, 96], wobei diejenigen mit einem aromatischen Rest besonders wirksam sind, was auf hydrophobe Wechselwirkungen hinweist^[96]. Es ist bemerkenswert, daß auch das Apoenzym Sulfonamide – z. B. Acetazolamid (2-Acetylarnino-1,3,4-thiadiazol-5-sulfonamid) – bindet, wenn auch mit einer um einen Faktor 1000 geringeren Affinität^[95]; tatsächlich koordinieren Monoanionen^[93, 94], einschließlich derjenigen von Sulfonamiden^[97], auch das Metallion^[96]. Der hier beobachtete kooperative Effekt läßt sich mit den an niedermolekularen ternären Komplexen gewonnenen Erfahrungen erklären: *Erstens* ist die Kombination der an das Metallion koordinierten Donorgruppen wichtig; dabei können insbesondere Imidazolgruppen eine Stabilitäts erhöhende Rolle spielen^{[61-62](*)} – und solche Gruppen sind an Zn^{2+} in Carboanhydrase auch koordiniert^[62, 93]. *Zweitens* erhöhen hydrophobe Wechselwirkungen^[70, 91], wie sie hier beschrieben wurden, die Komplexstabilität. Beide Phänomene zusammen verursachen sicherlich viele der in biologischen Systemen beobachteten kooperativen Effekte.

Dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung danke ich für Unterstützung unserer Arbeiten.

Eingegangen am 2. Juni 1981 [A 412]

[*] Die Kombination von heteroaromatischen N-Basen und O-Donorligandengruppen (oder Gruppen mit O-Donor-ähnlichen Eigenschaften, wie z. B. dem Stickstoff in $\text{R}-\text{C}(\text{O})\text{NH}^-$ [62]) führt in ternären Komplexen von Mn^{2+} , (Fe^{2+}) , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} oder Zn^{2+} zu einer erhöhten Stabilität [61-65].

- [1] U. Schmidt, P. Grafen, H. W. Goedde, *Angew. Chem.* 77 (1965) 900; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 4 (1965) 846.
- [2] B. M. Guirard, E. E. Snell, R. J. Williams, *Arch. Biochem. Biophys.* 9 (1946) 381.
- [3] L. Kline, H. A. Barker, *J. Bacteriol.* 60 (1950) 349.
- [4] L. J. Reed, B. G. DeBusk, I. C. Gunsalus, C. S. Hornberger, Jr., *Science* 114 (1951) 93.
- [5] M. W. Bullock, J. A. Brockman, Jr., E. L. Patterson, J. V. Pierce, E. L. R. Stokstad, *J. Am. Chem. Soc.* 74 (1952) 3455.
- [6] L. J. Reed, I. C. Gunsalus, G. H. F. Schnakenberg, Q. F. Soper, H. E. Boaz, S. F. Kern, T. V. Parke, *J. Am. Chem. Soc.* 75 (1953) 1267.
- [7] D. B. McCormick in D. Cavallini, G. E. Gaul, V. Zappia: *Natural Sulfur Compounds*, Plenum Publ. Corp., New York 1980, S. 423 ff.
- [8] L. J. Reed, *Acc. Chem. Res.* 7 (1974) 40.
- [9] F. Huch, *Angew. Chem.* 87 (1975) 614; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 14 (1975) 591.
- [10] J. H. Collins, L. J. Reed, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74 (1977) 4223.
- [11] D. E. Griffiths, K. Cain, R. L. Hyams, *Biochem. Soc. Trans.* 5 (1977) 205.
- [12] F. H. Pettit, T. E. Roche, L. J. Reed, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 49 (1972) 563.
- [13] E. A. Siess, O. H. Wieland, *Eur. J. Biochem.* 26 (1972) 96.
- [14] R. R. Grunert, *Arch. Biochem. Biophys.* 86 (1960) 190; R. R. Grunert, E. L. Rohdenburg, *ibid.* 86 (1960) 185.

[15] S. Maruyama, M. Hachisuka, H. Iwanaga, Y. Ino, S. Ogasawara, S. Yamada, *Showa Igakkai Zasshi* 37 (1977) 449; *Chem. Abstr.* 90 (1979) 115983y.

[16] P. R. Brown, J. O. Edwards, *Biochemistry* 8 (1969) 1200.

[17] P. R. Brown, J. O. Edwards, *J. Inorg. Nucl. Chem.* 32 (1970) 2671.

[18] R. Peters, M. Shorthouse, J. M. Walmsley, *Proc. R. Soc. London Ser. B* 166 (1966) 285; *Chem. Abstr.* 66 (1967) 27442v.

[19] H. Sigel: *Metal Ions in Biological Systems*, Vol. 1-14, Marcel Dekker, New York 1973-1982, wird fortgesetzt.

[20] H. Sigel, B. Prijs, D. B. McCormick, J. C. H. Shih, *Arch. Biochem. Biophys.* 187 (1978) 208.

[21] H. Sigel, D. B. McCormick, R. Griesser, B. Prijs, L. D. Wright, *Biochemistry* 8 (1969) 2687.

[22] R. Griesser, B. Prijs, H. Sigel, *Inorg. Nucl. Chem. Letters* 4 (1968) 443.

[23] Der bei den Bestimmungen verwendete Grundelektrolyt scheint die Aciditätskonstanten leicht zu beeinflussen: Mit NaClO_4 [20-22] ($\text{I} = 0.1$) sind die Werte für $\text{pK}_{\text{HL}}^{\text{H}}$ um ca. 0.1 lg-Einheiten (oder weniger) größer als mit NaNO_3 [24] (vgl. auch Fig. 2).

[24] H. Sigel, B. Prijs, D. B. McCormick, *J. Inorg. Nucl. Chem.* 40 (1978) 1678.

[25] E. Farkas, B. E. Fischer, R. Griesser, V. M. Rheinberger, H. Sigel, *Z. Naturforsch. B* 34 (1979) 208.

[26] A. E. Martell, M. Calvin: *Chemistry of the Metal Chelate Compounds*, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N. J. 1952.

[27] H. Sigel, T. Kaden, *Helv. Chim. Acta* 49 (1966) 1617.

[28] D. Banerjea, T. Kaden, H. Sigel, *Inorg. Chem.* 20 (1981) 2586.

[29] H. Sigel, *Experientia* 37 (1981) 789.

[30] H. Sigel, D. B. McCormick, *Acc. Chem. Res.* 3 (1970) 201.

[31] J. C. H. Shih, L. D. Wright, D. B. McCormick, *J. Bacteriol.* 112 (1972) 1043.

[32] H.-H. Chang, M. L. Rozo, D. B. McCormick, *Arch. Biochem. Biophys.* 169 (1975) 244.

[33] J. T. Spence, D. B. McCormick, *Arch. Biochem. Biophys.* 174 (1976) 13.

[34] H. C. Furr, H.-H. Chang, D. B. McCormick, *Arch. Biochem. Biophys.* 185 (1978) 576.

[35] H. Sigel, K. H. Scheller, V. M. Rheinberger, B. E. Fischer, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 1980, 1022.

[36] R. G. Pearson, *J. Chem. Educ.* 45 (1968) 581, 643.

[37] C.-I. Brändén, *Acta Chem. Scand.* 21 (1967) 1000.

[38] L. G. Warner, T. Ottersen, K. Seff, *Inorg. Chem.* 13 (1974) 2819.

[39] R. B. Martin, *Met. Ions Biol. Syst.* 9 (1979) 1; vgl. [19].

[40] D. L. Rabenstein, R. Guevremont, C. A. Evans, *Met. Ions Biol. Syst.* 9 (1979) 103; vgl. [19].

[41] R. Cecil, J. R. McPhee, *Biochem. J.* 66 (1957) 538; *Adv. Protein Chem.* 14 (1959) 255.

[42] S. Blackburn, F. Challenger, *J. Chem. Soc.* 1938, 1872.

[43] M. M. David, R. Sperling, I. Z. Steinberg, *Biochim. Biophys. Acta* 359 (1974) 101.

[44] H. Sigel, V. M. Rheinberger, B. E. Fischer, *Inorg. Chem.* 18 (1979) 3334.

[45] G. Bergson, *Ark. Kemi* 12 (1958) 233.

[46] D. B. Boyd, *Theor. Chim. Acta* 30 (1973) 137; *J. Phys. Chem.* 78 (1974) 1554.

[47] J. P. Snyder, L. Carlsen, *J. Am. Chem. Soc.* 99 (1977) 2931.

[48] P. Bonvicini, A. Levi, V. Lucchini, G. Modena, G. Scorrano, *J. Am. Chem. Soc.* 95 (1973) 5960.

[49] P. Bonvicini, A. Levi, V. Lucchini, G. Scorrano, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II* 1972, 2267.

[50] H. E. Van Wart, H. A. Scheraga, *J. Phys. Chem.* 80 (1976) 1812, 1823.

[51] H. E. Van Wart, H. A. Scheraga, R. B. Martin, *J. Phys. Chem.* 80 (1976) 1832.

[52] H. Bock, U. Stein, A. Semkow, *Chem. Ber.* 113 (1980) 3208.

[53] R. M. Stroud, C. H. Carlisle, *Acta Crystallogr. B* 28 (1972) 304.

[54] G. T. DeTitta, J. W. Edmonds, W. Stallings, J. Donohue, *J. Am. Chem. Soc.* 98 (1976) 1920.

[55] I. C. Gunsalus, L. S. Barton, W. Gruber, *J. Am. Chem. Soc.* 78 (1956) 1763.

[56] M. Takagi, S. Goto, T. Matsuda, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1976, 92.

[57] M. Takagi, *Methods Enzymol.* 62 (1979) 145.

[58] W. H. Rastetter, J. Adams, J. W. Frost, L. J. Nummy, J. E. Frommer, K. B. Roberts, *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 2752.

[59] H. Sigel, K. H. Scheller, *J. Inorg. Biochem.*, im Druck.

[60] Y. H. Mariam, R. B. Martin, *Inorg. Chim. Acta* 35 (1979) 23.

[61] H. Sigel, *Met. Ions Biol. Syst.* 2 (1973) 63; vgl. [19].

[62] H. Sigel, B. E. Fischer, B. Prijs, *J. Am. Chem. Soc.* 99 (1977) 4489.

[63] H. Sigel, *Inorg. Chem.* 19 (1980) 1411.

[64] H. Sigel: *Stability, Structure and Reactivity of Mixed Ligand Complexes in Solution*, in D. Banerjea: *Conf. Vol. 20. Int. Conf. Coord. Chem.*, Pergamon Press, New York 1980, S. 27ff.

[65] H. Sigel, *Angew. Chem.* 87 (1975) 391; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 14 (1975) 394.

[66] Für die Koordination eines zweizähnigen Liganden, gefolgt von einem einzähnigen, an eine regelmäßige oktaedrische Koordinationsphäre ergibt sich aus statistischen Überlegungen [65] $\Delta \lg K_{\text{oh}} = \lg(4:1/6:1) = -0.18$; nimmt man an, daß Zn^{2+} in diesen ternären Komplexen keine oktaedrische, sondern eher eine tetraedrische Koordinationsphäre hat, so ergibt sich $\Delta \lg K_{\text{oh}} = \lg(2:1/4:1) = -0.3$. Für die verzerrt oktaedrische Koordinationsphäre von Cu^{2+} ist es schwieriger, einen statistischen Wert zu bestimmen [65]; d. h. $\Delta \lg K_{\text{Cu/dec}} \approx -0.3$, aber der Wert könnte auch so hoch wie 0.0 oder so tief wie -0.48 lg-Einheiten sein.

[67] H. A. Scheraga, *Acc. Chem. Res.* 12 (1979) 7.

[68] P. R. Mitchell, H. Sigel, *Angew. Chem.* 88 (1976) 585; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 15 (1976) 548.

[69] P. R. Mitchell, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 1979, 771.

[70] B. E. Fischer, H. Sigel, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 2998.

[71] C. F. Naumann, B. Prijs, H. Sigel, *Eur. J. Biochem.* 41 (1974) 209; C. F. Naumann, H. Sigel, *J. Am. Chem. Soc.* 96 (1974) 2750.

[72] H. Sigel, C. F. Naumann, *J. Am. Chem. Soc.* 98 (1976) 730.

[73] R. Basosi, E. Gaggelli, E. Tiezzi, *J. Chem. Res. (S)* 1977, 278.

[74] P. R. Mitchell, H. Sigel, *J. Am. Chem. Soc.* 100 (1978) 1564.

[75] P. R. Mitchell, B. Prijs, H. Sigel, *Helv. Chim. Acta* 62 (1979) 1723.

[76] a) K. Aoki, *J. Am. Chem. Soc.* 100 (1978) 7106; b) *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1979, 589.

[77] R. W. Gellert, R. Bau, *Met. Ions Biol. Syst.* 8 (1979) 1; vgl. [19].

[78] P. Orioli, R. Cini, D. Donati, S. Mangani, *J. Am. Chem. Soc.* 103 (1981) 4446.

[79] W. S. Sheldrick, *Angew. Chem.* 93 (1981) 473; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 20 (1981) 460.

[80] a) K. H. Scheller, Dissertation, Universität Basel 1978; b) H. Sigel, K. H. Scheller, unveröffentlicht.

[81] L. M. Jackman, S. Sternhell: *Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry*, 2. Aufl., Pergamon Press, Oxford 1969, S. 94.

[82] H. Sigel, R. Griesser, D. B. McCormick, *Inorg. Chim. Acta* 6 (1972) 559; was arylsubstituierte Sulfidcarboxylate anbelangt, sollte [25] eingesehen werden.

[83] K. Miyoshi, Y. Sugiura, K. Ishizu, Y. Ittaka, H. Nakamura, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 6130.

[84] C.-S. Chen, R. Parthasarathy, G. T. DeTitta, *J. Am. Chem. Soc.* 98 (1976) 4983.

[85] G. Schwarzenbach, G. Anderegg, W. Schneider, H. Senn, *Helv. Chim. Acta* 38 (1955) 1147.

[86] J. M. Wood, *Naturwissenschaften* 62 (1975) 357.

[87] D. B. McCormick, R. Griesser, H. Sigel, *Met. Ions Biol. Syst.* 1 (1974) 213; vgl. [19].

[88] P. M. Colman, H. C. Freeman, J. M. Guss, M. Murata, V. A. Norris, J. A. M. Ramshaw, M. P. Venkatappa, *Nature* 272 (1978) 319.

[89] H. Irving, R. J. P. Williams, *J. Chem. Soc.* 1953, 3192.

[90] K. H. Scheller, F. Hofstetter, P. R. Mitchell, B. Prijs, H. Sigel, *J. Am. Chem. Soc.* 103 (1981) 247.

[91] H. Sigel, B. E. Fischer, E. Farkas, unveröffentlicht.

[92] M. Nakamura, H. Okawa, S. Kida, *Chem. Lett.* 1981, 547.

[93] J. F. Chlebowski, J. E. Coleman, *Met. Ions Biol. Syst.* 6 (1976) 1; vgl. [19].

[94] I. Bertini, G. Canti, C. Luchinat, F. Mani, *J. Am. Chem. Soc.* 103 (1981) 7784.

[95] J. E. Coleman, *Nature* 214 (1967) 193.

[96] J. E. Coleman, *Annu. Rev. Pharmacol.* 15 (1975) 221.

[97] J. L. Evelhoch, D. F. Bocian, J. L. Sudmeier, *Biochemistry* 20 (1981) 4951.