

Huzinaga et al. vorgeschlagen [18], wurden zwei p-artige Polarisationsfunktionen hinzugefügt (Pd (MP) ($5p8s5d2p$)/($3p3s3d2p$)).

[21] S. Huzinaga, *Approximate Atomic Functions. Technical Report 1971*; University of Alberta, Canada, 1971.

[22] Die in unseren Rechnungen für [PdCO] berechneten Strukturdaten und Bindungsenergien befinden sich in guter Übereinstimmung mit MP2-Rechenergebnissen früherer Autoren [2] (dort: $r(\text{Pd-C}) = 1.882$, $r(\text{C-O}) = 1.185 \text{ \AA}$, $\angle(\text{PdCO}) = 180^\circ$, Pd-C-Bindungsenergie: -156 kJ mol^{-1}). In einer neuen, detaillierten theoretischen Arbeit [3] werden die Bindungsverhältnisse in **2** mit verschiedenen Rechenverfahren und mit gegenüber unseren Rechnungen verbesserten Basisätzen untersucht. Unter den Rechenverfahren, die die Elektronenkorrelation berücksichtigen (MP2, MP3, CISD, CISC), liefert dort die MP2-Rechnung die größte Bindungsenergie (-109 kJ mol^{-1}), d.h. auch in unseren MP2-Rechnungen wird die Pd-Si-Bindung hinsichtlich ihrer Stärke etwas überschätzt, der Pd-Si-Abstand ist zu klein und die Bindungsenergie ($\text{Pd} + \text{SiO} \rightarrow [\text{PdSiO}]$) zu groß. Dies steht auch im Einklang mit der von uns berechneten Frequenzverschiebung ($v_{\text{co}}(\text{CO}) - v_{\text{co}}(\text{PdCO})$) von 164 bzw. 122 cm^{-1} [3] gegenüber dem experimentellen Wert von 88 cm^{-1} .

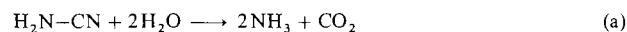
Nitrosomonas europaea^[6] und stabilisiert dadurch den Stickstoffvorrat im Boden.

Der Mechanismus des biologischen Abbaus dieser Verbindungen ist ein interessantes ökologisches Problem. Nach seiner Ausbringung auf die Felder verschwindet Cyanamid gewöhnlich innerhalb von einigen Tagen, in Abhängigkeit vom Boden und seiner Feuchtigkeit. Es war von Anfang an klar, daß irgend ein katalytischer Mechanismus am Abbau beteiligt sein muß. Lange Zeit glaubte man, daß anorganische Katalysatoren im Boden diesen Prozeß bewirken. Die Experimente von Ernst^[7] zeigten dann aber klar das Übergewicht von biologischen Abbaumechanismen, obgleich die Biochemie dieses Abbaus nicht aufgeklärt wurde.

Ein induzierbares Enzym, Cyanamid-Hydratase (EC 4.2.1.69), das sehr spezifisch die Wasseranlagerung an Cyanamid (aber nicht an Dicyandiamid) katalysiert, wurde zuerst im Bodenpilz *Myrothecium verrucaria*^[8] entdeckt und bis zur Homogenität gereinigt^[9]. Allerdings ist es unwahrscheinlich, daß dieses Enzym für den biologischen Abbau des Cyanamids im Boden ganz allgemein verantwortlich ist, da es vom Pilz nur bei vollständiger Abwesenheit jeder anderen Stickstoffquelle exprimiert wird. Die Expression hört auch sofort auf, wenn eine andere Stickstoffquelle verfügbar wird.

Hofmann et al.^[10] beschrieben eine Enzymaktivität in Extraktten aus käuflichem Sojamehl, welche bei Inkubation mit Cyanamid zu dessen Verschwinden führte. Wir haben dieses Cyanamid-abbauende Enzym aus Sojamehl (Typ I, nicht geröstet, Sigma München) in sechs Schritten bis zur Homogenität angereichert. Seine relative Molekülmasse ist etwa 600000, und es besteht aus sechs identischen Untereinheiten. Die ersten 23 Aminosäuren am N-Terminus der Untereinheit wurden nach der von Eckerskorn et al.^[11] beschriebenen Methode sequenziert. Die Sequenz war die gleiche wie die am N-Terminus der Urease der Schwertbohne^[12]. Dieser Befund deutete darauf hin, daß das isolierte Enzym möglicherweise mit der Urease aus Soja identisch sein könnte.

Wir prüften daher die käufliche, hoch gereinigte Urease aus der Schwertbohne (*Canavalia ensiformis*) (Typ VII, Sigma, München) auf seine Fähigkeit, Cyanamid abzubauen. Ein solcher Vergleich zeigte, daß in der Tat Schwertbohnen-Urease die gleiche spezifische enzymatische Aktivität ($310 \pm 20 \text{ nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$) und den gleichen K_m -Wert ($0.15 \pm 0.25 \text{ M}$) mit Cyanamid als Substrat hat wie das Enzym aus der Sojabohne. Ebenso war das Optimum des pH-Werts (7.0) und der Temperatur (70°C) das gleiche. In der Reaktion entstanden für jedes Mol Cyanamid zwei Mol Ammoniak. Offensichtlich katalysiert Urease eine Cyanamid-Hydrolase-Reaktion [Gl. (a)].



Einen zusätzlichen Hinweis dafür, daß Urease für die Cyanamid-Hydrolase-Aktivität verantwortlich ist, lieferte der Effekt von spezifischen Inhibitoren der Urease^[13, 14]. Alle hemmten auch die Cyanamid-Hydrolase-Aktivität (Tabelle 1).

Um die Substratspezifität zu bestimmen, haben wir nicht nur Cyanamid, sondern auch Cyanamid-Derivate wie *N*-Formylcyanamid, *N*-Acetylcyanamid und *N*-Benzoylcyanamid auf Hydrolyse durch Urease geprüft. Aber selbst mit einer 100fach höheren Enzymkonzentration als sie in den Experimenten mit unsubstituiertem Cyanamid verwendet worden war und nach einer Verlängerung der Inkubationszeit auf 24 Stunden konnte keine Hydrolyse nachgewiesen werden.

Da Cyanamid von Urease hydrolysiert wird, haben wir auch Cyansäure als Substrat untersucht (Tabelle 2). Im Ge-

Biochemischer Abbau von Cyanamid und Dicyandiamid**

Von Lydia M. Estermaier*, A. Heidemarie Sieber,
Friedrich Lottspeich, Dagmar H. M. Matern
und Guido R. Hartmann †

Professor Heinz Harnisch zum 65. Geburtstag gewidmet

Stickstoff steht im Boden den meisten Pflanzen, die unter normalen Feldbedingungen wachsen, überwiegend in Form von Nitrat-Ionen zur Verfügung und wird so als Stickstoffquelle aufgenommen. Nitrat-Ionen entstehen aus Ammonium-Ionen durch Oxidation, die von Mikroorganismen im Boden katalysiert wird (Nitrifikation)^[11]. Durch die Kationenaustauschereigenschaften des Bodens wird NH_4^+ leichter gespeichert als NO_3^- , das durch Auswaschen rasch verloren geht^[2]. Die meisten künstlichen Düngemittel enthalten Stickstoff in Form von Nitrat- oder Ammonium-Ionen. Aber die erste synthetische Verbindung, die als Stickstoffdünger eingesetzt worden ist, war Cyanamid, das aus Calciumcarbid und atmosphärischem Stickstoff in einer exothermen Reaktion synthetisiert wird. Cyanamid wird trotz seiner relativ hohen Kosten wegen seiner zusätzlichen nützlichen Eigenschaften immer noch in Landwirtschaft und Gartenbau als Düngemittel, besonders in der Form seines Calciumsalzes (Kalkstickstoff) verwendet. Zusätzlich zu seiner Eigenschaft als Stickstofflieferant wirkt Cyanamid auch als Herbizid (durch Entblätterung des Unkrauts)^[3], als Pestizid, Fungizid und Bakterizid^[4]. In dieser zuletzt genannten Wirkung wird es zur Geruchsbesetzung von Gülle benutzt. Cyanamid bricht auch die Knospenruhe in Weinreben^[5] und anderem Obst. Diese Entdeckung eröffnete einen neuen Anwendungsbereich als Wachstumsregulator für Pflanzen.

Dicyandiamid, das Produkt der Dimerisierung von Cyanamid, wird in der Landwirtschaft als Hemmer der Nitrifikation verwendet. Es hemmt die Oxidation von NH_4^+ durch

[*] Dr. L. M. Estermaier, A. H. Sieber, Dipl.-Chem. D. H. M. Matern,

Prof. Dr. G. R. Hartmann †

Institut für Biochemie der Universität
Karlstraße 23, W-8000 München 2

Dr. F. Lottspeich

Laboratorium für Molekulare Biologie – Genzentrum
W-8033 Martinsried

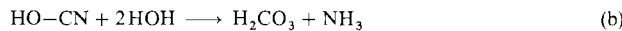
[**] Diese Arbeit wurde von der SKW Trostberg AG und dem Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Wir danken Prof. M. H. Zenk und Dr. T. Kutchan, München, für großzügige Hilfe mit Pflanzenzellkulturen und Diskussionen, Herrn Dr. R. J. Youngman, Trostberg, für Informationen, Prof. K. Kobashi, Toyama, für *N*-Isopentenoylphosphorylirisamid sowie Prof. A. Böck und G. Müller, München, für die Überlassung der Bakterienstämme.

Tabelle 1. Wirkung von Inhibitoren der Schwerbohnen-Urease auf die Cyanamid-Hydrolase-Aktivität. Die Inkubationsbedingungen waren analog zu denen des Cyanamid-Hydratase-Tests [9], aber mit 10 mM Tris/HCl-Puffer, pH = 7.4 bei 50 °C (Tris: Tris(hydroxymethyl)aminomethan). Cyanamid oder Harnstoff wurden wie beschrieben [9, 23] bestimmt. *N*-Isopentenoylphosphoryltrisamid [14] wurde von Professor K. Kobashi, Toyama, zur Verfügung gestellt. *N*-Phenylphosphoryltrisamid wurde nach Kobayashi [24] synthetisiert.

Inhibitor	Konzentration [μM]	Cyanamid-Hydrolase-Aktivität [a] [%]	Urease-Aktivität [b] [%]
Natriumfluorid	20000	48	34
Acetohydroxamsäure	20	45	48
Hydrochinon	40	45	48
<i>N</i> -Isopentenoylphosphoryltrisamid	5	60	4
<i>N</i> -Phenylphosphoryltrisamid	50	34	34

[a] 530 Urease-Einheiten pro mL wurden für die Cyanamid-Hydrolase-Reaktion eingesetzt. [b] 3 Urease-Einheiten pro mL wurden für die Urease-Reaktion eingesetzt.

gensatz zu Cyanamid ist Cyansäure bei pH 7.0 instabil und zerfällt rasch ohne Zugabe eines Katalysators. Dennoch wird auch der Abbau dieser Verbindung durch Urease beschleunigt. Ein Mol Ammoniak wird pro Mol verschwundem NCO^- gebildet, was die Reaktion (b) nahelegt.



Offensichtlich hat Urease auch die Aktivität einer Cyanase^[15] (EC 3.5.5.3). Wie im Falle des Cyanamids (Tabelle 1) hemmten niedrige Konzentrationen (5–30 μM) von Phenylbisamidophosphat und Phenylphosphoryltrisamid die enzymatische Hydrolyse von Cyanat, allerdings nur um 30–55%.

Tabelle 2. Harnstoff- und Cyanamid-ähnliche Verbindungen als Substrate der Schwerbohnen-Urease. In unseren Experimenten wurden die Inkubationsbedingungen bei 38 °C von Dixon et al. [16] verwendet. Cyanamid und Dicyandiamid wurden nach [9, 25] bestimmt.

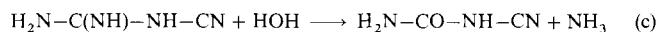
Substrat	k_{cat} [s ⁻¹]	K_m [M]	Lit.
Harnstoff ($\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{NH}_2$)	3500	0.003	[a]
Semicarbazid ($\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{NH}-\text{NH}_2$)	30	0.06	[16]
Hydroxylharnstoff ($\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{NH}-\text{OH}$)	12	0.002	[16]
Methylharnstoff ($\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_3$)	0.075	0.22	[16]
Dicyandiamid ($\text{H}_2\text{N}-\text{C}(\text{NH})-\text{NH}-\text{CN}$)	1.0	0.25	[a]
Cyanamid ($\text{H}_2\text{N}-\text{CN}$)	8.6	0.2	[a]
Acetamid ($\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{CH}_3$)	0.55	0.75	[16]

[a] Diese Arbeit.

Relativ viele Verbindungen, die in der Struktur mit Harnstoff oder Cyanamid verwandt sind, werden durch Schwerbohnen-Urease hydrolysiert, obgleich die Hydrolysegeschwindigkeit 100- bis 1000mal kleiner ist als mit Harnstoff (Tabelle 2). Offensichtlich ist bei geringer Aktivität die Substratspezifität der Urease ziemlich breit, aber nicht ohne Beschränkung, da Derivate wie Guanylharnstoff und Cyanharnstoff überhaupt nicht abgebaut werden, selbst mit einer 100fach höheren Ureasekonzentration. Dicyandiamid ist dem Cyanharnstoff strukturverwandt. Wir haben daher auch Dicyandiamid als mögliches Substrat der Urease geprüft. Unerwarteterweise fand auch eine deutliche Hydrolyse dieser Verbindung statt. Der K_m -Wert war nahezu gleich und der k_{cat} -Wert war nur neunmal kleiner als für Cyanamid (Tabelle 2). Darüber hinaus zeigte die Reaktion eine sehr

ähnliche Abhängigkeit vom pH-Wert und der Temperatur wie die enzymatische Hydrolyse von Cyanamid. Dies läßt vermuten, daß beide hydrolytische Reaktionen vom gleichen Enzym katalysiert werden.

Die Analyse der Reaktionsprodukte ergab, daß die enzymatische Hydrolyse von Dicyandiamid zu Cyanharnstoff und Ammoniak in etwa gleichen Anteilen führt. Dies legt eine hydrolytische Reaktion nach Gleichung (c) nahe.



Diese Hydrolyse ist ziemlich substratspezifisch; so wird z.B. Guanidin durch Urease nicht hydrolysiert. Kürzlich wurde eine *Rhodococcus*-Spezies entdeckt^[17], die ebenfalls Dicyandiamid zu Cyanharnstoff abbaut. Die Stöchiometrie dieser Reaktion wurde allerdings nicht bestimmt. Die Katalyse der Umwandlung von Dicyandiamid zu Cyanharnstoff entspricht einer enzymatischen Reaktion, die sich von den anderen Reaktionen, die von Urease (Harnstoff-Amidohydrolase) katalysiert werden (die Hydrolyse von Cyanat oder Cyanamid) unterscheidet. Mit Dicyandiamid als Substrat wird die Hydrolyse einer Iminogruppe katalysiert. Arginin-Desiminase (EC 3.5.3.6) ist ein anderes Enzym, das eine solche Reaktion katalysiert. Im Gegensatz zu Dicyandiamid wird Hydroxyharnstoff durch Urease zu NH_3 , CO_2 und H_2NOH hydrolysiert^[18].

Diese Befunde zeigen die große Breite von Reaktionen, die durch Urease katalysiert werden können. Hinsichtlich des Mechanismus der Katalyse erhebt sich die Frage, ob alle diese Reaktionen am gleichen aktiven Zentrum katalysiert werden, oder ob die Urease zur Klasse der „doppelköpfigen“ Enzyme mit separaten aktiven Zentren für verschiedene katalytische Aktivitäten gehört. In diesem Zusammenhang ist interessant, daß weder Hydroxyharnstoff, Hydrochinon, Acetohydroxamsäure noch *N*-Isopentenoylphosphoryltrisamid die Hydrolyse von Dicyandiamid bei einer Konzentration von 50 μM hemmt, welche sowohl die Cyanamid-Hydrolase- als auch die Harnstoff-Amidohydrolase-Aktivität der Urease blockieren.

Urease ist ein Enzym, das weit verbreitet in Pflanzen vorkommt^[19]. Besonders reich sind die Samen der *Leguminosae*. Deshalb war es nicht überraschend, daß Extrakte aus Samen von Soja, Mungbohne, Buschbohne, Linse und Erbse sowie aus den Blättern von Linse, Erbse und Lupine Cyanamid-Hydrolase-Aktivität zeigten.

In der Landwirtschaft wird der größte Teil des Cyanamids und Dicyandiamids auf die Felder ausgebracht. Daher ist es wahrscheinlich, daß in der Hauptsache Mikroorganismen des Bodens die biologische Umwandlung und den Abbau dieser Verbindungen verursachen. Urease ist bei Mikroorganismen weit verbreitet^[19]. Diese Frage erhebt sich, ob auch die Urease aus Bodenbakterien Cyanamid abbauen kann. Die Antwort liegt nicht auf der Hand, da bakterielle Ureasen sich voneinander und von den pflanzlichen Enzymen in Parametern wie der Größe, der Zahl der Untereinheiten und des Nickelgehalts^[20] (Nickel ist ein wesentlicher Cofaktor für die Urease-Aktivität) unterscheiden. *Bacillus pasteurii* ist ein Gram-positives Eubakterium mit einer besonders hohen Ureaseaktivität, welches im Boden vorkommt. Seine Urease besteht aus vier identischen Untereinheiten (M_r 65 000) und hat eine Gesamt molekulare Masse von ungefähr 230 000^[23], wogegen die Urease aus der Schwerbohne aus sechs identischen Untereinheiten (M_r 96 600) besteht und eine Molekulargewicht von 590 000 hat^[13]. Wir verglichen die Abbau-Aktivität gegenüber Harnstoff, Cyanamid und Dicyandiamid einer käuflichen Präparation der Urease aus *Bacillus pasteurii* (Typ X, partiell gereinigtes Pulver,

100–200 Urease-Einheiten pro mg, Sigma, München) mit der des Enzyms aus der Schwertbohne (Tabelle 3). Das Pflanzenenzym war aktiver als die bakterielle Urease; dies könnte auf seine höhere Reinheit zurückzuführen sein oder darauf, daß aus technischen Gründen nicht beide Enzyme bei Substratsättigung getestet worden waren. Dicyandiamid wird durch die bakterielle Urease zu gleichen Mengen Cyanharnstoff und Ammoniak metabolisiert, ebenso wie im Falle des Pflanzenenzymen.

Tabelle 3. Hydrolyse von Cyanamid und Dicyandiamid durch die Urease aus der Schwertbohne und aus *Bacillus pasteurii*. Der Test wurde mit 20 mM Substrat in 10 mM Tris/HCl (pH 8.0) bei 50 °C ausgeführt. Das Verschwinden von Harnstoff, Cyanamid und Dicyandiamid wurde in kolorimetrischen Tests wie beschrieben [23, 9, 25] gemessen.

Substrat	nmol Substrat metabolisiert bei pH 8.0 und 50 °C pro min und mg Protein durch Urease aus Schwertbohne	<i>B. pasteurii</i>
Harnstoff	366 000 [a]	55 000 [d]
Cyanamid	176 [b]	9 [e]
Dicyandiamid	8 [c]	0.2 [f]

[a] 1.2, [b] 104, [c] 520, [d] 1.2, [e] 436, [f] 8720 Enzymeinheiten der Urease.

Inhibitoren der Urease-Aktivität reduzierten auch die Cyanamid-Hydrolase-Aktivität des bakteriellen Enzyms (Tabelle 4). Dies stützt die Schlußfolgerung, daß auch die bakterielle Urease für die Katalyse des Cyanamidabbaus verantwortlich ist. In Übereinstimmung mit den Beobachtungen an der pflanzlichen Urease wird der Abbau des Dicyandiamids durch das bakterielle Enzym von 15 mM Natriumfluorid, 100 µM Hydrochinon, 50 µM Isopentenoylphosphoryltrisamid oder 50 µM *N*-Phenylphosphoryltrisamid nicht gehemmt.

Tabelle 4. Hemmung der Cyanamid-Hydrolase-Aktivität der Urease aus *Bacillus pasteurii* durch Inhibitoren der Urease. Das Enzym wurde mit dem Inhibitor jeweils 15 min bei 50 °C in 10 mM Tris/HCl pH 7.4 vorinkubiert. Dann wurde das Substrat zugesetzt.

Inhibitor	Inhibitor-Konzentration [µM]	Cyanamid-Hydrolyse [%]	Inhibitor-Konzentration [µM]	Harnstoffhydrolyse [%]
Natriumfluorid	20000	37	40 000	42
Acetohydroxamsäure	20	27	20	44
Hydrochinon	100	40	40	31
<i>N</i> -Phenylphosphoryltrisamid	50	46	50	63
<i>N</i> -Isopentenoylphosphoryltrisamid	20	76	0.5	19

[a] 1092 Urease-Einheiten pro mL (2 h Inkubation). [b] 4.4 Urease-Einheiten pro mL (15 min Inkubation).

Cyanamidhydrolase-Aktivität (im Bereich von 0.5–4 nmol Cyanamidabbau pro min und mg Protein) wurde bei pH 7.4 und 50 °C auch in Urease enthaltenden Rohextrakten anderer Bodenbakterien entdeckt, z.B. in *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella oxytoca* und *Mycobacterium phlei*.

Die Düngemittel Harnstoff und Cyanamid benötigen beide einen abbauenden Prozeß im Boden, bevor sie ihre physiologische Rolle als Stickstofflieferanten der Pflanzen erfüllen können. Harnstoff wird mit hoher Geschwindigkeit durch Urease abgebaut, die weit verbreitet in Mikroorganismen im Boden vorkommt. Wenn Harnstoff als Dünger ange-

wendet wird, kann das reichliche Vorkommen von Urease zu einer momentanen massiven Bildung von toxischen Mengen Ammoniak (Ammonium-Ionen) mit schädlichen Effekten auf die Samenkeimung, das Samenwachstum und das frühe Pflanzenwachstum führen. Um diese Effekte zu verhindern, wurde der Zusatz von kleinen Mengen von Urease-Inhibitoren empfohlen^[22].

Beim Dünger Cyanamid ist die Situation anders. Enzyme, die Cyanamid spezifisch abbauen können, kommen viel seltener im Boden vor. Bisher ist nur ein einziges Enzym, die Cyanamid-Hydrolase, entdeckt^[18] und charakterisiert worden^[19]. Die hohe Substratspezifität für Cyanamid gibt Anlaß zu der interessanten Frage, wie dieses Enzym den Mikroorganismen einen selektiven Vorteil für das Überleben und die Reproduktion verschafft, da doch Cyanamid in der Natur gar nicht vorkommt.

Ein anderes Cyanamid-abbauendes Enzym ist, wie oben gezeigt wurde, die weit verbreitete Urease. Sie katalysiert diese Reaktion viel langsamer als die Hydrolyse von Harnstoff mit der Konsequenz, daß eine massive und augenblickliche Produktion von Ammoniak im Boden verhindert ist. Dadurch wird auch die Geschwindigkeit der anschließenden Nitrifikation und des Auswaschens des gebildeten Nitrats aus dem Boden verringert.

Cyanamid und Dicyandiamid kommen in der Natur nicht vor. Damit erhebt sich natürlich die Frage, wie solche Chemikalien abgebaut werden, wenn sie absichtlich oder unabsichtlich in die Umwelt gelangen. Man könnte vielleicht befürchten, daß ein biologischer Abbau nicht stattfindet, da genügend Zeit für eine natürliche Selektion und die Entwicklung von passenden abbauenden Mikroorganismen nicht gegeben ist. Aber viele solche Chemikalien – einschließlich Cyanamid – verschwinden relativ rasch in der Natur. In diesem Zusammenhang sollte man aber nicht übersehen, daß, im Gegensatz zu den üblichen Bedingungen im Laboratorium, die Zeitdauer, der solche Substanzen abbauenden Prozesse ausgesetzt sind, im natürlichen Ökosystem viel länger ist. Damit ist es möglich, daß auch enzymatische Reaktionen mit einer viel geringeren Geschwindigkeit, zum Beispiel die Hydrolyse von Cyanamid und Dicyandiamid durch Urease aus Pflanzen und Bakterien, zum Abbau toxischer Chemikalien in der natürlichen Umwelt beitragen können. Für die Untersuchung von Enzymen, die für den Metabolismus solcher Chemikalien von Bedeutung sein können, folgt daher, daß Messungen der Substratspezifität sich nicht zu eng auf solche Verbindungen beschränken sollten, die in der Struktur dem natürlichen Substrat sehr ähnlich sind und die mit hoher Geschwindigkeit metabolisiert werden. Wie hier gezeigt wurde, ist die Substratspezifität von Enzymen bei geringer katalytischer Aktivität offensichtlich viel breiter, als bisher angenommen worden war. Dies legt für zukünftige Arbeiten auf diesem Gebiet nahe, Enzymtests mit viel höherer Empfindlichkeit zu entwickeln.

Eingegangen am 4. November 1991 [Z 5123]

- [1] L. Beevers, R. H. Hageman in *The Biochemistry of Plants*, Vol. 5 (Hrsg. B. J. Miflin), Academic Press, New York, 1980, S. 115–168.
- [2] K. Rathsack, *Landwirtsch. Forsch.* 1978, 31, 347–358.
- [3] a) B. Rademacher, A. Flock, *Z. Acker-Pflanzenbau* 1951, 94, 1–54; b) H. Uhl, *ibid.* 1952, 95, 121–158; c) R. Heitefuss, H. Bodendorfer, R.-R. Paeschke, *Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz* 1977, 84, 641–662.
- [4] a) A. Amberger, *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 1968, 119, 1–10; b) H. Dannenhauer, A. Resz, F. Grossmann, *Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz* 1983, 90, 468–478.
- [5] Y. Shulman, G. Nir, S. Lavee, *Sci. Hortic.* 1983, 19, 97–104.
- [6] B. Zacherl, A. Amberger, *Fert. Res.* 1990, 22, 37–44.
- [7] D. Ernst, *Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkd.* 1967, 116, 34–44.
- [8] H. Stransky, A. Amberger, *Z. Pflanzenphysiol.* 1973, 70, 74–87.

[9] U. H. Maier-Greiner, B. M. Obermaier-Skrobranek, L. M. Estermaier, W. Kammerloher, C. Freund, C. Wülfing, U. I. Burkert, D. H. Matern, M. Eulitz, M. Breuer, Ö. I. Küfrevioglu, G. R. Hartmann, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 4260–4264.

[10] E. Hofmann, E. Lutzko, A. Süß, *Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkd.* **1954**, *66*, 193–202.

[11] C. Eckerskorn, W. Mewes, H. Goretzki, F. Lottspeich, *Eur. J. Biochem.* **1988**, *176*, 509–519.

[12] K. Takishima, T. Suga, G. Mamiya, *Eur. J. Biochem.* **1988**, *175*, 151–165.

[13] R. L. Blakeley, B. Zerner, *J. Mol. Catal.* **1984**, *23*, 263–292.

[14] K. Kobashi, S. Takebe, A. Numata, *J. Biochem. (Tokyo)* **1985**, *98*, 1681–1688.

[15] P. Anderson, *Biochemistry* **1980**, *19*, 2882–2888.

[16] N. E. Dixon, P. W. Riddles, C. Gazzola, R. L. Blakeley, B. Zerner, *Can. J. Biochem.* **1980**, *58*, 1335–1344.

[17] S. Hallinger, P. R. Wallnöfer, H. Goldbach, A. Amberger, *Naturwissenschaften* **1990**, *77*, 332–334.

[18] W. N. Fishbein, T. S. Winter, J. D. Davidson, *J. Biol. Chem.* **1965**, *240*, 2402–2406.

[19] F. J. Reithel in *The Enzymes*, Vol. 4 (Hrsg. P. D. Boyer), Academic Press, New York, **1971**, S. 1–21.

[20] M. J. Todd, R. P. Hausinger, *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 5963–5967.

[21] S. Christians, H. Kaltwasser, *Arch. Microbiol.* **1986**, *145*, 51–55.

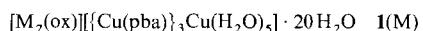
[22] a) J. M. Bremner, M. J. Krogmeier, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1988**, *85*, 4601–4604; b) J. M. Bremner, M. J. Krogmeier, *ibid.* **1989**, *86*, 8185–8188.

[23] J. C. Polacco, *Plant Physiol.* **1976**, *58*, 350–357.

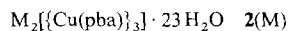
[24] E. Kobayashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1973**, *46*, 183–186.

[25] K. Vilsmeier, *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* **1982**, *145*, 503–505.

tionszahl **III** ist. Bei unserem ersten Syntheseversuch erhielten wir Verbindungen des Typs **1(M)**, in denen einige der pba-



Liganden zu Oxalato(ox)-Liganden hydrolysiert waren, die die M^{III} -Ionen verbrücken^[6]. Uns gelang es auch, Verbindungen der Art **2(M)** herzustellen. Dabei machten wir von



einer etwas ungewöhnlichen Synthesemethode Gebrauch. Alle Verbindungen mit $M = \text{La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu und Gd}$ sind isomorph; mit kleineren dreiwertigen Seltenerdmetall-Ionen – von Tb bis Yb und Y – werden dagegen gänzlich andere Strukturen aufgebaut. Hier beschreiben wir nun die recht bemerkenswerte, unerwartete Struktur von **2(Sm)** und stellen die magnetischen Eigenschaften einiger dieser **2(M)**-Verbindungen vor, wobei M die Metalle von La bis Gd umfaßt.

Wie wir bereits gezeigt haben, beruht das Prinzip, nach dem **1(Gd)** aufgebaut ist, auf einer zweidimensionalen Aneinanderlagerung der einzelnen $\text{Gd}_2[\{\text{Cu}(\text{pba})\}_3]$ -Einheiten zu dem gefalteten, leiterartigen Strukturmotiv **I**; diese erfolgt über deren Oxalato-Einheiten, wie in Abbildung 1 schematisch dargestellt. Wir dachten dann an die Möglichkeit, **I**

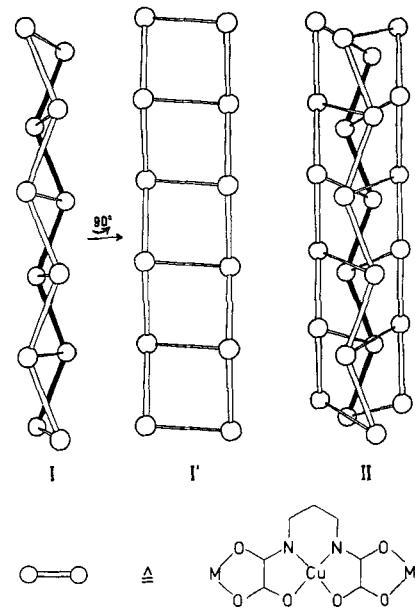


Abb. 1. **I** und **I'** sind zwei um 90° gegeneinander gedrehte Darstellungen des leiterartigen Strukturmotivs, wie es in **1(M)** auftritt. Die Verschmelzung zweier orthogonaler Leitern führt, zusammen mit einer Neuverteilung der Sprossen (siehe Text), zu dem röhrenartigen Strukturmotiv **II**, das in **2(M)** vorliegt.

Eindimensionale $M^{III}\text{Cu}^{II}$ -Verbindungen mit einem präzedenzlosen, röhrenartigen Strukturmotiv ($M = \text{Seltenerdmetall}$)

Von Olivier Guillou, Robert L. Oushoorn, Olivier Kahn*, Kamal Boubekeur und Patrick Batail*

Die Umsetzung des dianionischen Kupfer(II)-Komplexes $[\text{Cu}(\text{pba})]^{2-}$ ($\text{pba} = 1,3\text{-Propylenbis(oxamato)} \cong N,N'\text{-Trimethylendioxamidsäure-Tetraanion}$) mit einem zweiwertigen Metall-Ion M^{II} in einem Solvens S führt zu kettenförmig aufgebauten Koordinationsverbindungen der Formel $M[\text{Cu}(\text{pba})] \cdot nS$ ^[1–5]. Derartige Verbindungen zeigen das charakteristische Verhalten eindimensionaler Ferrimagnete, d.h. trägt man das Produkt aus der molaren magnetischen Suszeptibilität χ_M und der Temperatur T gegen die Temperatur auf, so durchläuft die Kurve ein Minimum. Bei Temperaturniedrigung wächst $\chi_M T$ an, was typisch für Ferrimagnete ist. Darüber hinaus tritt in einigen dieser kettenförmig aufgebauten Verbindungen eine spontane Magnetisierung auf, und unterhalb einer kritischen Temperatur T_c verhalten sie sich wie molekulare Magnete^[5]. Soweit uns bekannt, beträgt der höchste T_c -Wert derartiger Materialien 30 K^[4].

Wird das zweiwertige Ion M^{II} durch ein dreiwertiges Ion M^{III} ersetzt, liegt es nahe, daß dabei höherdimensionale Verbindungen der Formel $M_2[\{\text{Cu}(\text{pba})\}_3] \cdot nS$ gebildet werden, die den Aufbau einer magnetischen Ordnung begünstigen können, besonders dann, wenn M^{III} in einem lokalen High-Spin-Zustand vorliegt. Aus diesem Grund sind wir an der Synthese von Verbindungen des Typs $M_2[\{\text{Cu}(\text{pba})\}_3] \cdot nS$ interessiert, bei denen M ein Seltenerdmetall-Ion der Oxida-

[*] Prof. O. Kahn, O. Guillou, R. L. Oushoorn [*]
Laboratoire de Chimie Inorganique, URA CNRS Nr. 420
Université de Paris-Sud
F-91405 Orsay (Frankreich)

Dr. P. Batail, Dr. K. Boubekeur
Laboratoire de Physique du Solide, URA CNRS Nr. 002
Université de Paris-Sud
F-91405 Orsay (Frankreich)

[†] Ständige Adresse: Department of Chemistry, State University Leiden
NL-Leiden (Niederlande)

auch räumlich zu versetzen (z. B. 90° -Drehung zu **I'**) und, je nach Synthesemethode und/oder Seltenerdmetall, auch mit anderen Strukturmotiven zu verbinden. Die molekulare Architektur von **2(M)** basiert ausschließlich auf der Verschmelzung zweier derartiger „Leitern“ zu **II** (Abb. 1). **II** ist ein in dieser Chemie präzedenzloses, unendliches röhrenartiges Strukturmotiv^[7]. Bei der Zusammenlagerung zweier Leitern kommt es zu einer Neuverteilung ihrer „Sprossen“, was zeigt, wie groß die konformative Beweglichkeit der