

zueinander sind und zusammen auskristallisieren (in der Kristallstruktur sind sie über Inversionszentren verknüpft).

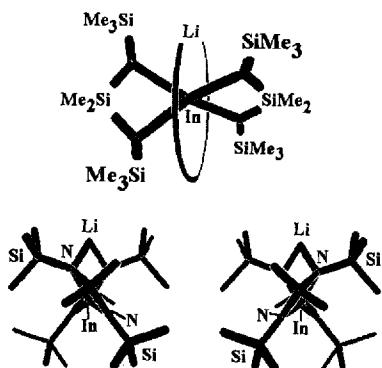


Abb. 3. In der oberen Hälfte der Abbildung ist ein Modell für die intramolekulare „Lithiumwanderung“ in **1** skizziert. Die beiden unten dargestellten Strukturen von **1** (Blickrichtung orthogonal zu oben) sind beide im Kristall vorhanden. Ihre wechselseitige Umwandlung könnte die „Restmobilität“ von **1** in Hexan erklären.

Auch im Festkörper konnten NMR-Spektren von **1** erhalten werden. Die Zentraallinie des bei Raumtemperatur erhaltenen Magic-Angle-Spinning(MAS)-⁷Li-NMR-Spektrums (77.7 MHz) von **1** setzt sich aus zwei Komponenten zusammen: einer breiten Resonanz, welche eine für das MAS-Experiment von Quadrupolkernen typische Quadrupolaufspaltung^[9] aufweist (586 Hz), sowie einer quasi aufgesetzten relativ scharfen Resonanz mit einer Halbwertsbreite von ca. 120 Hz. Registriert man ein Spektrum derselben Probe bei 116.5 MHz, so reduziert sich die Peakseparation der beiden äußeren Peaks, was in Einklang mit einem Quadrupoleffekt ist. Die scharfe Resonanzlinie vereinigt bei 296 K etwa 8% der Gesamtintensität einschließlich Seitenbanden und sollte ihre Ursache in „leicht beweglichen“ Lithiumatomen haben^[10]. Ob das Signal durch eine partielle „Lithium-Dynamik“ als Folge von Gitterschwingungen in **1** oder durch eine geringe Beimischung einer Fremdstoff ausgelöst wird, bleibt in weiteren Untersuchungen zu klären.

Experimentelles

0.7 g (3.2 mmol) Indiumchlorid in 5 mL Diethylether werden mit einer Lösung einer doppelt molaren Menge an $\text{Me}_2\text{Si}(\text{NSiMe}_3)_2\text{Li}_2$ [11] in 25 mL *n*-Hexan versetzt und 6 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wird gefiltert und die Lösung eingengegnet; dabei bilden sich Kristalle des Ether-Addukts von **1**. Bei der nachfolgenden Sublimation (70–80 °C Badtemperatur/10⁻³ Torr) verliert die Verbindung den Ether, und man erhält 1.37 g (73%) farbloses **1** (Schmp. 142 °C). Korrekte Elementaranalyse und Massenspektren. Chemische Verschiebungen von **1** in Lösung (200 MHz [D₆]Toluol, 296 K, TMS): ¹H-NMR: $\delta = 0.18$ (s, 36H, SiMe₃), 0.33 (s, 12H, SiMe₂); ¹³C-NMR ([D₆]Toluol): $\delta = 4.2$ (s, 12C, SiMe₃), 6.6 (s, 4C, SiMe₂); ¹³C-NMR (Hexan): $\delta = 3.9$ (s, SiMe₃), 6.4 (s, SiMe₂); ²⁹Si-NMR: $\delta = -0.55$ (s, SiMe₂), -5.80 (s, SiMe₃); ¹⁵N-NMR (CH₃NO₂ ext.): $\delta = 308.5$ (s, $b_{1/2} = 10$ Hz); ⁷Li-NMR (ext. Standard: LiCl/D₂O): $\delta = 3.0$ (s, $b_{1/2} = 5.7$ Hz). Chemische Verschiebungen von **1** im Festkörper (200 MHz, 296 K, sek. Standard: Adamantan, TMS = 0), ¹³C-NMR: $\delta = 5.8$ ($b_{1/2} = 85$ Hz); ⁷Li-NMR: (ext. Standard: LiCl): $\delta = 1.0$ [12].

Eingegangen am 3. Mai
veränderte Fassung am 28. Juni 1993 [Z 6051]

- [1] A. Rabenau, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1978**, *26*, 310; P. Hartwig, W. Weppner, W. Wichelhaus, A. Rabenau, *Angew. Chem.* **1980**, *92*, 72; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1980**, *19*, 74.
- [2] F. Pauer, J. Rocha, D. Stalke, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 1477.
- [3] M. Veith, S. Müller-Becker in *The Chemistry of Inorganic Ring Systems* (Hrsg.: R. Steudel), Elsevier, Amsterdam, **1992**, S. 125.
- [4] Kristalldaten von **1**: monoklines Kristallsystem, Raumgruppe *C2/c*, $a = 11.814$ (9), $b = 16.986(20)$, $c = 16.719(20)$ Å, $\beta = 104.63(9)^\circ$, $V =$

3246 Å³, $Z = 4$, $\mu = 9.14$ cm⁻¹. Siemens-AED2-Diffraktometer, ω - θ -Scan, 2109 Reflexe, davon 81 mit $F_0 < 2\sigma_F$, $2\theta_{\max} = 45^\circ$; Meßtemperatur: 293 K. Strukturlösung über Patterson-Methoden, H-Atomlagen idealisiert (C–H = 1.08 Å, H–C–H = 109.5°); 153 Parameter (alle Nichtwasserstoffatome mit anisotropen Temperaturfaktoren). $R = 0.033$ ($R_w = 0.038$; Gewichtsschema: $w = 1.00/(c_F^2 + 0.006384 F^2)$). Maximale und minimale Restelektronendichte: 0.27 bzw. -0.80 e Å⁻³. Benutzte Programme: SHELLX 86 [13] und SCHAKAL [14]. Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Fachinformationszentrum Karlsruhe, Gesellschaft für wissenschaftlich-technische Information mbH, D-76344 Eggenstein-Leopoldshafen, unter Angabe der Hinterlegungsnummer CSD-57682, der Autoren und des Zeitschriftenzitats angefordert werden.

- [5] J. Sandström, *Dynamic NMR Spectroscopy*, Academic Press, New York, **1982**, S. 96.
- [6] M. Zimmer, Dissertation, Universität des Saarlandes, **1993**.
- [7] D. W. Aksnes, K. Ramstad, *Magn. Reson. Chem.* **1988**, *26*, 1086.
- [8] HYPERCHEM 3.0, Autodesk, Inc. USA 1993, Parameter von M. Veith modifiziert.
- [9] R. K. Harris, A. C. Olivieri, *Progr. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **1992**, *24*, 435.
- [10] Durch Inversion-Recovery-Experimente gelingt eine selektive Darstellung der beiden Komponenten aufgrund des stark unterschiedlichen Relaxationsverhaltens.
- [11] W. Fink, *Chem. Ber.* **1963**, *96*, 1071.
- [12] Die ¹H-, ⁷Li-, ¹³C-, ¹⁵N- und ²⁹Si-NMR-Spektren wurden mit einem Bruker-200-MHz-Spektrometer aufgenommen; die Festkörper-NMR-Spektren mit einem MSL-200 (Bruker). Zur Probenpräparation wurden in 7mm-MAS-Rotoren passende, luftdichte Kel-F-Inserts verwendet. Die *T*₁-Messungen erfolgten nach der Standard-Inversion-Recovery-Methode.
- [13] G. M. Sheldrick, *Program for Crystal Structure Determination*, Universität Göttingen, **1986**.
- [14] E. Keller, *SCHAKAL-88. Fortran Program for the Graphical Representation of Molecular and Crystallographic Models*, Freiburg, **1988**.

Katalyse der Phosphorsäureester-Hydrolyse durch Lanthanoid-Ionen und der Einfluß von Liganden **

Von Hans-Jörg Schneider*, Jörg Rammo und Ronald Hettich

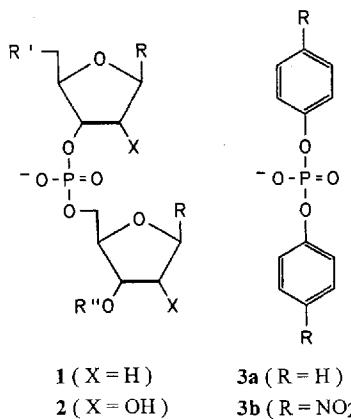
Nachdem Bamann die katalytische Wirksamkeit von Lanthanoid-Ionen bei der Hydrolyse von Glycerinphosphaten entdeckt hatte^[11], sind diese sowie Übergangsmetall-Ionen auch als Katalysatoren für die Spaltung der durch die vicinalen Hydroxygruppen strukturell verwandten Ribosephosphate herangezogen worden^[2–4]. Die Hydrolyse normaler Phosphorsäureester oder von DNA **1** erfordert im Vergleich zu der von RNA **2** durch die Abwesenheit der 2'-OH-Gruppe drastische Bedingungen. Mit höher geladenen Übergangsmetall-Ionen lassen sich erhebliche Beschleunigungen erzielen^[5, 6]. Vor allem Chin et al. haben gezeigt^[5b], daß mit speziellen Cobaltkomplexen selbst nicht aktivierte Ester wie Dimethylphosphat bis zu 10¹⁰ mal schneller reagieren^[7]. Allerdings scheinen die bisher benutzten – teilweise auch wenig stabilen – Metallkomplexe bei der Reaktion verbraucht zu werden; d.h. sie fungieren nicht als Katalysatoren, und eine Michaelis-Menten-Kinetik (wie bei Enzymen) wurde nicht beobachtet. Kürzlich konnten Komiyama et al. erstmals zeigen^[8a], daß auch die Spaltung von plasmidischer DNA durch Lanthanoid-Ionen beschleunigt wird; allerdings sind die Bedingungen im Vergleich zu den bekannten radikalisch verlaufenden DNA-Spaltungen durch Redox-Metalle so drastisch^[8b], daß bis jetzt nicht auszu-

[*] Prof. Dr. H.-J. Schneider, Dipl.-Chem. J. Rammo, Dipl.-Chem. R. Hettich
Fachrichtung Organische Chemie der Universität
D-66041 Saarbrücken
Telefax: Int. + 681/302-4105

[**] Supramolekulare Chemie, 38. Mitteilung. – 37. Mitteilung: H.-J. Schneider, V. Rüdiger, O. A. Raevsky, *J. Org. Chem.*, im Druck.

schließen ist, daß – zumindest teilweise – ein radikalischer Mechanismus wirksam ist.

Wir berichten hier über eine durch Sättigungskinetik charakterisierte hocheffiziente Katalyse bei der Verseifung der Phosphorsäurediarylester **3** durch Lanthanoid-Ionen und über prinzipielle Möglichkeiten, die Hydrolyse durch Komplexliganden zu steuern. Wesentlich für die potentielle Verwendung synthetischer Agentien zur Hydrolyse von Phosphorsäureestern – seien es Insektizide, Kampfstoffe oder Nucleinsäuren – ist, daß sich die katalytischen Zentren in kinetisch möglichst stabilen Komplexen befinden. Dies sollte z.B. Immobilisierungen der Katalysatoren sowie die Verknüpfung mit Polyamin- und Oligonucleotid-Resten ermöglichen, um Erhöhungen der Affinität zur DNA und die Induktion selektiver DNA-Strangbrüche (durch Tripelhelix-Bildung mit Oligonucleotid-Komplex-Konjugaten^[9]) zu erreichen. Dies wurde bisher – von wenigen Ausnahmen abgesehen^[10] – weitgehend mit *oxidativ* wirkenden Agentien realisiert^[11], von denen die Eisen-EDTA-Oligonucleotide von Dervan et al. die bekanntesten sind^[12]. Die dabei auftretenden, sehr reaktiven sauerstoffhaltigen Radikale haben den Nachteil, wenig selektiv zu reagieren und unnatürliche Spaltprodukte zu liefern; dies ließe sich durch *Hydrolysen* von Phosphorsäureestern – wie sie die Natur verwirklicht – vermeiden.



Zunächst verfolgten wir das Ziel, durch konventionelle starke Nucleophile wie Thiolate, Oximate etc. (Thiophenol, Salicylaldoxim, Iodosobenzol) die Hydrolyse von Modellphosphaten wie **3b** zu beschleunigen, da sich durch Kombination solcher Liganden mit Polyaminen die Affinität zur DNA nahezu beliebig steigern lassen sollte^[13a]. Nachdem dieses Konzept bei Vorversuchen mit plasmidischer DNA nur zu kaum nachweisbaren Effekten geführt hatte^[13b], haben wir die Freisetzung von Nitrophenolat aus dem Modellester **3b** in Gegenwart wechselnder Konzentrationen von Europium(III)-chlorid bei pH 7.0 photometrisch gemessen. Bei z.B. $[Eu^{3+}] = 5 \times 10^{-3}$ M wurde $k_{obs} = 1.67 \times 10^{-4}$ s⁻¹ bestimmt, was einer Beschleunigung von $k_{rel}/k_0 = 1.1 \times 10^8$ ^[7] entspricht. Unter gleichen Bedingungen ergab Yb³⁺ $k_{obs} = 3.7 \times 10^{-5}$ s⁻¹; Zusatz von Pb²⁺-Salzen führte zu Trübungen. Bei einem Umsatz von bis zu 95 % verliefen alle Reaktionen nach (pseudo-)erster Ordnung mit linearen Korrelationskoeffizienten von $r > 0.997$, wobei in der Regel der Katalysator im Überschuß eingesetzt wurde. Die gemessenen Endextinktionen zeigen, daß die Hydrolyse unter den normalen Reaktionsbedingungen ($[3b] < [Eu^{3+}]$) zur Abspaltung *beider* Phenoxygruppen führt. Dies bedeutet, daß der entsprechende Monophenylester, wie bei nicht-katalysierten Hydrolysen^[5a], schneller reagiert als der Diester.

Um abzusichern, daß der Katalysator auch unter „Turnover-Bedingungen“ seine Aktivität behält, wurde mit 10fachem Substratüberschuß gemessen, wobei wiederum nach der Gleichung für eine Reaktion erster Ordnung ausgewertet werden konnte; die dabei beobachtete Geschwindigkeit der Nitrophenolat-Freisetzung lag mit $k_{obs} = 3.9 \times 10^{-6}$ s⁻¹ ($50^\circ C$, $[Eu^{3+}] = 1 \times 10^{-4}$ M) etwa halb so hoch wie die bei $[Eu^{3+}]$ -Überschuß gefundene ($k = 8.6 \times 10^{-6}$ s⁻¹). Der Monoester liegt hier zunächst in viel geringerer Konzentration vor als das Edukt, welches nur *ein* Phenolat-Ion freisetzt; ferner wird mit $[3] > [Eu^{3+}]$ die Konzentration an aktiverem, freiem Eu³⁺ durch dessen Bindung an **3** stärker gesenkt. Die mit Eu³⁺ erstmals beobachtete Sättigungskinetik (Abb. 1) ergibt durch nichtlineare Kurvenanpassung für einen 1:1-Komplex eine Michaelis-Menten-Konstante von $K_M = 2.9 \times 10^{-3}$ M, deren Größenordnung mit Bindungs-constanten von Lanthanoid-Ionen mit Phosphaten übereinstimmt^[14], sowie eine Katalysekonstante von $k_{cat} = 2.6 \times 10^{-4}$ s⁻¹. Die Hydrolysegeschwindigkeitskonstante ohne Katalysator läßt sich aus bekannten Daten^[15d] bei $50^\circ C$ zu $k = 3 \times 10^{-10}$ s⁻¹ abschätzen.

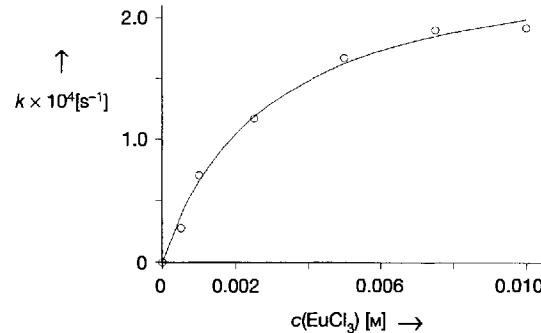
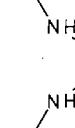
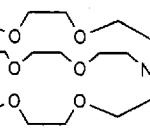
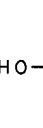


Abb. 1. Hydrolysekinetik des Bis(4-nitrophenyl)phosphats **3b** ($[3b] = 3.76 \times 10^{-5}$ M) in Abhängigkeit von der Katalysatorkonzentration $[Eu^{3+}]$ (in 0.01 M EPPS-Puffer; $50^\circ C$; pH 7.00); experimentelle Punkte und für eine Michaelis-Menten-Kinetik simulierte Kurve.

Zwar ist die Hydrolysegeschwindigkeit von Nitrophenylestern bequem meßbar, doch unterscheidet sich der Hydrolysemechanismus eventuell von dem bei nichtaktivierten Derivaten^[5, 10a]. Wir haben deshalb die Wirksamkeit von Lanthanoid-Ionen auch bei der Hydrolyse des Diphenylphosphates **3a** untersucht. Dieser Ester ist so inert, daß die notwendige Vergleichskonstante der Hydrolyse bei pH 7.0 ähnlich wie bei Dimethylphosphat^[5b] nur durch Extrapolation aus von Kirby et al. ermittelten Korrelationen zu gewinnen ist^[15]. Unter der Annahme, daß die Aktivierungsentropie für die Hydrolyse in Wasser von der Struktur des Diesters weitgehend unabhängig ist^[5b], ergibt sich eine Aktivierungsenthalpie von etwa 30 kcal mol⁻¹. Die damit berechnete Geschwindigkeitskonstante wäre dann $k_0 = 3.6 \times 10^{-12}$ s⁻¹ (bei $70^\circ C$). Der mit $[Eu^{3+}] = 4.3 \times 10^{-3}$ M gemessene Wert beträgt $k_{obs} = 3.95 \times 10^{-6}$, womit sich mit $k_{obs}/k_0 \approx 10^6$ (bei $70^\circ C$) eine sogar etwas höhere Katalysewirkung ergibt als bei dem Nitrophenylester **3b** ($k_{obs}/k_0 = 0.56 \times 10^6$, $50^\circ C$).

Mit den Liganden **4–17** (Schema 1) wurde bei gleichbleibenden Bedingungen untersucht, wie die katalytische Wirkung des Eu³⁺-Ions durch Liganden beeinflußt wird. Von Reaktionen mit RNA ist bekannt, daß es z.B. mit EDTA zur vollständigen Unterdrückung des Metalleffektes kommen kann^[4]. Tatsächlich finden wir bei einer Reihe von stickstoffhaltigen Liganden (**4–8**) eine verminderte Hydrolysegeschwindigkeit (siehe Schema 1). Aus bekannten Komplexkonstanten läßt sich abschätzen^[14], wieviel „freie“, d. h. als

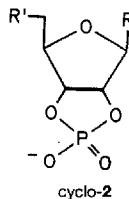
$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}_2$	4a ($n=2$) 0.13	4b ($n=3$) 0.17	
$(\text{CH}_3\text{CHOHCH}_2)_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_2\text{CHOHCH}_3)_2$	5 0.62		
	6 0.38	$\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2)_3$ 7 0.49	
$\text{HOOCCH}_2\text{HN}-\text{CH}_2-\text{NHCH}_2\text{COOH}$	8 0.082 ($c = 0.005 \text{ M}$)		
	9 0.92 ($c = 0.005 \text{ M}$)		
	10 1.03		11 1.16
	12 0.54		13 2.0
	14 2.24		15 2.53
	16 0.0055		17 < 0.0012

Schema 1. Komplexliganden L und ihre Wirkung auf die katalytische Aktivität von Eu^{3+} ; die Zahlen geben das Verhältnis der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten mit und ohne zusätzlichem Ligand an (jeweils $[3\mathbf{b}] = 3.76 \times 10^{-5} \text{ M}$ und $[\mathbf{L}] = 5 \times 10^{-2} \text{ M}$, außer bei **8** und **9**; hier $[\mathbf{L}] = 5 \times 10^{-3} \text{ M}$ aus Gründen mangelnder Löslichkeit). Folgende Verbindungen wurden ebenfalls zugesetzt, eigneten sich jedoch wegen Niederschlagsbildung oder Trübung nicht: Spermin, *N,N'*-Bis(aminopropyl)piperazin, 3,4-Dihydroxyphenylalanin, *m*-Hydroxybenzoësäure, 3,5-Dihydroxybenzoësäure, Pyrogallol.

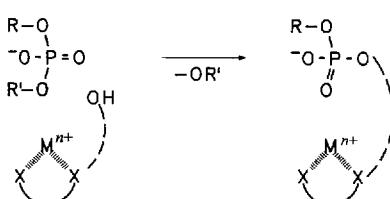
Aquakomplex vorliegende Metall-Ionen bei den jeweiligen Konzentrationen noch vorhanden sind. Der Vergleich mit den dafür aus der Sättigungskurve (Abb. 1) vorausgesagten Restaktivitäten ergibt, daß die Metall-Ionen auch im komplexierten Zustand fast immer noch katalytisch wirken. Die Aktivität sinkt in Gegenwart der meisten Liganden nur auf 10–50 % derjenigen der ligandenfreien Lösungen, obwohl z.B. bei **8** und **9** nur noch etwa ein Prozent „freie“ Metall-Ionen vorliegen. Eine Ausnahme bilden die beiden Hydroxy-carbonsäuren **16** und **17**, bei denen die Restaktivität nahe der Nachweisgrenze liegt. Als besonders vielversprechend erweist sich der Eu³⁺-Komplex mit [222]-Cryptand **9**, welcher trotz extrem hoher Komplexkonstante als einziger fast die Aktivität der freien Metall-Ionen erreicht. Unter den Meßbedingungen bilden sich die Komplexe selbst bei Cryptanden

mit dreiwertigen Lanthanoid-Ionen noch hinreichend schnell^[16]; die Dissoziationen sind dagegen, z.B. bei 25 °C mit $k_D = 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, bereits relativ langsam^[16]. Durch die thermodynamische und kinetische Stabilität bei gleichzeitiger Erhaltung der Aktivität sind wesentliche Voraussetzungen für künftige Anwendungen solcher Komplexe erfüllt.

Um den für RNA typischen hohen Hydrolysegeschwindigkeiten durch Variation der Komplexliganden näherzukommen, wurde zusätzlich ein neues Konzept untersucht. Der allgemein akzeptierte Grund für die hohe Reaktivität der RNA ist die Bildung des cyclischen Esters **cyclo-2** unter Mitwirkung der nachbarständigen 2'-OH-Gruppe. Im Prin-



zip sollte es möglich sein, diese Gruppe durch ein am Metallkomplex statt am Substrat fixiertes Nucleophil zu ersetzen (Schema 2). Die Ergebnisse erster Versuche mit Polyolen,



Schema 2. Mechanismus der Hydrolyse von Phosphorsäureestern, wenn die bei RNA-Derivaten im Substrat enthaltenen OH-Gruppe durch eine im Metallkatalysatorkomplex vorhandene ersetzt ist.

welche das katalytisch wirksame Metall-Ion – wenn auch schwach – binden^[14a] und zusätzlich nucleophile OH-Gruppen an der Peripherie tragen, stützen diese Hypothese (siehe Schema 1). Der Vorteil solcher Polyole liegt auch darin, daß sie – wie RNA – neben der bereits phosphorylierten OH-Gruppe eine weitere vicinale OH-Gruppe aufweisen, wodurch dann im zweiten (schnelleren) Schritt ein cyclisches Phosphat (ein Analogon zu *cyclo-2*) gebildet werden könnte. Die beobachteten Effekte reichen bis zu einer *zusätzlichen* Beschleunigung der Katalyse um den Faktor 2.5; noch wesentlicher ist, daß diese deutlich von der Struktur der Polyole abhängt, wobei offensichtlich ein minimaler Abstand der als Nucleophil gegenüber dem Phosphat dienenden OH-Gruppe vom Metallbindungszentrum erforderlich ist. Angesichts der bekannt kleinen Komplexkonstanten von Lanthanoid-Ionen mit Polyhydroxyverbindungen mit vicinalen OH-Gruppen^[14a] und der daraus resultierenden minimalen Konzentration an aktivem Komplex in Wasser sind die beobachteten Beschleunigungen beträchtlich: der Zusatz von z.B. $5 \times 10^{-2} \text{ M}$ **15** führt unter real beobachtbaren Bedingungen (mit $[\text{Eu}^{3+}] = 5 \times 10^{-3} \text{ M}$) zu einer Erhöhung der Hydrolysegeschwindigkeiten um insgesamt 1.4×10^6 !

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß 1) mit stabilen und einfach zugänglichen Lanthanoidkomplexen Phosphorsäureester-Hydrolysen (mit einer Michaelis-Menten-Kinetik) katalysiert werden können, wobei auch mit wenig aktivierte Abgangsgruppen Steigerungen bis zum Faktor 10^6 möglich sind, daß 2) die katalytische Aktivität auch in thermodynamisch und kinetisch sehr stabilen Komplexen erhalten bleibt – durch Modifikation der Liganden sollten deshalb

Wirksamkeit und Selektivität gegenüber Biopolymeren wie der DNA noch erhöht werden können – und daß 3) durch Einführung zusätzlicher nucleophiler Gruppen in die Metallkomplexe anstelle der bei Ribosephosphaten im Substrat selber vorhandenen 2'-OH-Gruppen eine weitere Steigerung der Katalysatoraktivität erreicht werden kann^[17].

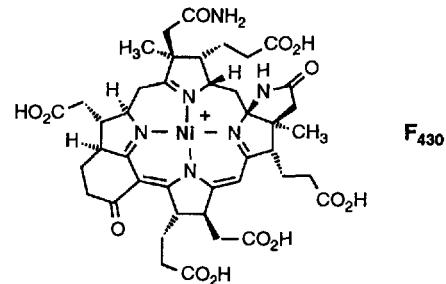
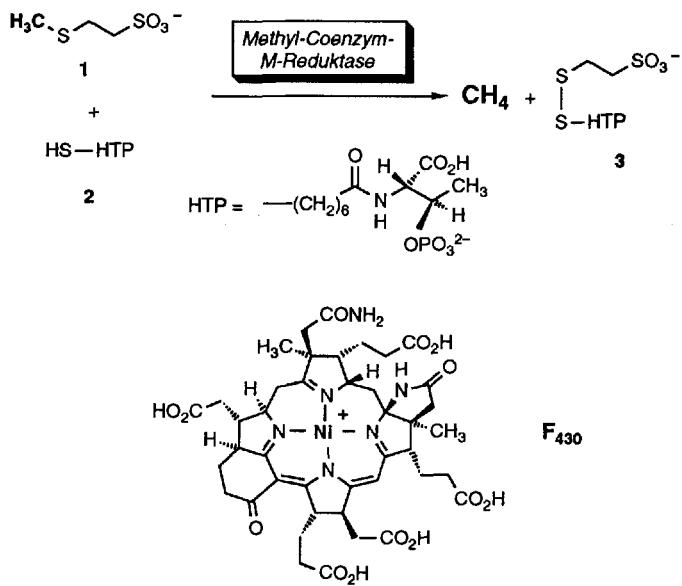
Eingegangen am 7. Mai,
veränderte Fassung am 24. Juli 1993 [Z 6064]

- [1] a) E. Bamann, *Angew. Chem.* **1939**, *52*, 186; b) E. Bamann, E. Nowotny, *Chem. Ber.* **1948**, *81*, 455; c) E. Bamann, F. Fischler, H. Trapmann, *Biochem. Z.* **1951**, *325*, 413, zit. Lit.; d) vgl. auch: W. W. Butcher, F. Westheimer, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 2420.
- [2] R. Breslow, D.-L. Huang, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 4080.
- [3] a) M. Komiyama, K. Matsumura, Y. Matsumoto, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 640; b) Y. Matsumoto, M. Komiyama, *ibid.* **1990**, 1050; vgl. auch J. Surnoaka, M. Yashiro, M. Komiyama, *ibid.* **1992**, 1707 (Hydrolyse eines cyclischen Phosphats).
- [4] J. L. Morrow, L. A. Buttrey, V. M. Shelton, K. A. Berback, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1903, zit. Lit.
- [5] a) J. Chin, *Acc. Chem. Res.* **1991**, *24*, 145; b) J. H. Kim, J. Chin, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9792; c) K. A. Browne, T. C. Bruice, *ibid.* **1992**, *114*, 4951, zit. Lit.; d) J. Chin, M. Banaszczuk, V. Jubian, X. Zou, *ibid.* **1989**, *111*, 186, zit. Lit.
- [6] a) P. Hendry, A. M. Sargeson, *Prog. Inorg. Chem.* **1990**, *38*, 201; b) M. A. DeRosch, W. C. Trogler, *Inorg. Chem.* **1990**, *29*, 2409; c) J. R. Morrow, L. A. Buttrey, K. A. Berback, *ibid.* **1992**, *31*, 16.
- [7] Zum besseren Effizienz-Vergleich der in der Literatur geschilderten Systeme definieren wir: $k_{rel} = k_{obs}/[\text{Katalysator}]^{-1}$. Mit $k_{rel} = 10^9$ bis 10^{10} sind nur die (offenbar nicht katalytisch wirkenden) Co-Komplexe von Chin et al. [5b, d] schneller als die hier vorgestellten mit $k_{rel} = 10^8$; früher beschriebene Komplexe sind mit $k_{rel} = 10^3$ bis 10^6 weit weniger reaktiv [6b, c].
- [8] a) Y. Matsumoto, M. Komiyama, *Nucleic Acids Symp. Ser.* **1992**, *27*, 33; b) P. Tachon, *Free Radical Res. Commun.* **1989**, *7*, 1.
- [9] Übersicht: N. T. Thuong, C. Hélène, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 697; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 666, zit. Lit.
- [10] a) L. A. Basile, A. L. Raphael, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 7550; b) zur Lanthanoid-Ionen-katalysierten Hydrolyse eines Phosphorsäureesters (welche allgemein schneller reagieren als die DNA-analogen Phosphorsäurediester [5a]) siehe: R. W. Hay, N. Govan, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 714.
- [11] D. S. Sigman, *Biochemistry* **1990**, *29*, 9097; D. S. Sigman, C. B. Chen, *Annu. Rev. Biochem.* **1990**, *59*, 207; C. J. Burrows, J. G. Muller, X. Chen, A. C. Dadiz, S. E. Rokita, *Pure Appl. Chem.* **1993**, *65*, 545 (Ni-Komplexe); B. Meunier, *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 1411 (Porphyrine).
- [12] a) R. P. Hertzberg, P. B. Dervan, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 313; für neueste Anwendungen siehe beispielsweise W. S. Wade, M. Mrksich, P. B. Dervan, *ibid.* **1992**, *114*, 8783; b) vgl. auch X. Chen, S. E. Rokita, C. J. Burrows, *ibid.* **1991**, *113*, 5884; N. Gupta, N. Grover, G. A. Neyhart, P. Singh, H. H. Thorp, *Inorg. Chem.* **1993**, *32*, 310; J. R. Morrow, K. A. Kolossa, *Inorg. Chim. Acta* **1992**, *195*, 245, zit. Lit.
- [13] a) Vgl. H.-J. Schneider, T. Blatter, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 1244; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 1207, zit. Lit.; b) H.-J. Schneider, J. Rammo, A. E. Eliseev, B. Schu, unveröffentlicht.
- [14] a) Gmelin, *Handbook of Inorganic Chemistry* 1980–, 8. Aufl., Part D1 1980, S. 159ff; Part D2, 1982, S. 314ff; Part D3, 1981, S. 31ff; b) G.-y. Adachi, Y. Hirashima in *Cation Binding by Macrocycles* (Hrsg.: Y. Inoue, G. W. Gokel), Dekker, New York, 1990, S. 701 (Lanthanoidkomplexe); c) E. M. Eyring, S. Petrucci, *ibid.*, S. 179 (die hier diskutierten Diskrepanzen kinetischer Parameter je nach Meßverfahren ebenso wie die teilweise differierenden Komplexkonstanten [14a, b, d] sind für unsere Interpretation von untergeordneter Bedeutung); d) F. Vögtle, E. Weber in *Crown Ethers and Analogs* (Hrsg.: S. Patai, Z. Rappoport), Wiley, Chichester, England, 1989, S. 216ff.
- [15] A. J. Kirby, M. Younas, *J. Chem. Soc.* **1970**, 510.
- [16] E. L. Lee, O. A. Gansow, M. J. Weber, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 2278; aus den hier angegebenen Daten ergibt sich für $\text{Eu}^{3+} + [222]\text{-Cryptand 9}$ bei 25°C für die Assoziation unter unseren Bedingungen eine Halbwertszeit von etwa 80 s. Hierfür wie vermutlich auch für die noch hohe katalytische Aktivität des Komplexes ist wesentlich, daß auch innerhalb der Cryptanden die Metall-Ionen teilweise noch hydratisiert vorliegen können [14c, d].
- [17] Die Reaktionsgeschwindigkeiten wurden bei 400 nm (3b) und 275 nm (3a) photometrisch gemessen (50°C ; pH 7.0, Puffer: 0.01 M EPSS); weitere Bedingungen sind in den Legenden von Abbildung 1 und Schema 1 angegeben. Die nichtlineare Kurvenanpassung für Reaktionen (pseudo-)erster Ordnung über meist zwei oder drei Halbwertszeiten zeigte ausgezeichnete Korrelationskoeffizienten (>0.997); die bei der Regression beobachteten Streuungen der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten waren $\pm 1\%$, ebenso die Reproduzierbarkeit bei Doppelbestimmungen.

Konformationsanalyse an Ni^{II}-Modellkomplexen für die Methyl-Coenzym-M-Reduktase methanogener Bakterien: ein Vergleich von Strukturen im Kristall und in Lösung**

Von Albrecht Berkessel*, Michael Bolte,
Christian Griesinger*, Gottfried Huttner,
Thomas Neumann, Berthold Schiemenz,
Harald Schwalbe und Thomas Schwenk

Im letzten Schritt der archaeabakteriellen Methanogenese wird der Methylthioether Methyl-Coenzym-M 1 mit dem Thiol *N*-7-Mercaptoheptanoyl-*O*-phospho-L-threonin („HS-HTP“, 2) zu Methan und dem gemischten Disulfid 3 umgesetzt^[1]. Diese ungewöhnliche Reaktion wird durch das Enzym Methyl-Coenzym-M-Reduktase bewirkt, das als Cofaktor das Nickel-Tetrahydrocorphinoid „Faktor 430“ (F_{430}) enthält^[2]. Allgemein beruht die von Metalloenzymen bewirkte Katalyse auf der spezifischen Wechselwirkung zwischen Substrat(en) und Metall-Ion(en). Auch im Fall der Methyl-Coenzym-M-Reduktase kann davon ausgegangen werden, daß das Nickel-Ion von F_{430} am katalytischen Geschehen beteiligt ist^[3].



Übergangsmetallkomplexe mehrzähniger Liganden haben sich als Modelle zum Studium der Substrat-Metall-Wechselwirkungen in Metalloenzymen bewährt^[4]. Im Fall der Methyl-Coenzym-M-Reduktase dienten Nickelchelate wie *rac*-4 als Modelle zur Simulation der Wechselwirkung der schwefelorganischen Substrate 1 und 2 mit dem Cofaktor F_{430} : Durch Vergleich der Redoxeigenschaften von Mo-

[*] Prof. Dr. A. Berkessel, Dipl.-Chem. T. Schwenk
Organisch-chemisches Institut der Universität
Im Neuenheimer Feld 270, D-69120 Heidelberg
Telefax: Int. + 6221/56-4205

Prof. Dr. C. Griesinger, Dr. M. Bolte, Dipl.-Chem. H. Schwalbe
Institut für Organische Chemie der Universität
Marie-Curie-Straße 11, D-60439 Frankfurt am Main
Prof. Dr. G. Huttner, Dipl.-Chem. B. Schiemenz
Anorganisch-chemisches Institut der Universität Heidelberg
Dipl.-Chem. T. Neumann
Institut für Organische Chemie der Universität Göttingen

[**] Diese Arbeit wurde vom Bundesministerium für Forschung und Technologie (Projekt 0318801), von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Projekt Be 998/2-1,2) und vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert.