

Zweikernige Metallkomplexe als effiziente Vermittler biochemisch relevanter Hydrolysereaktionen

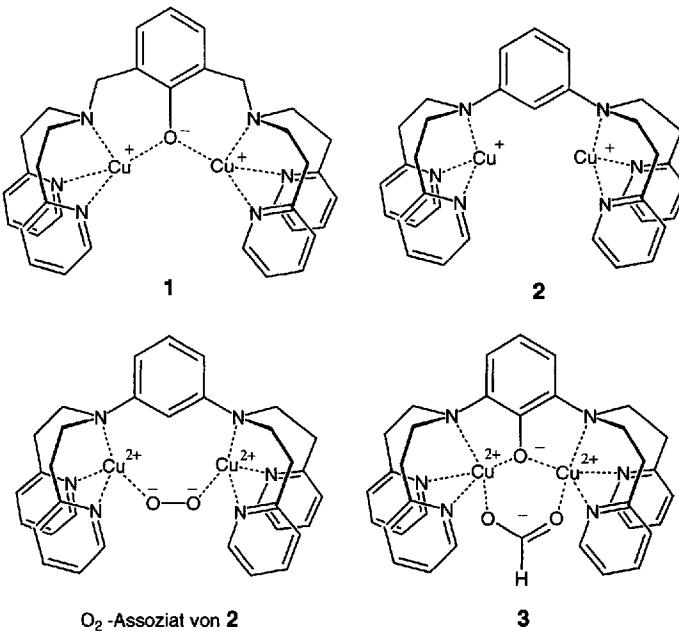
Michael W. Göbel *

Mit ihrer oftmals erstaunlich hohen Selektivität bei gleichzeitig enormer Beschleunigung von Reaktionen setzen Enzyme dem Chemiker einen hohen Standard für die Entwicklung synthetischer Katalysatoren, der sich nur schwierig erreichen oder gar übertreffen lässt. Die Aufklärung der Funktionsweise von Enzymen zählt daher zu den großen Aufgaben der Wissenschaft, zu deren Lösung verschiedenste Forschungsdisziplinen ihren Beitrag leisten. Besonders die Röntgenstrukturanalyse hat in den letzten Jahren eine Fülle detaillierter Strukturinformationen bereitgestellt, die als Grundlage für die Formulierung mechanistischer Vorstellungen dienen können. Die weitere Verfeinerung solcher Modelle ist dann mit der gezielten Mutagenese und durch Rechnungen möglich. Angesichts des Erfolgs methodischer Ansätze, die gewissermaßen eine Gesamtsicht des Problems ergeben können, stellt sich die Frage, welche Rolle die Syntheseschemie in Fragen der Enzymkatalyse heute zu spielen vermag. Ist die Synthese niedermolekularer Enzymmodelle eigentlich noch zeitgemäß?

Ich glaube, diese Frage entschieden bejahen zu können. Allerdings gilt es, ein Mißverständnis zu vermeiden: Enzymmodelle, die der komplexen Struktur und Dynamik eines proteinogenen Katalysators gerecht werden, kommen bei den Bemühungen der Synthetiker in der Regel nicht zustande. Dies ist auch nicht das Ziel solcher Arbeiten. Untersuchungen an kleinen, gut beschreibbaren Molekülen dienen vielmehr dazu, einen bestimmten Aspekt des interessierenden Enzyms, z.B. die aus Kristallstrukturdaten erhaltene spezielle Anordnung von funktionellen Gruppen, in isolierter Form zu betrachten und auf ihre Relevanz in bezug auf den Reaktionsmechanismus zu überprüfen. Schrittweise werden so einzelne Funktionsprinzipien herausgearbeitet, die für ein tieferes Verständnis nützlich sind. Ein weiterer Vorteil der reduktionistischen Sicht liegt in der Möglichkeit, unter Nutzung der am Modell gefundenen Prinzipien gänzlich neuartige, enzymanaloge Katalysatoren zu konstruieren, die in Zukunft auch praktische Bedeutung erlangen könnten.

Ein schönes Beispiel für den Wert solcher Modellsysteme bildet eine Reihe kürzlich erschienener Arbeiten über zweikernige Metallkomplexe. Neben den schon länger bekannten Eisen-Schwefel-Proteinen der Atmungskette wurden in jüngerer Zeit Enzyme und Proteine beschrieben, deren aktive Zentren Gruppen mit zwei oder drei interagierenden Metall-Ionen (z.B. Zn, Fe, Cu) enthalten^[1]. Die biologischen Aufgaben reichen vom Sauerstofftransport bis zu Oxygenase- und Hydrolaseaktivitäten. Da die Struktur-Funktions-Beziehungen dieser Enzyme im Detail noch keineswegs geklärt sind, ist die Synthese vereinfachter Modellkomplexe ein wichtiges Ziel. Typischerweise kommen hierfür symmetrische, über *meta*-substituierte Arenbausteine verknüpfte Liganden zur Anwendung. So konnten Karlin et al. mit **1** nach dem Vorbild von Hämocyanin, das kupferhaltige O₂-Transportprotein der Mollusken, einen zweikernigen Kupferkomplex herstellen, der bei tiefer Temperatur O₂ reversibel bindet^[2a]. Noch beständiger ist das Sauerstoffassoziat des Komplexes **2**^[2b]. In Gegenwart von Dimethylformamid (DMF) oder -acetamid reagiert dieses Assoziat jedoch augenblicklich unter Bildung von **3**, dessen Struktur röntgenographisch aufgeklärt

Fe, Cu) enthalten^[1]. Die biologischen Aufgaben reichen vom Sauerstofftransport bis zu Oxygenase- und Hydrolaseaktivitäten. Da die Struktur-Funktions-Beziehungen dieser Enzyme im Detail noch keineswegs geklärt sind, ist die Synthese vereinfachter Modellkomplexe ein wichtiges Ziel. Typischerweise kommen hierfür symmetrische, über *meta*-substituierte Arenbausteine verknüpfte Liganden zur Anwendung. So konnten Karlin et al. mit **1** nach dem Vorbild von Hämocyanin, das kupferhaltige O₂-Transportprotein der Mollusken, einen zweikernigen Kupferkomplex herstellen, der bei tiefer Temperatur O₂ reversibel bindet^[2a]. Noch beständiger ist das Sauerstoffassoziat des Komplexes **2**^[2b]. In Gegenwart von Dimethylformamid (DMF) oder -acetamid reagiert dieses Assoziat jedoch augenblicklich unter Bildung von **3**, dessen Struktur röntgenographisch aufgeklärt

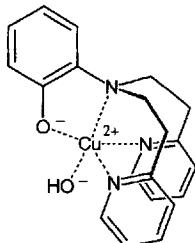
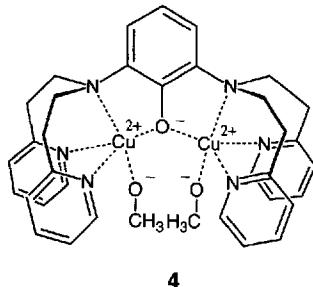


wurde. Bei analogen Kupferkomplexen war die bemerkenswerte Redoxreaktion, Hydroxylierung des Arens und Oxidation der Kupfer-Ionen, bereits früher aufgetreten^[2c]. Völlig unerwartet jedoch das „Schicksal“ des Amids: Es wird zum Formiat-Ion hydrolysiert. Angesichts der hohen kinetischen Stabilität von Carbonsäureamiden, deren Halbwertszeit in neutralem Wasser im Bereich von Jahren liegt, ist eine innerhalb von Sekunden

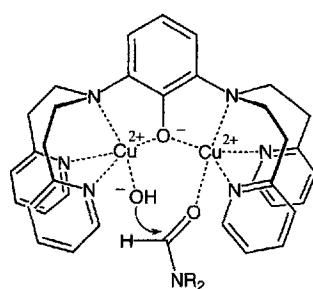
[*] Dr. M. W. Göbel

Institut für Organische Chemie der Universität
Marie-Curie-Straße 11, D-60439 Frankfurt am Main
Telefax: Int. + 69/5800-9250

ablaufende Hydrolyse von DMF ein neuer Geschwindigkeitsrekord! Wo ist die Ursache dieser enormen Beschleunigung zu suchen? Zum einen scheint die Gegenwart beider Kupfer-Ionen essentiell zu sein. Während **4** DMF mit einer Geschwindigkeitskonstanten pseudoerster Ordnung von etwa 0.3 h^{-1} hydrolysiert, ist mit dem einkernigen Komplex **5** keine Reaktion zu

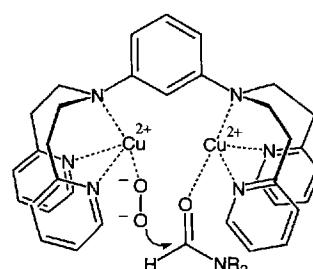


beobachten^[3]. Wahrscheinlich koordiniert das erste Cu-Ion von **4** ein Hydroxid-Ion, während das zweite Cu-Kation die Carbonylgruppe von DMF am Sauerstoff bindet und als Lewis-Säure für die intramolekulare Addition des Nucleophils aktiviert (Schema 1). Im Hinblick auf seine Reaktivität ist **4** mit bereits bekannten Metallkatalysatoren von Amidhydrolysen^[3] durchaus vergleichbar, doch das Sauerstofffassoziat von **2** bleibt unerreicht. Wie man weiß, nimmt aufgrund des α -Effekts die Nucleophilie von OOH^- -Ionen im Vergleich zu OH^- -Ionen drastisch zu.



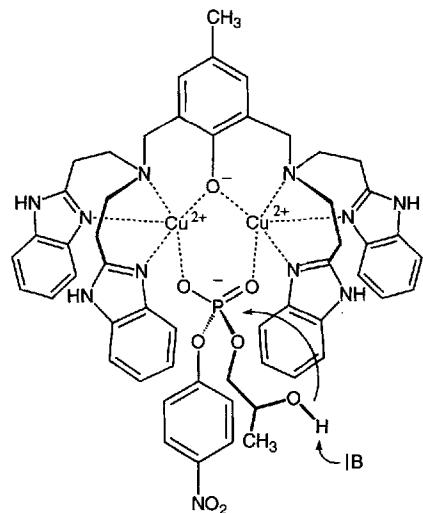
Schema 1. Postulierter Mechanismus der Amidhydrolyse mit **4** als Katalysator.

Die Autoren vermuten daher, ein in der primären Redoxreaktion entstandener Cu^{2+} -Komplex mit Peroxidoliganden könnte die Hydrolyse bewirkende Spezies sein. Schema 2 gibt den angenommenen Mechanismus wieder. Mit der Untersuchung von Komplex **2** wurden nicht nur die erhofften Antworten auf Fragen der Sauerstoffbindung an Kupferkomplexen erhalten, sondern, gleichsam als Zugabe, ein neuartiger Ansatz für die Konstruktion künstlicher Peptidasen gefunden.



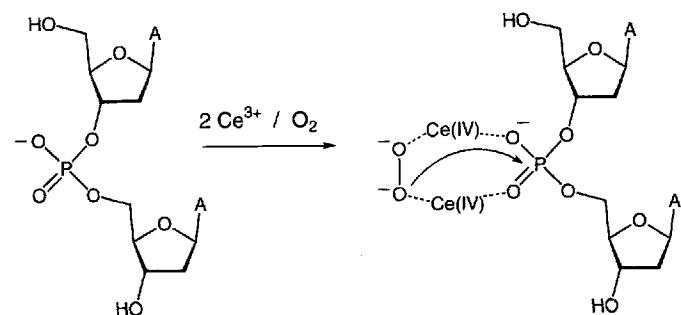
Schema 2. Postulierter Mechanismus der Amidhydrolyse mit **2** als Katalysator.

der HIV-Reversen-Transkriptase zählt, für die Katalyse zahlreicher Acyl- und Phosphoryl-Übertragungsreaktionen. Chin et al. wählten einen mit **1** verwandten zweikernigen Kupferkomplex, um die Reaktion eines Phosphorsäureester-Anions zu beschleunigen^[4] (Schema 3). Diese Reaktion kann als Modell für den ersten Schritt der Hydrolyse von RNA gelten, wobei die Alkohol-



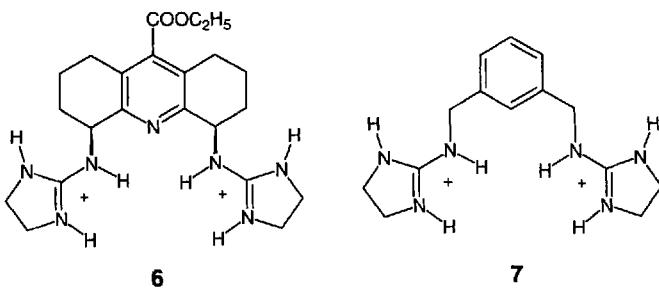
Schema 3. Modellreaktion für den ersten Schritt der Hydrolyse von RNA. B = Base.

funktion der Seitenkette als Nucleophil das Phosphorylzentrum unter Ringschluß angreift. Wie im zuvor geschilderten Fall wurde der zweikernige mit einem analogen einkernigen Kupferkomplex verglichen: Die rund 50mal höhere Geschwindigkeitskonstante des zweikernigen Komplexes zeigt an, daß auch hier wahrscheinlich^[5] die beiden Metall-Ionen kooperieren. Da bei der Cyclisierung des Substrats Übergangsstrukturen mit erhöhter negativer Ladungsdichte an der Phosphorylgruppe durchlaufen werden, ist die Wechselwirkung mit mehreren elektrophilen Metallzentren vorteilhaft. Auch analoge Zinkkomplexe wurden bereits zur Hydrolyse ähnlicher Modellsubstrate herangezogen^[6]. Den heikelsten Prüfstein für jegliche synthetische Hydrolase bilden jedoch die Phosphodiestergruppen der DNA. Da wegen der bei DNA fehlenden Hydroxyfunktion an C-2' im Gegensatz zu RNA kein entropisch begünstigter intramolekularer Reaktionsverlauf möglich ist, zeigen diese Phosphorsäureester eine extreme kinetische Stabilität gegenüber Substitutionen. Mit dem redoxaktiven System $\text{Ce}^{3+}/\text{O}_2$ konnten Chin et al. inzwischen auch die *hydrolytische* Spaltung von Desoxyribonucleotiden in überzeugender Weise durchführen^[7]. Obwohl der Mechanismus der Hydrolyse noch nicht völlig geklärt ist, erscheint die Annahme plausibel, ein durch Reaktion von Ce^{3+} -Ionen mit Sauerstoff gebildeter Komplex aus zwei Ce^{4+} -Ionen und dem Dianion O_2^{2-} sei das wirksame Reagens (Schema 4). Dieses sollte sich durch eine ähnliche Kombination elektrophiler und nucleophiler Eigenschaften auszeichnen, wie das Zwischenprodukt der von Karlin et al. beobachteten Amidhydrolyse.



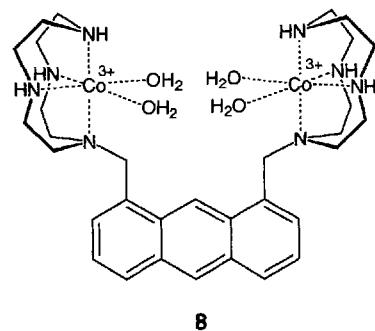
Schema 4. Mutmaßlicher Mechanismus der durch $\text{Ce}^{3+}/\text{O}_2$ bewirkten Hydrolyse von Desoxyribonucleotiden.

Um eine elektrophile, Lewis-Säure-artige Aktivierung von Substraten zu erreichen, sind Enzyme jedoch nicht ausschließlich auf Metall-Ionen angewiesen. Vielfach erfüllen auch Guanidinium-Ionen von Arginin-Seitenketten diese Funktion. So beschleunigt die Staphylokokken-Nuclease die Hydrolyse von Phosphorsäureester-Anionen um sechzehn Zehnerpotenzen (!), obwohl das aktive Zentrum nur *ein* Calcium-Ion enthält. Entscheidend ist die zusätzliche Gegenwart zweier Guanidinium-Ionen, die sowohl elektrostatische als auch strukturelle Komplementarität zu den dianionischen, trigonal-bipyramidalen Übergangsstrukturen der Substrathydrolyse aufweisen. Gleich drei Arbeitsgruppen haben nun versucht, die Bis(guanidinium)-Substruktur der Staphylokokken-Nuclease als wirksames Prinzip synthetischer Katalysatoren mit Phosphodiesteraseaktivität einzusetzen^[8]. Bei den Verbindungen **6** und **7** sind die



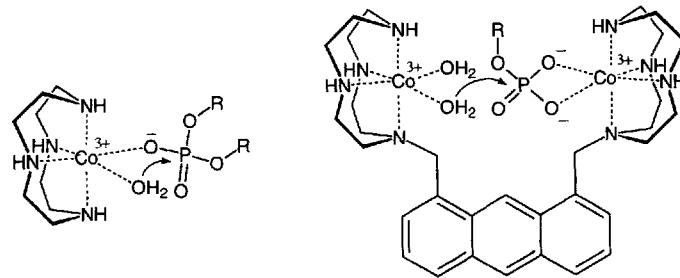
kationischen Gruppen so miteinander verbunden, daß zu einem komplexierten tetraedrischen oder trigonal-bipyramidalen Oxo-Anion gleichzeitig vier Wasserstoffbrücken ausgebildet werden können. Wie erhofft, beschleunigen **7** und analoge Verbindungen Substitutionsreaktionen von Phosphorsäurediestern in dipolar-aprotischen Lösungsmitteln stark^[8c, 8d]. Mit **6** konnten Anslyn, Smith et al. sogar die Spaltung von RNA in Wasser katalysieren^[8b].

Von den bisher behandelten Verbindungen unterscheidet sich der von Czarnik et al. beschriebene zweikernige Co-Komplex **8**¹⁹¹. Die beiden Metall-Ionen werden durch den Abstands- halter so weit voneinander getrennt, daß keine direkte Dimeri- sierung der beiden Untereinheiten über Sauerstoffbrücken



möglich ist. Der Komplex **8** beschleunigt die Hydrolyse von Phosphorsäurediester-Anionen um sieben Zehnerpotenzen, übertrifft die Wirkung einkerniger Komplexe jedoch nicht. Von Co^{3+} -Komplexen ist bekannt^[31], daß Nucleophil und Phosphorsäurediester an dasselbe Metall-Ion

gebunden werden und intramolekular über einen viergliedrigen Übergangszustand reagieren (Schema 5, links). Die hohe Wirk-



Schema 5. Postulierte Mechanismen für die Hydrolyse von Phosphorsäureestern.

samkeit von **8** ist daher nicht auf eine Kooperativität der beiden Co^{3+} -Ionen zurückzuführen. Dagegen erhöht **8** die Hydrolysegeschwindigkeit von Phosphorsäuremonoestern im Vergleich zu entsprechenden einkernigen Komplexen etwa zehnfach stärker. Wahrscheinlich koordiniert ein Metall-Ion das nucleophile Wasserstoffmolekül, während das zweite die Phosphorylgruppe unter Bildung eines Vierrings bindet^[31]. Die Reaktion der Phosphorsäuremonoester kann daher von der speziellen räumlichen Anordnung der Metall-Ionen in **8** profitieren (Schema 5, rechts).

Die kleine Auswahl an Beispielen soll verdeutlichen, daß mit synthetischen Metallkomplexen eine Fülle subtiler Einblicke in Struktur-Wirkungs-Beziehungen erhalten werden kann, die auch für Enzyme Gültigkeit haben dürfen. Fein abgestufte Strukturänderungen sind an Proteinen weit schwieriger durchzuführen und noch schwieriger zu überprüfen. Darüber hinaus zeigen die vorgestellten Modellsysteme trotz ihres einfachen Aufbaus beachtliche Reaktivitäten. Die Verbindungen sind durchaus von praktischem Interesse, sei es als künstliche Proteasen oder als synthetische Ribonucleasen, die – verknüpft mit Antisense-Oligonucleotiden – eine hydrolytische Inaktivierung von pathogener Messenger-RNA bewirken könnten.

- [1] a) K. D. Karlin, *Science* **1993**, *261*, 701–708; b) B. L. Vallee, D. S. Auld, *Biochemistry* **1993**, *32*, 6493–6500.
 - [2] a) P. P. Paul, Z. Tyeklár, R. R. Jacobson, K. D. Karlin, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5322–5332; b) N. N. Murthy, M. Mahroof-Tahir, K. D. Karlin, *ibid.* **1993**, *115*, 10404–10405; c) M. S. Nasir, B. I. Cohen, K. D. Karlin, *ibid.* **1992**, *114*, 2482–2494.
 - [3] Die Hydrolyse von Amiden ist jedoch grundsätzlich auch an einkernigen Metallkomplexen möglich: J. Chin, *Acc. Chem. Res.* **1991**, *24*, 145–152.
 - [4] M. Wall, R. C. Hynes, J. Chin, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1696–1697; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1633–1635.
 - [5] Die Autoren weisen jedoch darauf hin, daß die unterschiedliche Kinetik auch mit verschiedenen Katalysator-Substrat-Affinitäten zusammenhängen könnte.
 - [6] a) Zweikerniger Zn-Komplex als Modell des aktiven Zentrums der Phospholipase C: S. Uhlenbrock, B. Krebs, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 1631–1632; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 1647–1648; b) Hydrolyse von Phosphorsäure-estern an zweikernigen Zn-Komplexen: S. Hikichi, M. Tanaka, Y. Moro-oka, N. Kitajima, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 814–815.
 - [7] B. K. Takasaki, J. Chin, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1121–1122.
 - [8] a) D. M. Kneeland, K. Ariga, V. M. Lynch, C.-Y. Huang, E. V. Anslyn, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10042–10055; b) J. Smith, K. Ariga, E. V. Anslyn, *ibid.* **1993**, *115*, 362–364; c) V. Jubian, R. P. Dixon, A. D. Hamilton, *ibid.* **1992**, *114*, 1120–1121; d) R. Groß, G. Dürner, M. W. Göbel, *Liebigs Ann. Chem.* **1994**, 49–58.
 - [9] D. H. Vance, A. W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 12165–12166.