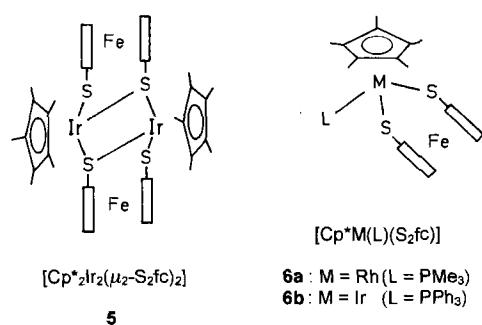


werden (z.B. Cp^* als Fünfelektronen-Ligand), so wäre die 1,1'-Ferrocendithiolato-Gruppe [S_2fc] in **1–4** ein Sechselektronen-Ligand. In der Iridiumverbindung **5**, die keine Metall-Metall-Bindung aufweist, stellen die beiden [S_2fc]-Liganden jeweils vier Elektronen zur Verfügung^[19]. Komplex **5** entsteht in geringer Ausbeute (2–5%) bei der Reaktion von $[(\text{Cp}^*\text{IrCl}_2)_2]$ ^[15] mit $[\text{fc}(\text{SLi})_2]$; viel günstiger (70–80%) ist die Schwefel-induzierte Triphenylphosphoran-Eliminierung aus der einkernigen Vorstufe $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{PPh}_3)(\text{S}_2\text{fc})] \mathbf{6b}$ ^[19]. In den sehr beständigen 18-Elektronen-Komplexen **6a** und **6b** fungiert [S_2fc] als Zweielektronen-Ligand. Die dimere Struktur von **5** wurde durch eine Röntgenstrukturanalyse des Selen-Analogons, $[\text{Cp}^*\text{Ir}_2(\text{Se}_2\text{fc})_2]$, bestätigt^[19].



Zusammenfassend ergibt sich, daß die 1,1'-Ferrocendithiolato-Einheit [S_2fc] ein vielseitiges Ligandsystem ist, das als Zweielektronen- (in **6a** und **6b**), Vierelektronen- (in **5**) und Sechselektronen-Donor (in **1–4**) sowie als Chelat- oder Brückenligand fungieren kann.

Experimentelles

1: Eine grüne Lösung von $[(\text{Cp}^*\text{CoCl}_2)_2]$ ^[9] (0.42 g, 0.80 mmol) in 20 mL THF und eine orange Lösung von $[\text{fc}(\text{SLi})_2]$ (0.45 g, 1.1 mmol) in 100 mL THF wurden bei -78°C zusammengegeben; dabei veränderte sich die Farbe der homogenen Mischung nach violett. Die Lösung wurde 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abdestillieren des Solvens wurde der Rückstand durch Säulenchromatographie an Silicagel (Merck, Kieselgel 60) getrennt. Elution mit Pentan/ CH_2Cl_2 (1:2) ergab 1. Umkristallisieren aus $\text{CHCl}_3/\text{Toluol}/\text{Hexan}$ -Gemischen bei -25°C lieferte violette Mikrokristalle von **1** (0.15 g, 30.1 %, Schmp. 248 °C). EI-MS (70 eV): auffällige Peaks bei m/z (%): 943 (100) [M^+], 808 (10) [$M^+ - \text{Cp}^*$], 636 (48) [$\text{Cp}_2^*\text{Co}_2(\text{S}_2\text{fc})^+$], 501 (22) [$\text{Cp}^*\text{Co}_2(\text{S}_2\text{fc})^+$], 442 (42) [$\text{Cp}^*\text{Co}(\text{S}_2\text{fc})^+$]; außerdem werden starke Peaks der Ferrocen-Oligomeren (m/z 370 [Fe_2^+], 554 [$\text{Fe}(\text{fc})\text{Fc}^+$], 738 [$\text{Fe}(\text{fc})_2\text{Fc}^+$]) beobachtet. Das effektive magnetische Moment wurde bei Raumtemperatur zu $5.6 \mu_B$ bestimmt, es nahm mit sinkender Temperatur bis auf $3.4 \mu_B$ bei 6 K ab [20].

2: Die Reaktion von $[(\text{Cp}^*\text{RhCl}_2)_2]$ ^[15] (0.24 g, 0.38 mmol) mit $[\text{fc}(\text{SLi})_2]$ (0.31 g, 0.76 mmol) in 130 mL THF wurde bei -78°C begonnen und dann 4 h bei Raumtemperatur weitergeführt. Chromatographieren an Silicagel (mit $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Hexan}$ -Mischungen zur Elution) ergab mehrere Banden; aus der ersten (violetten) Zone nach der Ferrocen-Bande [FcH] wurden violette Kristalle von **2** erhalten, die aus Hexan oder Pentan umkristallisiert wurden (0.12 g, 41 %, Schmp. 168 °C). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.99$ (s, $C_5\text{Me}_5$, 30 H), 3.74, 4.39 (vt, fc, 4 + 4 H). EI-MS (70 eV): m/z 723 (100%) [$M^+ - \text{H}$].

Eingegangen am 29. Dezember 1993,
veränderte Fassung am 13. Dezember 1994 [Z 6592]

Stichworte: Cobaltverbindungen · Iridiumverbindungen · Komplexe mit Schwefelliganden · Rhodiumverbindungen · Sandwichkomplexe

[1] Übersichten: a) D. A. Buckingham, C. R. Clark in *Comprehensive Coordination Chemistry*, Vol. 4 (Hrsg.: G. Wilkinson, R. D. Gillard, J. A. McCleverty), Pergamon, 1987, S. 635–900; b) R. D. W. Kemmitt, D. R. Russell in *Comprehensive Organometallic Chemistry*, Vol. 5 (Hrsg.: G. Wilkinson, F. G. A. Stone, E. W. Abel), Pergamon, 1982, S. 1–276.

- [2] C. H. Wei, L. F. Dahl, *Inorg. Chem.* **1967**, *6*, 1229–1236.
- [3] P. D. Frisch, L. F. Dahl, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 5082–5084.
- [4] S. Otsuka, A. Nakamura, T. Yoshida, *Liebigs Ann. Chem.* **1968**, *719*, 54–60.
- [5] a) H. Werner, K. Leonhard, *Angew. Chem.* **1979**, *91*, 663–664; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1979**, *18*, 663; b) H. Werner, K. Leonhard, O. Kolb, E. Röttinger, H. Vahrenkamp, *Chem. Ber.* **1980**, *113*, 1654–1662.
- [6] a) J. Fortune, A. R. Manning, F. S. Stephens, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1983**, 1071–1072; b) A. R. Manning, L. O'Dwyer, P. A. McArdle, D. Cunningham, *J. Organomet. Chem.* **1994**, *474*, 173–176.
- [7] G. Henkel, W. Tremel, B. Krebs, *Angew. Chem.* **1983**, *95*, 314; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1983**, *22*, 318; *Angew. Chem. Suppl.* **1983**, 307–322.
- [8] C. H. Wei, L. F. Dahl, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 3960–3969, 3977–3983.
- [9] U. Kölle, B. Fuss, *Chem. Ber.* **1984**, *117*, 743–752.
- [10] Daten zur Kristallstrukturanalyse von $\text{C}_{40}\text{H}_{46}\text{Co}_3\text{Fe}_2\text{S}_4$ **1**: Diffraktometer: Siemens P4 (MoK_α , $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$, Graphitmonochromator); monoklin, $P2/n$, $a = 12.558(3)$, $b = 10.151(2)$, $c = 15.792(3) \text{ \AA}$, $\beta = 107.54(2)^\circ$, $Z = 2$; violett-schwarzes Plättchen, $0.04 \times 0.38 \times 0.40 \text{ mm}$; Vermessener Bereich: $4.0^\circ \leq 2\theta \leq 45.0^\circ$; vermessener Oktant hkl , $T = 298 \text{ K}$; gemessene Reflexe: 5235; unabhängige Reflexe: 2516 ($R_{\text{int}} = 0.049$); davon beobachtete Reflexe: 1746 ($F > 4.0\sigma(F)$); Strukturlösung mit Direkten Methoden (SHELXTL PLUS (VMS)); Zahl der verfeinerten Parameter: 222; $R = 0.0493$; $wR = 0.0599$ ($w^{-1} = \sigma^2(F) + 0.0020F^2$); maximale/minimale Restelektronendichte: $0.54/-0.49 \text{ e \AA}^{-3}$. Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Fachinformationszentrum Karlsruhe, D-76344 Eggenstein-Leopoldshafen, unter Angabe der Hinterlegungsnummer CSD-58076 angefordert werden.
- [11] G. Henkel, S. Weißgräber, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 1382–1383; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 1368–1369.
- [12] A. Shaver, S. Morris, R. Turrin, V. W. Day, *Inorg. Chem.* **1990**, *29*, 3622–3623.
- [13] R. Minkwitz, H. Borrman, J. Nowicki, *Z. Naturforsch. B* **1992**, *47*, 915–918.
- [14] C. R. Pulliam, J. B. Thoden, A. M. Stacy, B. Spencer, M. H. Englert, L. F. Dahl, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7398–7410.
- [15] J. W. Kang, K. Mosley, P. M. Maitlis, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 5970–5977.
- [16] D. Seyforth, B. W. Hames, *Inorg. Chim. Acta* **1983**, *77*, L1–L2.
- [17] W. R. Cullen, A. Talaba, S. J. Rettig, *Organometallics* **1992**, *11*, 3152–3156.
- [18] a) R. Hoffmann, *Angew. Chem.* **1982**, *94*, 725–739; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, *21*, 711–724; b) F. G. A. Stone, *ibid.* **1984**, *96*, 85–96 bzw. **1984**, *23*, 89–99.
- [19] M. Herberhold, G.-X. Jin, A. L. Rheingold, G. F. Sheats, *Z. Naturforsch. B* **1992**, *47*, 1091–1098.
- [20] W. Bronger, Technische Hochschule Aachen, persönliche Mitteilung, **1994**.

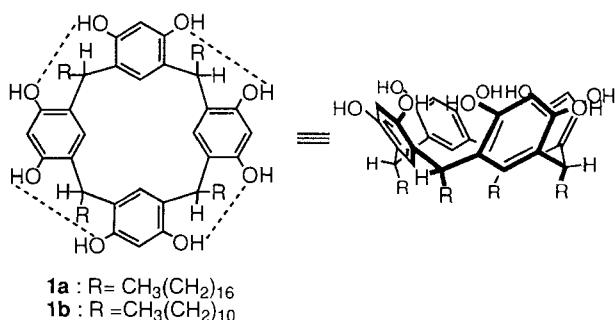
Ein nichtpeptidisches Ionenkanal mit K^+ -Selektivität

Yasutaka Tanaka, Yoshiaki Kobuke* und Masahiro Sokabe

Durch Sequenzanalysen von Kanalproteinen wurde die molekulare Basis von Ionenkanälen aufgeklärt; diese werden durch mehrere assoziierte Untereinheiten und eine zentrale, ionenleitende Pore in der biologischen Membran gebildet^[1]. Punktmutationen halfen, den Porenmechanismus zu klären^[2]. Zur gleichen Zeit haben stabile und einfache synthetische Moleküle, die Ionen über einen Kanalmechanismus durch die Membran transportieren können, große Beachtung gefunden, und einige nichtpeptidische Kanalmimetica wurden beschrieben^[3]. Trotzdem fehlt eine detaillierte Charakterisierung dieser Moleküle auf der Ebene einzelner Ionenkanäle, wie sie bei den natürlichen Ionenkanälen gelungen ist. Im Prinzip ist die Messung eines einzelnen Ionenkanalstroms erforderlich, um den Kanalmechanismus nachzuweisen^[4]. Wir fanden^[5], daß eine chimäre Pore, bestehend aus molekularen Aggregaten mit einem Oligoether-Ionenpaar, einen Einzelionen-

[*] Prof. Dr. Y. Kobuke, Dr. Y. Tanaka
Department of Materials Science, Faculty of Engineering
Shizuoka University
Hamamatsu, Shizuoka 432 (Japan)
Telefax: Int. +53/473-4170
Prof. Dr. M. Sokabe
Nagoya University (Japan)

kanalstrom zeigt. Unterschiedliche Leitfähigkeitsniveaus schienen unterschiedlichen Aggregationszustände widerzuspiegeln^[5]. Hier berichten wir über das strukturell wohldefinierte makrocyclische Amphiphil **1a**, das Kanäle bildet, die Einzelströme nur eines Typs liefern. Dies ist das erste Beispiel eines künstlichen Ionenkanals, der monovalente Kationen erkennt und eine besondere Selektivität für K^+ -Ionen zeigt.



Kondensation von Resorcin mit Octadecanal unter sauren Bedingungen ergab das amphiphile cyclische Tetramer **1a**, dessen Alkylketten eine ähnliche Länge aufweisen, wie die des bei unseren Untersuchungen eingesetzten Lipids^[6]. Die 1H -NMR-Spektren von **1a** belegten die vierzählige Symmetrie des Moleküls, wobei die Alkylketten in all-axialer- und all-cis-Konfiguration (wie bei **1b**^[7]) angeordnet sind. Nach Einbau in planare Doppelschichten aus Sojabohnenlecithin zeigte **1a** die typischen Eigenschaften eines Einzelionenkanals: Stabile und konstante Leitfähigkeit ($6.1 \pm 0.8 \text{ pS}$) bei unterschiedlichen Spannungen, mit Übergängen zwischen offenen und geschlossenen Zuständen in einer Membran, die zwei 0.5 M KCl-Lösungen trennt (Abb. 1)^[8]. Die Symmetrie des Kanalstroms in bezug auf Span-

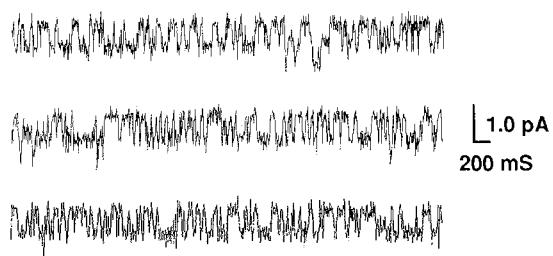


Abb. 1. Typische Einzelkanalströme bei Sojabohnenlecithin-Membranen mit **1a**; -74.4 mV in 0.5 M KCl-Lösung.

nungsumkehr an der Membran (Abb. 2) lässt eine symmetrische Kanalstruktur vermuten. Da in Abwesenheit von **1a** keine stabile Leitfähigkeit auftritt, können weder Leckbildungen noch Artefaktströme diese Beobachtungen erklären. Bei Verwendung von **1b**, das kürzere Alkylketten hat, werden keine stabilen Kanalströme erhalten. Dies zeigt, daß nur solche Alkylreste eine stabile Kanalstruktur bilden, die die halbe Membrandicke durchspannen. Die bei **1a** beobachtete Leitfähigkeit war bei mehr als 90 % der Strommessungen konstant, wobei die Molverhältnisse von **1a** und Lipid zwischen 1:200 und 1:300 variiert wurden. Dies steht in deutlichem Gegensatz zu Beobachtungen von mehreren Leitfähigkeitsniveaus für Molekülaggregat-Kanäle, einschließlich solcher aus synthetischen Peptiden^[5, 9]; die unter-

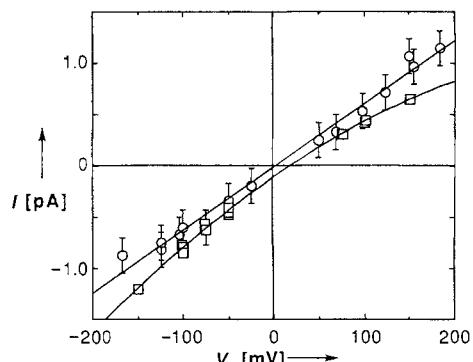


Abb. 2. Strom-Spannungs-Verhältnis unter gleichen Bedingungen wie in Abbildung 1 (○) und bei Lösungen (□), deren eine Seite 50 mM KCl und 450 mM NaCl enthalt und die andere 450 mM KCl und 50 mM NaCl.

schiedlichen Niveaus wurden dabei jeweils verschiedenen großen Aggregaten zugeordnet. Diese Ergebnisse lassen erkennen, daß monomeres **1a** gut eine Hälfte der Doppelschicht durchdringt: Der von vier Resorcinringen gebildete Hohlraum, der durch die vier Alkylketten von **1a** verlängert wird, schließt den Eintritt von Lipidmolekülen aus und stellt so die Kanalpore für den Durchtritt der Ionen bereit. Auch Wassermoleküle können den Kanal besetzen und an Ionen, welche durch die Pore hindurchtreten, koordinieren. Unter der Annahme, daß der von **1a** gebildete Hohlraum die Position eines weiteren Moleküls **1a** in der anderen Hälfte der Doppelschicht erkennt, entsteht ein Schwanz-Schwanz-Dimer und damit ein symmetrischer Transmembrananal (Abb. 3), ähnlich dem Gramicidin-A-Kanal^[10]. In Einklang mit diesem Dimer-Modell wurden keine auf einen Kanal zurückzuführende Aktivitäten beobachtet, wenn **1a** nur auf einer Seite der Lipidmembran zugesetzt wurde. Wahrscheinlich ist ein Flip-flop eines so sperrigen Amphiphils sehr schwierig.

Unter den Bedingungen von Ein-Salz-Gradienten (0.5 M KCl/ 0.1 M KCl) zeigte der durch **1a** gebildete Kanal ein reversibles Potential von 35.9 mV , welches die ausgeprägte Selektivität für Kationen gegenüber Anionen zum Ausdruck bringt. Der Permeabilitätsquotient P_{K^+}/P_{Cl^-} von 20, berechnet nach der Goldman-Hodgkin-Katz-Gleichung^[4] gleicht dem natürlichen Kationenkanäle. Umkehrpotentialmessungen bei Gradienten von K^+ - und Na^+ -Ionen ergaben, daß der Kanal K^+ - und Na^+ -Ionen mit einem Permeabilitätsquotienten P_{K^+}/P_{Na^+} von ca. 3 unterscheidet (Abb. 2). Rb^+ -Ionen blockierten den K^+ -Ionenstrom: Die K^+ - und Rb^+ -Ionen enthaltende Lösung (0.05 M KCl, 0.45 M RbCl/ 0.45 M KCl, 0.05 M RbCl) ergab in 20 unabhängigen Messungen keine stabilen Kanalströme. Wurden die bionischen Lösungen gegen 0.5 M KCl-Lösungen ausgetauscht, traten sofort durch K^+ -Ionen hervorgerufene Ströme auf. Die Selektivität des **1a**-Kanals ist also für K^+ -Ionen maximal; die Gleiche gilt für natürlich vorkommende K^+ -Ionenkanäle, die sich aber bei Rb^+ -Ionen anders verhalten.

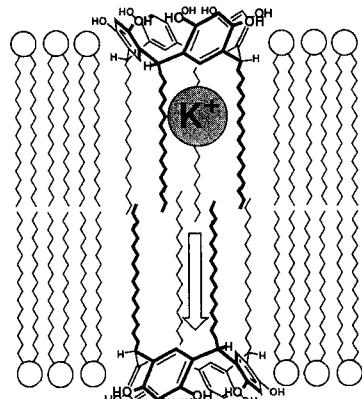


Abb. 3. Hypothetische Struktur eines Kanals von **1a** in der Lipid-Doppelschicht.

Die Selektivität der Ionendurchlässigkeit durch Membrankanäle wird in erster Linie durch die engste Stelle der Kanalpore, den Selektivitätsfilter, bestimmt. Das Verhältnis von elektronischer Feldstärke am Filter und der Dehydratisierungsenergie der hindurchtretenden Ionen bestimmt das Ausmaß der Dehydratisierung^[4]. Insbesondere der für die Selektivität bei spannungskontrollierten K⁺-Ionenkanälen verantwortliche Mechanismus ist ausführlich diskutiert worden. Dabei wird im allgemeinen angenommen, daß der für K⁺-Ionen selektive Filter aus einem von vier Tyrosinresten gebildeten „aromatischen Käfig“ besteht. Dieser bewirkt ein schwaches elektrisches Feld, das die vollständige Dehydratisierung von K⁺-, nicht aber von Na⁺-Ionen ermöglicht. Folglich können die K⁺-Ionen den Filter passieren, nicht jedoch die Na⁺-Ionen. Die π-Elektronen der Arylreste tragen wahrscheinlich durch anziehende π-Kationen-Wechselwirkungen zu einer Verringerung der Potentialbarriere für den Durchtritt der K⁺-Ionen bei^[11]. Dieser Mechanismus kann auch die von uns beobachtete Selektivität von **1a**-Kanälen erklären. Die engste Stelle der ionenleitenden Pore in **1a** wird von den vier Resorcinringen mit einem schwachen elektrischen Feld gebildet. Diese Öffnung wird als gerade groß genug angesehen nackte K⁺-Ionen ($r = 1.33 \text{ \AA}$) passieren zu lassen, nicht aber die etwas größeren Rb⁺-Ionen ($r = 1.47 \text{ \AA}$). Nach Moleküldynamiksimulationen ähnelt die Größe der Öffnung von **1a** etwa der Pore von *p-tert*-Butylcalix[4]arentetraamid, das den Durchtritt von K⁺-Ionen nicht aber von Cs⁺-Ionen ($r = 1.69 \text{ \AA}$) zuläßt^[12].

Erstmals gelang also ein selektiver Ionentransport durch eine Membran-Doppelschicht über einen Kanalmechanismus mit einem einfachen und stabilen synthetischen Molekül, dessen Dimer die essentiellen biologischen Eigenschaften eines Einzelionenkanals aufweist. Es ist das einfachste Modell eines Einzelionenkanals und dürfte unser Verständnis der Ursachen der Ionenselektivitäten von Ionenkanälen bereichern.

Eingegangen am 30. August,
veränderte Fassung am 1. Dezember 1994 [Z 7277]

Stichworte:

Ionenkanal · Membranmodell · Resorcin

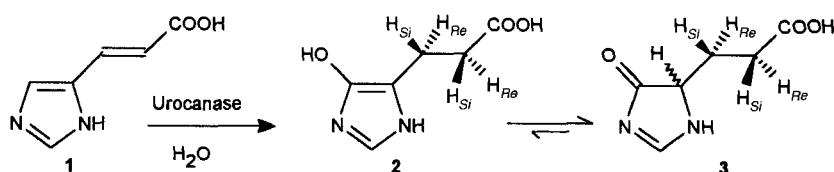
- [1] Siehe z.B.: M. Noda, S. Shimizu, T. Tanabe, T. Takai, T. Kayano, T. Ikeda, H. Takahashi, H. Nakayama, Y. Kanaoka, N. Minamino, K. Kangawa, H. Matsumoto, M. A. Raftery, T. Hirose, S. Inayama, H. Hayashida, T. Miyata, S. Numa, *Nature* **1984**, *312*, 121.
- [2] Über spannungskontrollierte K⁺-Ionenkanäle siehe: a) C. Miller, *Science* **1991**, *252*, 1092, zit. Lit.; b) G. A. Lopez, Y. N. Jan, L. Y. Jan, *Nature* **1994**, *367*, 179, zit. Lit.
- [3] a) I. Tabushi, Y. Kuroda, K. Yokota, *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 4601; b) U. F. Krägten, M. F. M. Roks, R. J. M. Nolte, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1985**, 1275; c) J.-H. Fuhrhop, U. Kiman, V. Koesling, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 6840; d) A. Nakano, Q. Xie, J. V. Mallen, L. Echegoyen, G. W. Gokel, *ibid.* **1990**, *112*, 1287; e) F. M. Menger, D. S. Davis, R. A. Persichetti, J.-J. Lee, *ibid.* **1990**, *112*, 2451; f) M. J. Pregel, L. Julian, J. M. Lehne, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 1695; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 1637; g) T. M. Fyles, T. D. James, K. C. Kaye, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 12315; h) E. Städler, P. Dedeck, K. Yamashita, S. L. Regen, *ibid.* **1994**, *116*, 6677.
- [4] B. Hille, *Ionic Channels of Excitable Membranes*, 2. Aufl., Sinauer, Sunderland, MA, **1992**.
- [5] Y. Kobuke, K. Ueda, M. Sokabe, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 7618.
- [6] **1a**: Ausbeute 50%; Schmp. > 300 °C; ¹H-NMR (90 MHz, CDCl₃): δ = 7.22, 6.12 (jeweils s, jeweils 4H; Aryl-H), 4.30 (t, 4H; CHR), 2.15, 1.26 (12H; CH₂), 0.88 (t, 12H; CH₃), 7.5–10.5 (br, 8H; Aryl-OH), 3.8 (br, 2H; H₂O); MS (FAB): m/z 1441 (M⁺ + H), korrekte C,H,O-Analyse.
- [7] a) Y. Aoyama, Y. Tanaka, S. Sugahara, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5397; b) Y. Tanaka, Y. Aoyama, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1990**, *63*, 3343.
- [8] Experimentell wurde wie früher beschrieben vorgegangen [5]. Die Durchlaßkinetik wird hier nicht diskutiert, jedoch liegen die Lebensdauern der offenen und geschlossenen Zustände im Bereich von Sekunden bis Millisekunden.

- [9] a) M. T. Tosteson, D. S. Auld, D. C. Tosteson, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1989**, *86*, 707; b) A. Grove, M. Mutter, J. E. Rivier, M. Montal, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 5919, zit. Lit.; c) K. S. Åkerfeldt, J. D. Lear, Z. R. Wasserman, L. A. Chung, W. F. DeGrado, *Acc. Chem. Res.* **1993**, *26*, 191; sowie für Peptidkanäle, die einen Typ von Leitfähigkeit zeigen: d) M. Montal, M. S. Montal, J. M. Tomich, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1990**, *87*, 6929; e) A. Grove, J. M. Tomich, M. Montal, *ibid.* **1991**, *88*, 6418; f) M. R. Ghadiri, J. R. Granja, L. K. Buehler, *Nature* **1994**, *369*, 301.
- [10] W. Veatch, L. Stryer, *J. Mol. Biol.* **1977**, *113*, 89.
- [11] a) L. Heginbotham, R. MacKinnon, *Neuron* **1992**, *8*, 483; b) S. R. Durell, H. R. Guy, *Biophys. J.* **1992**, *62*, 238; c) S. Bogusz, A. Boxer, D. D. Busath, *Protein Eng.* **1992**, *5*, 285; d) R. A. Kumpf, D. A. Dougherty, *Science* **1993**, *261*, 1708.
- [12] P. Guilbaud, A. Varnek, G. Wipff, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 8298.

Zum Mechanismus der Urocanase-Reaktion: ¹³C-NMR-spektroskopische Beobachtung des enzymgebundenen NAD⁺-Inhibitor-Adduktes**

Carsten Schubert, Herbert Rötteler, Manfred Spraul und János Rétey*

In den meisten Zellen katalysiert Urocanase (E.C. 4.2.1.49) den zweiten Schritt im Histidinabbau (Schema 1). Sie enthält ein fest gebundenes NAD⁺, das für die katalytische Aktivität essentiell ist^[1, 2]. Es wird angenommen, daß NAD⁺ als elektrophiler Kata-



Schema 1. Sterischer Verlauf der Urocanase-Reaktion. Die Protonen aus dem Lösungsmittel werden an die Re-Positionen der Seitenkette addiert.

lysator wirkt und intermedial ein kovalentes Addukt mit dem Imidazolring des Substrates, Urocaninsäure **1**, bildet^[3]. Nach einem von uns postulierten Mechanismus^[3–5] erfolgt die ungewöhnliche Wasseranlagerung zu 5'-Hydroxyimidazolpropionsäure **2** in einer chemisch plausiblen Weise. **2** steht seinerseits mit Imidazolonpropionsäure **3** in einem spontanen Gleichgewicht^[6].

Kürzlich haben wir die Struktur eines NAD⁺-Inhibitor-Adduktes, das an der Urocanase entsteht und höchstwahrscheinlich dem intermedialen NAD⁺-Substrat-Addukt analog ist, durch Bestimmung der direkten ¹³C-¹³C-Kopplungskonstanten bewiesen^[5]. Wegen seiner Instabilität mußte das doppelt ¹³C-markierte Addukt im enzymgebundenen Zustand durch Oxidation stabilisiert und erst dann vom Enzym abgetrennt werden^[4, 7].

[*] Prof. Dr. J. Rétey, Dr. C. Schubert, Dr. H. Rötteler
Institut für Organische Chemie der Universität
Richard-Willstätter-Allee, D-76128 Karlsruhe
Telefax: Int. +721/608-4823
Dr. M. Spraul
Bruker Analytische Meßtechnik GmbH
D-76287 Rheinstetten

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Wir danken Frau J. Herman für zahlreiche Enzymisolierungen.