

- [8] a) G. Wess, W. Kramer, S. Bartmann, A. Enhsen, H. Glombik, S. Müllner, K. Bock, A. Dries, H. Kleine, W. Schmitt, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 195; b) A. P. Davis, P. J. Dorgan, E. R. Mageean, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 492.
[9] M. S. Gibson, R. W. Bradshaw, *Angew. Chem.* **1968**, 80, 986; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1968**, 7, 919.
[10] W. König, R. Geiger, *Chem. Ber.* **1970**, 103, 788.
[11] Aus 3 wurde die Carbonsäurefunktion freigesetzt und mit jeweils einer von fünf unterschiedlichen *tert*-Butyl-geschützten Aminosäuren verknüpft (HOBT, DCC, CH₂Cl₂). Nach Freisetzung der Aminogruppe aus dem Phthalimid (MeNHNH₂) wurde mit 9-Fluorenylmethoxycarbonyl(FMOC)-geschützten Aminosäuren [*O*-(Ethoxycarbonyl)cyanmethylenamino]-*N,N,N',N'*-tetramethyluroniumtetrafluoroborat (TOTU), DMF] gekuppelt. Schließlich wurde die Fmoc-Gruppe abgespalten (Piperidin) und mit weiteren Aminosäuren umgesetzt (Fmoc-Derivate, TOTU). Man erhielt nach Freisetzung vom Harz und Entschützen (Trifluoressigsäure (TFA), CH₂Cl₂, Et₃SiH) die Produkte in Form der Trifluoracetate. Filtration durch Aluminiumoxid (EtOAc, MeOH, H₂O, HOAc) lieferte die freien Verbindungen **15** in Ausbeuten von 50–90% mit Reinheiten von 50–90% (HPLC).
[12] Verbindung **9** wurde mit *D*-Prolin-*tert*-butylester-Hydrochlorid (HOBT, DCC, Et₃NI/Pr₂I) umgesetzt und anschließend mit Trifluoressigsäure/Wasser (98/2) entschützt. Umsetzung der freien Säure mit *L*-Alanin-*tert*-butylester-Hydrochlorid (HOBT, DCC, Et₃NI/Pr₂I), Freisetzung der Säure mit Trifluoressigsäure/Wasser (98/2), Phthalimid-Spaltung mit MeOH/H₂NNH₂ und anschließende Cyclisierung mit Pentafluorphenol, (DCC, CH₂Cl₂, hohe Verdünnung) lieferten **16** in sehr guter Ausbeute (92%).
[13] M. Kurz, Dissertation, Technische Universität München, 1991.

Zum Mechanismus der metallabhängigen Aldolasen der Klasse II**

Wolf-Dieter Fessner*, Achim Schneider, Heike Held, Gudrun Sinerius, Christiane Walter, Mark Hixon und John V. Schloss*

Professor Horst Prinzbach zum 65. Geburtstag gewidmet

Die vier Dihydroxyacetonphosphat(DHAP)-abhängigen Aldolasen^[1, 2] erfreuen sich eines wachsenden Interesses in der präparativen asymmetrischen Synthese wegen ihrer Fähigkeit, zwei neue Stereozentren mit hoher chiraler Induktion aufzubauen^[3]. Während alle DHAP-Aldolasen eine sehr breite Substrattoleranz für die Aldol-Acceptorsubstrate aufweisen, scheinen sie eine hohe Substratspezifität für DHAP als Aldol-Donor zu haben, wobei nur ein isosterer Ersatz der Phosphatestergruppe in engen Grenzen tolerierbar ist^[4]. In manchen Fällen kann die Diastereoselektivität durch mangelhafte Kontrolle über das Stereozentrum an C-4 eingeschränkt sein, was auf eine gelegentliche inverse Bindung der Aldehyd-Carbonylgruppe hinweist^[2c]. Um die Ergebnisse der Methode noch besser prognostizieren zu können, wäre ein detailliertes Verständnis der individuellen Beiträge von Aminosäureresten des aktiven Zentrums zur Substratkennung und zum Katalyseverlauf wünschenswert.

* Prof. Dr. W.-D. Fessner, Dr. A. Schneider, Dipl.-Chem. H. Held, Dr. G. Sinerius, Dr. C. Walter
Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule Professor-Pirlet-Straße 1, D-52056 Aachen
Telefax: Int. + 241/8888 385
E-mail: fessner@rwth-aachen.de

Prof. Dr. J. V. Schloss, M. Hixon
Department of Medicinal Chemistry, University of Kansas Lawrence, KS 66045 (USA)
Telefax: Int. + 913/864 4503
E-mail: schloss@kuhub.cc.ukans.edu

** Enzyme in der Organischen Synthese, 12. Mitteilung. Diese Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (Fe 244/6-1 und SFB380/B25, W. D. F.) und durch die National Institutes of Health (Grants GM48568 und GM07775, J. V. S.) gefördert. Wir danken Prof. Dr. G. E. Schulz und Dr. M. Dreyer (Universität Freiburg) für unpublizierte Daten aus Röntgenstrukturanalysen (siehe Lit. [11 b]). – 11. Mitteilung: [4b].

Aldolasen werden nach Art der Donor-Aktivierung in zwei Klassen unterteilt^[5]: Aldolasen der Klasse I bewirken eine stereospezifische Deprotonierung des Substrats nach dessen kovalenter Bindung an Lysinreste des aktiven Zentrums (Imin/Enamin-Bildung), während Aldolasen der Klasse II Übergangsmetalle (gewöhnlich Zn²⁺) als essentielle Lewis-Säure-Cofaktoren verwenden, um die Deprotonierung zu erleichtern (Abb. 1). Für die FruA^[2] der Klasse I entwickelt sich trotz An-

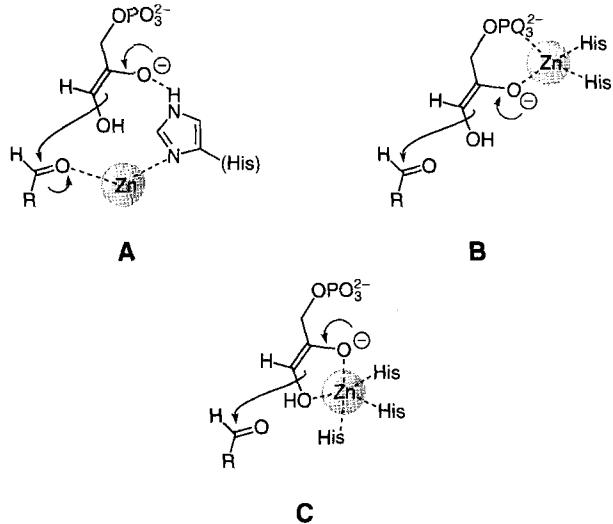
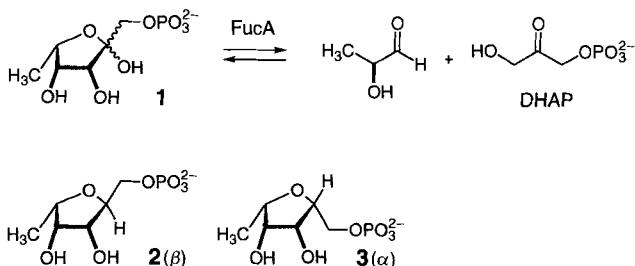


Abb. 1. Hypothesen zum Mechanismus der Katalyse durch Aldolasen der Klasse II. A: Enolat-Stabilisierung durch Protonen-Relais [9] und Aldehydaktivierung durch Zn²⁺ [10]. B: Enolat-Stabilisierung durch Koordination von Carbonyl- und Phosphatgruppe an Zn²⁺ [8]. C: Endiolat-Stabilisierung durch Chelatkoordination an Zn²⁺.

wendung moderner Methoden der Enzymologie, der ortsgerichteten Mutagenese und der Proteinkristallographie^[6] nur sehr langsam ein schlüssiges Modell, das die Funktion von Resten des aktiven Zentrums individuellen Katalysestufen zuordnet^[7]. Bisher ist hier noch keine Proteinstruktur mit gebundenen Substraten oder Inhibitoren bekannt.

Auf der Basis von Untersuchungen an der FruA aus Hefe (Klasse II) wurden Hypothesen zum Mechanismus Zn-abhängiger Aldolasen aufgestellt. Aus ESR-Messungen und NMR-Relaxationszeitbestimmungen am Mn²⁺-substituierten Holoenzym wurde abgeleitet, daß DHAP über seine Phosphatgruppe bindet^[8] und eine Polarisierung der Carbonylgruppe durch Zn²⁺ über einen Imidazolring übertragen wird (Abb. 1, A)^[9]. Die Ergebnisse späterer FT-IR- und Deuteriumtausch-Studien mit nativer Hefe-Aldolase^[10] zeigten, daß eine Aktivierung des Aldehyds durch zusätzliche direkte Koordination der Carbonylgruppe an Zn²⁺ bewirkt wird (Abb. 1, B). Vor kurzem gelang Dreyer und Schulz^[11a] die Röntgenstrukturanalyse der FucA (mit 2.13 Å Auflösung) als der ersten Aldolase der Klasse II. Danach ist das katalytisch aktive Zn²⁺-Ion im aktiven Zentrum, das an der Grenzfläche zweier Untereinheiten des Homotetramers lokalisiert ist, fest durch drei N^ε-Atome von Histidinresten (His92, His94 und His155) koordiniert (Abb. 1, C). Unter Berücksichtigung der sterischen Gegebenheiten am Zn²⁺-Ion müssen damit alle bisherigen mechanistischen Hypothesen verworfen werden, da die Koordination von mehr als einem Substrat unmöglich ist und die Histidinliganden nicht als Protonen-Relais zwischen gebundenen Substraten fungieren können.

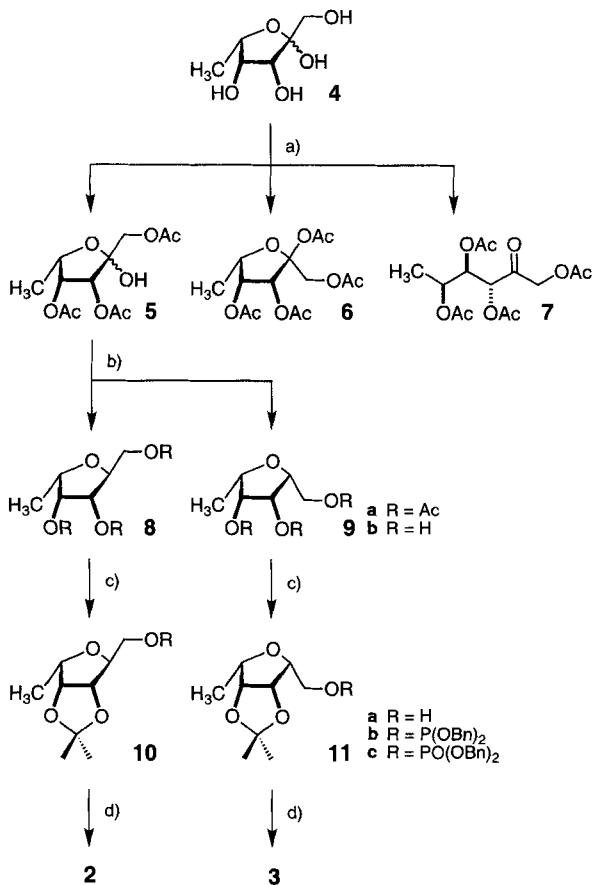
Unter den leicht alkalischen Bedingungen, die für die Kristallisation der FucA nötig sind, kann zur Röntgenstrukturanalyse des Enzyms mit einem gebundenen Liganden nicht das natür-



Schema 1. Natürliche Substrat **1** der FucA sowie strukturverwandte Verbindungen **2** und **3**.

liche Substrat L-Fuculose-1-phosphat **1** verwendet werden (Schema 1), da dieses in das labile DHAP und L-Lactaldehyd gespalten wird. Im Hinblick auf stabile Substratanaloga für Tränk- und Cokristallisationsversuche konzentrierten wir uns zunächst auf die Synthese der strukturverwandten Anhydroalditiderivate **2** und **3** als potentielle Inhibitoren, denen die anomere Hydroxygruppe (siehe **1**) und damit die Möglichkeit zur Ringöffnung und Aldolspaltung fehlt. Fucit-1-phosphat wurde als ein potenzielles Analogon der offenkettigen Substratform berücksichtigt.

L-Fuculose **4** (erhältlich durch enzymatische Dephosphorylierung von **1**^[12]) wurde acetyliert und aus der Mischung der Acetate **5**–**7** als Hauptprodukt ein Triacetat **5** (61 %) durch Verteilung zwischen Wasser und Ether und nachfolgende Rückextraktion abgetrennt (Schema 2). Reduktion lieferte glatt eine



Scheme 2. Synthese von FucA-Inhibitoren. a) $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Py}$, 93% **5**–**7** (Verhältnis 61:17:22); b) $\text{Et}_3\text{SiH}/\text{BF}_3/(\text{CH}_2\text{Cl})_2$, 89% **8a**/**9a** (Verhältnis 10:1); $\text{K}_2\text{CO}_3/\text{MeOH}$, 93% **8b**/**9b**; c) Aceton/ H_2SO_4 , $\text{Et}_2\text{NP}(\text{OBn})_2/\text{THF}$, H_2O_2 , 69% **10c** (48% **11c**) über drei Stufen; d) $\text{H}_2/\text{Pd-C}/\text{EtOH}$, Dowex-50W- $\text{H}^+/\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$ bei Raumtemperatur, 94% **2** (90% **3**).

Mischung von Anhydroalditestern **8** und **9** ($\geq 10:1$, 89 %), die entschützt und durch Chromatographie an einer mit Ca^{2+} -Ionen beladenen Säule getrennt wurden. Nach regioselektiver Acetalisierung des *vic*-Diols zu **10a** bzw. **11a** sowie Phosphitylierung und Oxidation zu den primären Dibenzylphosphat-estern **10c** bzw. **11c** konnten die Zielverbindungen durch Hydrogenolyse und säurekatalysierte Acetalspaltung freigesetzt werden. Reinigung durch Ionenauftauschchromatographie lieferte die Phosphate **2** und **3** als kristalline Bis(cyclohexylammonium)salze (14 % bzw. 2 % Gesamtausbeute bezogen auf **4**). In kinetischen Studien bewirkte lediglich das Analogon **2** eine wenn auch nur geringe FucA-Inhibition ($K_i = 22 \text{ mM}$), was dafür spricht, daß die Aldolase selektiv das in Lösung dominante β -Anomer des natürlichen Substrats **1** bindet ($K_m = 0.7 \text{ mM}$; $\alpha/\beta = 2:5$). Allerdings deuten die höheren Affinitäten von *sn*-Glycerin-3-phosphat ($K_i = 6 \text{ mM}$) und Phosphoglycolat ($K_i \approx 10 \text{ mM}$) auf die Bedeutung der fehlenden anomeren OH-Gruppe für eine spezifische Bindung hin. Die Notwendigkeit einer korrekten Anomerienkonfiguration wird durch die Tatsache unterstrichen, daß für das Enantiomere *sn*-Glycerin-1-phosphat oder für D-3-Phosphoglycerat keine signifikante Inhibition zu beobachten war. Die niedrige Affinität für L-Fucit-1-phosphat ($K_i = 70 \text{ mM}$) kann als Hinweis auf eine nur schwach ausgeprägte Bindung von **1** in der offenkettigen Form gedeutet werden.

Deprotonierung von DHAP an C-3 ergibt ein Endiolat **12**, das mit Phosphoglycolohydroxamat **13** strukturell eng verwandt ist (Abb. 2). In der Tat erwies sich **13** nicht nur als potenter Inhibitor der FucA ($K_i = 4 \mu\text{M}$), sondern aller bisher getesteten Aldolasen der Klasse II (Tabelle 1). Offensichtlich scheint

Tabelle 1. Inhibition Zink-abhängiger Aldolasen [a].

Enzym [2]	Substrat $K_m [\text{M}]$	13 $K_i [\text{M}]$	Phosphoglycolat $K_i [\text{M}]$
FucA	1.5×10^{-3}	$3.1 \pm 0.9 \times 10^{-6}$	$> 10 \times 10^{-3}$
RhuA	1.6×10^{-3}	$120 \pm 12 \times 10^{-9}$	$260 \pm 46 \times 10^{-6}$
FruA	6.2×10^{-6}	$15 \pm 2.5 \times 10^{-9}$	$130 \pm 26 \times 10^{-9}$

[a] Die Standardassays [2, 12] basieren auf der Geschwindigkeit der DHAP-Bildung durch Spaltung der jeweiligen natürlichen Substrate durch die Aldolase (0.01 U), gemessen anhand des Verbrauchs von NADH (0.2 mM) in Gegenwart der Glycerinphosphat-Dehydrogenase (5 U). Die Inhibitionskinetik wurde durch Variation der Konzentrationen von Aldolasesubstrat und Inhibitor bestimmt; die Inhibitorkonzentration wurde so gewählt, daß sie im Bereich des IC_{50} -Werts der Aldolase bei dieser Substratkonzentration lag. Die FucA-Inhibition war durchweg kompetitiv, während die Bindung von **13** an FruA und RhuA verzögert war.

das Hydroxamat das diesen Enzymen gemeinsame Katalyseintermediat oder den gemeinsamen Übergangszustand höchst effektiv nachzuahmen und daher von allen Zn^{2+} -abhängigen Aldolasen in sehr ähnlicher Weise gebunden zu werden. So gelang kürzlich eine Röntgenstrukturanalyse der FucA mit dem substratanalogen Liganden **13** (Abb. 2)^[11b]. Die Analyse ergab, daß der Inhibitor zweizählig sowohl über das Enol- als auch das Hydroxamat-sauerstoffatom an das Zn^{2+} -Ion koordiniert ist. Diese Ergebnisse zeigen klar die Rolle des Zn^{2+} -Ions bei der Stabilisierung des Endiolats. In der Tat ist die Bildung von Chelatkomplexen typisch für Hydroxamate^[13], wobei die Hydroxamatgruppe eher in der anionischen als in der protonierten Form vorliegt^[14]. Eine bidentate Bindung des DHAP-Liganden erklärt auch die natürliche Präferenz metallabhängiger Aldolasen für Zn^{2+} im aktiven Zentrum (das gegen Co^{2+} unter Bildung hoch aktiver Katalysatoren ausgetauscht werden kann), da Zink (wie Cobalt) leicht eine trigonal-bipyramidal Koordinationssphäre erreichen und leichter als andere Metalle mit nur

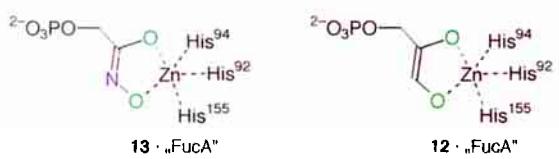
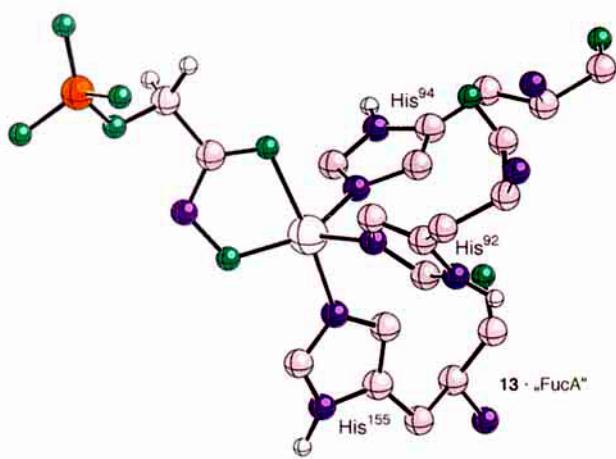


Abb. 2. Koordination von Zn^{2+} im aktiven Zentrum der FucA im Komplex mit Phosphoglycolohydroxamat 13 laut Röntgenstrukturanalyse [11 b].

geringem Energieaufwand zwischen verschiedenen Koordinationszuständen wechseln kann^[15]. Zudem ist Zink(II) die am häufigsten anzutreffende Lewis-Säure der bioanorganischen Chemie.

Vor diesem Hintergrund schlagen wir einen neuen Katalysezyklus für die FucA vor, der von allgemeiner Bedeutung für andere Metalloaldolasen sein sollte (Schema 3). In Syntheserichtung tritt DHAP als erstes Substrat auf und wird nach Bil-

dung von Grundzustandskomplexen und eventuellen Zwischenzuständen in einer gestreckten Konformation am Zink durch die Hydroxy- und Carbonylsauerstoffatome koordiniert. Die Polarisierung der Carbonylbindung bewirkt eine erhöhte Acidität der Hydroxymethylen-Wasserstoffatome und erleichtert dadurch die Abstraktion des *pro*-(*R*)-Protons durch eine Base, wahrscheinlich durch Glu73. Die Phosphatgruppe wird durch eine Vielzahl von Kontakten zu Amidgruppen der Peptidkette und zu polaren Resten fixiert, wahrscheinlich um die rasche Fragmentierung des Endiolats aus einer orthogonalen Konformation zu verhindern, was den Vorschlag, die Phosphatgruppe wirke als intrinsische Base^[16], höchst unwahrscheinlich macht. Das nucleophile *cis*-Endiolat greift danach von der *Si*-Seite die Carbonylgruppe eines eintretenden Lactaldehydmoleküls an, wobei Tyr113' vermutlich die sich entwickelnde negative Ladung durch eine Wasserstoffbrücke stabilisiert. Dies ist für die asymmetrische Induktion an C-4 verantwortlich, während die Abschirmung der *Si*-Seite des DHAP-Endiolats durch das Protein die korrekte Stereochemie an C-3 garantiert. Ablösung des Produkts vom Katalysator kann entweder direkt durch Wiederherstellung der aus dem DHAP stammenden Carbonylgruppe erfolgen oder durch Ringschluß über den Angriff der aus dem Lactaldehyd stammenden Hydroxygruppe eingeleitet werden. Protonenaustausch mit oder ohne Lösungsmittel bereitet den nächsten Katalysezyklus vor. Frühere Hypothesen basieren vorwiegend auf Studien an Enzym-Substrat-Wechselwirkungen im Grundzustand, unsere Modellvorstellungen dagegen auf Inhibitorenstudien und Daten aus Röntgenstrukturanalysen mit Inhibitoren, die einem Katalyseintermediat und/oder dem Übergangszustand ähneln. Während dieses Modell alle Kernfragen der Katalyse zur Stereochemie und zu geschwindigkeitsbestimmenden Schritten beantworten kann, gestattet es wegen der Beschränkung von 13 auf das DHAP-analoge Strukturinkrement nicht, die hohe Enantioselektivität für 2-Hydroxyaldehyde zu interpretieren^[12]. Das wachsende Verständnis der molekularen Erkennung in den Aldolase-Substrat-Wechselwirkungen während der Katalyse sollte weitere Fortschritte ermöglichen, beispielsweise in der Entwicklung selektiver Inhibitoren von FruA-Enzymen der Klasse II für therapeutische Zwecke, im Design neuer Substratanaloga für präparative Zwecke sowie im Hinblick auf ein rationales Protein-Engineering für andere Substrattoleranzen oder neuartige katalytische Funktionen.

Eingegangen am 15. Mai 1996 [Z 9126]

Stichworte: Aldolasen · Endiole · Enzyminhibitoren · Enzymmechanismen · Zinkenzyme

- [1] W.-D. Fessner in *Microbial Reagents in Organic Synthesis* (Hrsg.: S. Servi), Kluwer, Dordrecht, 1992, S. 43–55.
- [2] D-Fructose-1,6-bisphosphat-Aldolase (FruA, EC 4.1.2.13); D-Tagatose-1,6-bisphosphat-Aldolase (TagA, EC 4.1.2.17); L-Fuculose-1-phosphat-Aldolase (FucA, EC 4.1.2.17); L-Rhamnulose-1-phosphat-Aldolase (RhuA, EC 4.1.2.19). Alle vier stereokomplementären Zn^{2+} -abhängigen DHAP-Aldolasen (Klasse II) kommen z.B. in *Escherichia coli* vor [1]. Die Enzyme sind kommerziell erhältlich (mit Ausnahme der TagA) oder können aus Rekombinantstämmen isoliert werden: a) C. H. von der Osten, A. J. Simskey, C. F. Barbas, R. L. Pederson, Y. F. Wang, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 3924–3927; b) A. Ozaki, E. J. Toone, C. H. von der Osten, A. J. Simskey, G. M. Whitesides, *ibid.* **1990**, *112*, 4970–4971; c) W.-D. Fessner, G. Sinerius, A. Schneider, M. Dreyer, G. E. Schulz, J. Badia, J. Aguilar, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 596–599; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 555–558.
- [3] C.-H. Wong, G. M. Whitesides, *Enzymes in Synthetic Organic Chemistry*, Pergamon, Oxford, 1994; W.-D. Fessner, C. Walter, *Top. Curr. Chem.* **1996**, im Druck.
- [4] a) W.-D. Fessner, G. Sinerius, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 217–220; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 209–212; b) H.-L. Arth, G. Sinerius, W.-D. Fessner, *Liebigs Ann.* **1995**, 2037–2042; c) D. Stribling, *Biochem. J.* **1974**, *141*, 725–728.

Schema 3. Vorschlag für den Katalysezyklus der FucA in Syntheserichtung unter Berücksichtigung relevanter Protein-Substrat-Wechselwirkungen.

- [5] B. L. Horecker, O. Tsolas, C. Y. Lai in *The Enzymes*, Vol. VII (Hrsg.: P. D. Boyer), Academic Press, New York, 1972, S. 213–258.

[6] J. Sygusch, D. Beaudry, M. Allaire, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1987, 84, 7846–7850; S. J. Gamblin, G. J. Davies, J. M. Grimes, R. M. Jackson, J. A. Littlechild, H. C. Watson, *J. Mol. Biol.* 1991, 219, 573–576; G. Hester, O. Brenner-Holzach, F. A. Rossi, M. Struck-Donatz, K. H. Winterhalter, J. D. G. Smit, K. Piontek, *FEBS Lett.* 1991, 292, 237–242.

[7] J. A. Littlechild, H. C. Watson, *Trends Biochem. Sci.* 1993, 18, 36–39; A. J. Morris, D. R. Tolan, *J. Biol. Chem.* 1993, 268, 1095–1100; *Biochemistry* 1994, 33, 12291–12297.

[8] A. S. Mildvan, R. D. Kobes, W. J. Rutter, *Biochemistry* 1971, 10, 1191–1204; K. D. Collins, *J. Biol. Chem.* 1974, 249, 136–142. Das Hydroxamat 13 wurde unter Abwandlung der Literaturvorschrift hergestellt.

[9] G. M. Smith, A. S. Mildvan, E. T. Harper, *Biochemistry* 1980, 19, 1248–1255; G. M. Smith, A. S. Mildvan, *ibid.* 1981, 20, 4340–4346; B. S. Szwergold, K. Ugurbil, T. R. Brown, *Arch. Biochem. Biophys.* 1995, 317, 244–252.

[10] J. G. Belasco, J. R. Knowles, *Biochemistry* 1983, 22, 122–129; J. T. Kadonaga, J. R. Knowles, *ibid.* 1983, 22, 130–136.

[11] a) M. K. Dreyer, G. E. Schulz, *J. Mol. Biol.* 1993, 231, 549–553; b) M. K. Dreyer, Dissertation, Universität Freiburg, 1995.

[12] W.-D. Fessner, A. Schneider, O. Eyrisch, G. Sinerius, J. Badia, *Tetrahedron: Asymmetry* 1993, 4, 1183–1192; W.-D. Fessner, J. Badia, O. Eyrisch, A. Schneider, G. Sinerius, *Tetrahedron Lett.* 1992, 33, 5231–5234.

[13] S. Göltlicher, P. Ochseneicher, *Chem. Ber.* 1974, 107, 391–397. Verwandte Pentakoordination katalytisch aktiver Zinkatome durch Hydroxamatinhbitoren ist für mehrere Metalloproteasen bekannt: M. A. Holmes, B. W. Matthews, *Biochemistry* 1981, 20, 6912–6920; A. F. Monzingo, B. W. Matthews, *ibid.* 1984, 23, 5724–5729; M. F. Browner, W. W. Smith, A. L. Castelano, *ibid.* 1995, 34, 6602–6610; F. Grams, M. Crimmin, L. Hinnes, P. Huxley, M. Pieper, H. Tschesche, W. Bode, *ibid.* 1995, 34, 14012–14020; J. C. Spurlino, A. M. Smallwood, D. D. Carlton, T. M. Banks, K. J. Vavra, J. S. Johnson, E. R. Cook, J. Falvo, R. C. Wahl, T. A. Pulvino, J. J. Wendoloski, D. L. Smith, *Proteins* 1994, 19, 98–109; F. Grams, P. Reinemer, J. C. Powers, T. Kleine, M. Pieper, H. Tschesche, R. Huber, W. Bode, *Eur. J. Biochem.* 1995, 228, 830–841.

[14] A. Zalkin, J. D. Forrester, D. H. Templeton, *J. Am. Chem. Soc.* 1966, 88, 1810–1814; L. Bauer, O. Exner, *Angew. Chem.* 1974, 86, 419–428; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1974, 13, 376–384.

[15] I. Bertini, C. Luchinat in *Bioinorganic Chemistry* (Hrsg.: I. Bertini, H. B. Gray, S. J. Lippard, J. S. Valentine), University Science Books, Mill Valley, CA, USA, 1993, S. 37–106.

[16] R. A. Periana, R. Motiu-DeGrood, Y. Chiang, D. J. Hupe, *J. Am. Chem. Soc.* 1980, 102, 3923–3927.

Isolierung und Charakterisierung des Dimetallofullerenes Ce₂@C₈₀ **

Junqi Ding und Shihe Yang*

Eine Reihe von Metallofullerenen sind in Milligrammengen zugänglich und konnten daher auch spektroskopisch charakterisiert werden^[1]. Zwar wurden bereits Metallofullerene des Typs $\text{Sc}_m @ \text{C}_{2n}$ untersucht^[2], doch konzentriert sich das Interesse derzeit auf Monometallofullerene mit nur einem Metallatom innerhalb des Kohlenstoffkäfigs, z.B. $\text{M} @ \text{C}_{82}$ ^[1]. Das erste lösliche Dimetallofulleren $\text{La}_2 @ \text{C}_{80}$ wurde entdeckt, kurz nachdem eine Methode zur Synthese von Fullererenen in makroskopischen Mengen entwickelt worden war^[3]. Achiba et al. haben kürzlich über die Isolierung und elektrochemische Untersuchung von $\text{La}_2 @ \text{C}_{80}$ berichtet^[4]. Dieses Dimetallofulleren hat bessere Elektronenacceptor-Eigenschaften als jedes andere Metallofulleren vom Typ $\text{M} @ \text{C}_{82}$. Derselben Arbeitsgruppe gelang auch

[*] Prof. S. Yang, J. Ding

Department of Chemistry

Hong Kong University of Science and Technology
Clear Water Bay, Kowloon (Hong Kong)

Telefax: Int. + 23581594

[**] Die Autoren bedanken sich beim Department of Chemistry der HKUST für die Unterstützung des Fulleronenprojektes. Teile dieser Arbeit wurden durch einen RGC-Grant (HKUST601/95P) der UGC in Hong Kong finanziert.

erstmal die Derivatisierung von $\text{La}_2@\text{C}_{80}$ ^[51]. Rechnungen zeigten, daß sich das I_h -symmetrische C_{80} -Isomer mit seiner thermodynamischen und kinetischen Stabilität als Wirt zur Aufnahme von zwei La-Atomen im Inneren des Kohlenstoffkäfigs eignet^[4, 6]. Die außergewöhnliche Stabilität von $\text{La}_2@\text{C}_{80}$ erklärt sich dadurch, daß alle sechs Valenzelektronen der beiden La-Atome auf den C_{80} -Käfig übertragen werden. Die HOMOs des C_{80} -Käfigs sind mit den sechs Elektronen von zwei La-Atomen gerade voll besetzt, und somit liegt eine Struktur mit abgeschlossener Elektronenschale und großem HOMO-LUMO-Abstand vor. Die Oxidationszustände der Metallatome im Kohlenstoffkäfig konnten allerdings experimentell noch nicht direkt bestimmt werden.

Wir berichteten vor kurzem über eine Methode zur Isolierung von Ce@C₈₂ in hohen Ausbeuten sowie über dessen spektroskopische Charakterisierung^[17]. Dabei konnten wir zeigen, daß Ce in der Ocidationsstufe III vorliegt^[18]. Mit dieser Technik gelang uns nun auch die Abtrennung des neuen Dimetallofullerenes Ce₂@C₈₀, das bereits, wie auch Ce@C₈₂, aus Laserdesorptions-Massenspektrometrie-Studien bekannt ist^[19]. Wir beschreiben hier die Isolierung von Ce₂@C₈₀ und dessen Charakterisierung durch UV-VIS-NIR-Absorptions- und Röntgenphotoemissions(XPS)-Spektroskopie.

$\text{Ce}_2@\text{C}_{80}$ wurde durch Hochleistungsfüssigkeitschromatographie (HPLC) gereinigt und durch DCI-Massenspektrometrie (DCI = Desorption, chemische Ionisierung) im Negativ-Ionen-Modus als hochrein charakterisiert (Abb. 1). Aus dem Massenspektrum wurde eine Reinheit von >99 % abgeschätzt.

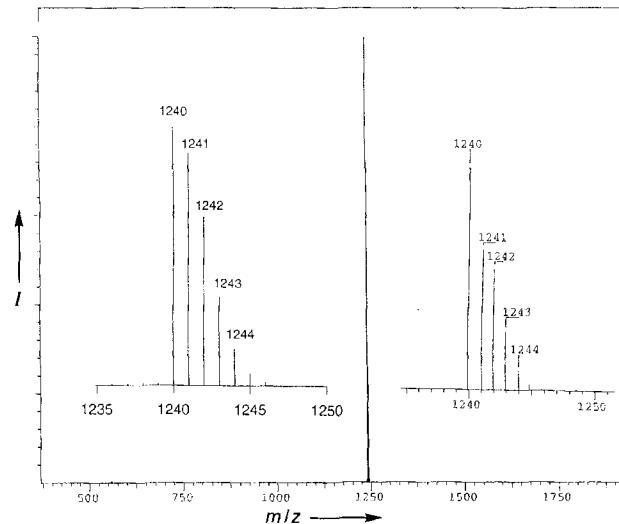


Abb. 1. Methan-DCI-Massenspektrum von HPLC-gereinigtem $\text{Ce}_2^{+}@\text{C}_{80}$ im Negativ-Ionen-Modus. Berechnete (links) und gemessene (rechts) Isotopenverteilungen für $\text{Ce}_2^{+}@\text{C}_{80}$ sind vergrößert dargestellt. I = Intensität (willkürliche Einheiten).

Das UV-VIS-NIR-Absorptionsspektrum von $\text{Ce}_2@\text{C}_{80}$ wurde im Wellenlängenbereich von 300–2100 nm aufgenommen (Abb. 2). Das Spektrum zeigt eine mit steigender Wellenlänge monoton fallende Absorptionskurve ohne charakteristische, scharfe Absorptionsbanden. Ein solches Spektrum ohne signifikante Banden unterscheidet sich stark von denen der leeren Fullerene^[10] oder der Monometallofullerene^[11c]. Whetten et al. schlugen I_h -Symmetrie für das C_{80} -Isomer in $\text{La}_2@\text{C}_{80}$ vor, wodurch sich eine D_{2h} -Gesamtsymmetrie ergibt^[3, 9, 11]. Aktuelle Rechnungen^[6] stützen diesen Vorschlag. $\text{La}_2@\text{C}_{80}$ kann demnach als $\text{La}_2^{3+}@\text{C}_{80}^{-}$ beschrieben werden^[5, 6], wobei eine Struktur mit abgeschlossener Elektronenschale gebildet wird.