

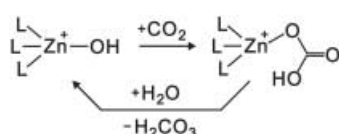
Kohlendioxidaktivierung

Eine Gasphasenreaktion als funktionales Modell der Aktivierung von Kohlendioxid durch die Carboanhydrase**

Detlef Schröder,* Helmut Schwarz, Stephan Schenk und Ernst Anders

Professor Wolfgang Steglich zum 70. Geburtstag gewidmet

Die Carboanhydrase ist ein Zink-zentriertes Enzym mit einem Molekulargewicht von etwa 30 kDa, das den Transport von Kohlendioxid im Körper durch Katalyse der Umwandlung von CO₂ in das lösliche Hydrogencarbonat HCO₃⁻ erleichtert.^[1] Die Wirkungsweise der Carboanhydrase ist in



Schema 1. Wirkungsweise der Carboanhydrase.

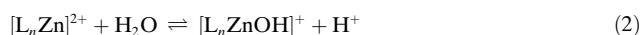
Schema 1 zusammengefasst:^[2] Ein Zinkhydroxid-Kation mit drei weiteren Liganden, [L₃ZnOH]⁺, vermittelt einen nucleophilen Angriff des in der Resonanzstruktur [L₃Zn²⁺·OH⁻] vorliegenden Hydroxidions auf das C-Atom von CO₂ mit anschließender Bildung von Hydrogencarbonat oder Kohlensäure.^[3] Die im Laufe der Evolution entwickelte Proteinumgebung des aktiven Zentrums stellt eine ideale Anordnung dreier als Liganden L fungierender Histidinreste bereit und erleichtert zudem die beteiligten Protonenübertragungen.^[3–5] Hier berichten wir über eine Untersuchung der intrinsischen Voraussetzungen einer zu Schema 1 analogen Aktivierung von CO₂ in der idealisierten Gasphase. Ein solcher Ansatz führt umgehend zu zwei grundsätzlichen Fragen: 1) Gestattet ein nichtsolvatisiertes Kation mit echter Coulomb-Ladung überhaupt den formal erforderlichen nucleophilen Angriff von CO₂? 2) Wenn ja, welche Zahl an Liganden (*n*) ist für die CO₂-Aktivierung durch [L_{*n*}ZnOH]⁺-Ionen in der Gasphase optimal?

Die Elektrospray-Ionisation (ESI)^[6] ermöglicht es, eine Vielzahl ionischer Metallkomplexe direkt aus der Lösung zu

erzeugen. Die hier beschriebenen Experimente wurden mit einem VG-BIO-Q-Gerät durchgeführt, in dem eine ESI-Quelle mit einem Tandem-Massenspektrometer von QHQ-Konfiguration (Q steht für Quadrupol und H für Hexapol) kombiniert ist.^[7] Wird eine verdünnte Lösung von ZnX₂ (X = F–I, NO₃, ClO₄) in Methanol/Wasser mit einer Spur Imidazol (im) oder Pyridin (py) als Stickstoffliganden L der ESI unterworfen, bilden sich [L_{*n*}Zn]²⁺ und [L_{*n*}ZnX]⁺ als vorherrschende Zink-haltige Kationen.^[8] Das [L_{*n*}Zn]²⁺/[L_{*n*}ZnX]⁺-Verhältnis hängt vom Gegenion X⁻ ab: Je schlechter koordinierend X⁻ ist, desto mehr ist das Gleichgewicht (1) nach



links verschoben. Für die schwächer koordinierenden Gegenionen (X = Cl, Br und NO₃) kann die Solvolyse des Dikations gemäß Gleichung (2) mit der Rückbindung des Anions



gemäß (1) konkurrieren und so zu den gewünschten [L_{*n*}ZnOH]⁺-Spezies führen.

Der Grad der Solvation kann in der ESI durch die so genannte Konusspannung reguliert werden, die das Ausmaß der Stoßaktivierung der primär gebildeten Ionen während ihrer Überführung in das Hochvakuum des Massenspektrometers angibt.^[9] Bei niedrigen Konusspannungen überwiegen die vierfach koordinierten Komplexe [L₄Zn]²⁺ und [L₃ZnX]⁺, mit zunehmender Konusspannung erfolgt Fragmentierung zu kleineren Werten von *n* und bei hohen Konusspannungen entsteht zunächst ZnOH⁺ und schließlich „nacktes“ Zn⁺. Dabei entsprechen die beobachteten Isotopenmuster^[10] den Erwartungen für [L_{*n*}ZnOH]⁺-Ionen, und auch die Stoßaktivierungsspektren der massenselektierten Ionen stützen diese Zuordnung: Für *n* = 3 wird der ausschließliche Verlust von L beobachtet, während für *n* = 1 und 2 die Abspaltungen von L und H₂O miteinander konkurrieren; bei der letzteren Reaktion wird ein H-Atom vom Liganden auf die OH-Gruppe übertragen.

Für die Nachahmung der Aktivierung von CO₂ durch die Carboanhydrase wird im Gasphasenexperiment noch ein weiterer Monitor benötigt, da bei thermischen Energien die Heterolyse [L_{*n*}ZnOH]⁺ + CO₂ → [L_{*n*}Zn]²⁺ + HCO₃⁻ ohne Lösungsmittel unmöglich ist. Hier hilft eine ¹⁸O-Markierung weiter. So führt die ESI einer Lösung von ZnX₂ und L (jeweils ca. 1 mg) in H₂¹⁸O/CH₃OH zur Bildung von [L_{*n*}Zn¹⁸OH]⁺-Ionen, wobei Methanol sowohl zur Verdünnung des ¹⁸O-Wassers als auch zur Verbesserung der Ionisierungsbedingungen dient.^[11] Die so erzeugten Mischungen von [L_{*n*}Zn¹⁶OH]⁺- und [L_{*n*}Zn¹⁸OH]⁺-Ionen lassen sich durch Modellierung der Isotopenmuster^[10] leicht auswerten (siehe Abbildung 1).

In Gegenwart von C¹⁶O₂ zeigen massenselektierte [L_{*n*}Zn¹⁸OH]⁺-Ionen einen langsamen, doch signifikanten entarteten ¹⁶O/¹⁸O-Austausch für L = im und py mit *n* = 1 und 2 (Tabelle 1). Diese Prozesse weisen das für bimolekulare Gasphasenreaktionen bei thermischen Bedingungen erwartete Verhalten auf, insofern die Ausbeuten linear vom CO₂-Druck abhängen und bei höheren Stoßenergien rasch abneh-

[*] Dr. D. Schröder, Prof. Dr. H. Schwarz
Institut für Chemie der Technischen Universität Berlin
10623 Berlin (Deutschland)
Fax: (+49) 30-314-21102
E-mail: df@www.chem.tu-berlin.de

Dipl.-Chem. S. Schenk, Prof. Dr. E. Anders
Institut für Organische Chemie und Makromolekulare Chemie
Friedrich Schiller Universität Jena
07743 Jena (Deutschland)

[**] Diese Arbeit wurde von dem MCInet der EU-Kommission, der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Fonds der Chemischen Industrie und dem Sonderforschungsbereich 436 (Jena) gefördert. Die Berliner Gruppe dankt der Aventis Corporation und dem Sonderforschungsbereich 546 für die ESI-Ausstattung.

Tabelle 1: Relative Geschwindigkeitskonstanten^[a,b] des $^{16}\text{O}/^{18}\text{O}$ -Austauschs von massenselektierten $[\text{L}_n\text{Zn}^{18}\text{OH}]^+$ -Ionen^[c] mit C^{16}O_2 .

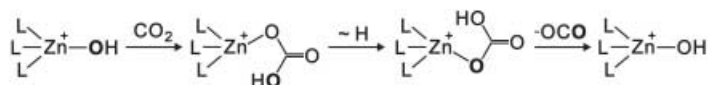
<i>n</i>	L = im	L = py	L = phen
0 ^[d]	< 10 ^[e]		
1	20	35	< 5 ^[e]
2	100	25	
3	< 5 ^[e]	< 5 ^[e]	

[a] Relativ zur Reaktivität von $[(\text{im})_2\text{Zn}^{18}\text{OH}]^+$, die willkürlich auf 100 gesetzt ist (siehe Text). In den Werten sind die Korrekturen für den Isotopenaustausch mit Hintergrundwasser sowie den unvollständigen ^{18}O -Einbau zu a priori unreaktiven $[\text{L}_n\text{Zn}^{16}\text{OH}]^+$ -Ionen bereits berücksichtigt. [b] Innerhalb eines experimentellen Fehler von ± 10 wurden für die reaktiven Systeme die Daten durch Neutralverlustspektren ($\Delta m = -2$) für die gesamten Isotopenmuster bestätigt. [c] Massenselektion mit Q1 bei einem C^{16}O_2 -Druck von $(0.4\text{--}1.5) \times 10^{-3}$ mbar im Hexapol, einer nominal auf 0 eV gesetzten Stoßenergie und Produktanalyse mittels Q2. [d] Dieser Eintrag entspricht bei höheren Konusspannungen erzeugtem „nacktem“ $\text{Zn}^{18}\text{OH}^+$. [e] Aus dem Rauschen abgeleiteter oberer Grenzwert.

men. Ein geringer Anteil $^{16}\text{O}/^{18}\text{O}$ -Austausch in Abwesenheit von CO_2 kann auf im Hintergrund des Massenspektrometers befindliches Wasser zurückgeführt werden. Im Gegensatz dazu zeigen weder „nacktes“ ZnOH^+ noch die dreifach Stickstoff-koordinierten Kationen $[\text{L}_3\text{ZnOH}]^+$ nennenswerten $^{16}\text{O}/^{18}\text{O}$ -Austausch. Im Experiment ist der $^{16}\text{O}/^{18}\text{O}$ -Austausch für $[(\text{im})_2\text{ZnOH}]^+$ am effizientesten, wobei aber auch diese Reaktion nur mit etwa 1 % der gaskinetischen Stoßrate erfolgt. Dieser Befund impliziert, dass der entartete O-Austausch zwischen $[(\text{im})_2\text{ZnOH}]^+$ und CO_2 kinetisch gehindert ist.

Unter Anwendung eines einfachen Arrhenius-Ansatzes^[12] führt die Reaktionseffizienz zu einer oberen Schranke für die Aktivierungsbarriere von $\geq (15 \pm 5) \text{ kJ mol}^{-1}$ über der Energie der isolierten Reaktanten $[(\text{im})_2\text{ZnOH}]^+ + \text{CO}_2$, wobei angenommen wird, dass die innere Energie des $[(\text{im})_2\text{ZnOH}]^+$ -Ions der Temperatur der Ionenquelle (100°C) entspricht.^[13,14] Somit ist das Gasphasenanalogen $[(\text{im})_2\text{ZnOH}]^+$ nicht nur wie das enzymatische System in der Lage, CO_2 zu aktivieren, sondern es hat darüber hinaus auch eine überraschend niedrige Aktivierungsbarriere, obwohl die Proteinumgebung des Enzyms fehlt. Obwohl das Ion $[(\text{phen})\text{ZnOH}]^+$ des zweizähligen Liganden 1,10-Phenanthrolin (phen) formal den $[\text{L}_2\text{ZnOH}]^+$ -Komplexen der einzähligen Liganden Imidazol und Pyridin entspricht, wird keinerlei $^{16}\text{O}/^{18}\text{O}$ -Austausch beobachtet (Tabelle 1). Alle Reaktionen wurden unabhängig für die Kombination $[\text{L}_n\text{Zn}^{16}\text{OH}]^+ + \text{C}^{18}\text{O}_2$ wiederholt, um Zweifel wegen der geringen Effizienzen und hinsichtlich der Gegenwart von Hintergrundwasser auszuräumen.

In der Gasphase muss der entartete $^{16}\text{O}/^{18}\text{O}$ -Austausch durch intramolekulare Wasserstoffwanderungen erfolgen (Schema 2; das O-Atom der ursprünglichen Hydroxygruppe



Schema 2. Entarteter $^{16}\text{O}/^{18}\text{O}$ -Austausch in der Gasphase durch intramolekulare Wasserstoffwanderungen.

ist fett hervorgehoben), was analog zum Lipscomb-Mechanismus der Carboanhydrase ist,^[15–17] während der alternative Lindschog-Mechanismus^[18] die Gasphasenbefunde nicht erklären kann. Über die Rolle der beteiligten Wasserstoffwanderungen gibt der kinetische Isotopeneffekt (KIE) Aufschluss, der in einem Doppelmärkierungsexperiment bestimmt werden konnte, wobei wegen der austauschbaren H-Atome von Imidazol Pyridin als Ligand diente. Abbildung 1 a zeigt die Peaks der $[(\text{py})_2\text{ZnOH}]^+$ -Komplexe, die bei

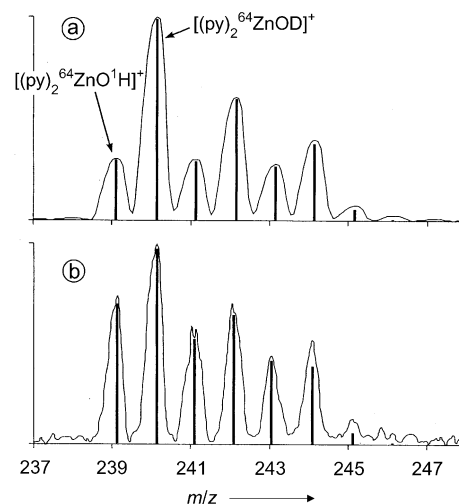


Abbildung 1. a) Partielles ESI-Massenspektrum (Q2-Scan, m/z : 237–248) einer verdünnten Lösung von ZnCl_2 und Pyridin in $\text{D}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{OH}$ (1:1, v/v). b) Neutralzuwachsspektrum (Q1/Q2-Scan, $\Delta m = +2$) dieses Massenbereichs nach Reaktion mit C^{18}O_2 im Hexapol bei einer nominellen Stoßenergie von 0 eV. Die Auflösung ist in (b) notwendigerweise besser als in (a), da das Neutralzuwachsspektrum unter Verwendung zweier Massenanalysatoren erhalten wird, während für (a) nur Q2 abgestimmt wird. Die vertikalen Säulen geben die im Text erwähnten modellierten Isotopenverteilungen wieder.

der ESI einer verdünnten Lösung von ZnCl_2 in einer ca. 1:1-Mischung von D_2O und CH_3OH mit einer Spur Pyridin erhalten wurden. Die Analyse des Isotopenmusters^[10] ergibt einen Deuterierungsgrad von $(75 \pm 2) \text{ Atom-\% D}$. Die Q1-selektierten Ionen wurden dann im Hexapol mit C^{18}O_2 zur Reaktion gebracht und die Produkte des $^{16}\text{O}/^{18}\text{O}$ -Austauschs mit dem zweiten Quadrupol detektiert. Die in dieser Hinsicht empfindlichste Methode wird als Massenzuwachs- oder -verlustspektroskopie bezeichnet.^[19] Zwei in Reihe geschaltete Massenanalysatoren stimmen bei konstanter Differenz Δm untereinander einen gegebenen Massenbereich ab. Hier wurde $\Delta m = +2$ eingestellt, sodass von den in der Ionenquelle gebildeten Ionen nur solche detektiert werden, die in Gegenwart von C^{18}O_2 einen Massenzuwachs von 2 erfahren. Ein numerischer Vergleich der Abbildungen 1 a und 1 b ergibt einen KIE von 2.3 ± 0.3 für den $^{16}\text{O}/^{18}\text{O}$ -Austausch von $[(\text{py})_2\text{ZnOH}]^+$ und $[(\text{py})_2\text{ZnOD}]^+$. Dieser Befund weist nach, dass die Wasserstoffwanderung einen deutlichen Einfluss auf die Geschwindigkeit des entarteten $^{16}\text{O}/^{18}\text{O}$ -Austauschs hat.

Als Nächstes seien die relativen Reaktionsgeschwindigkeiten abhängig von der Art und Zahl der Liganden L

betrachtet. Die Imidazol- und Pyridinkomplexe erwiesen sich als recht ähnlich, wobei $[(\text{im})_2\text{ZnOH}]^+$ am reaktivsten ist, während der Phenanthrolinkomplex $[(\text{phen})\text{ZnOH}]^+$ keinerlei $^{16}\text{O}/^{18}\text{O}$ -Austausch eingeht. Was die Zahl der Liganden angeht, so ist ein grundsätzlicher Unterschied zwischen den Gasphasenexperimenten und der Chemie der kondensierten Phase zu konstatieren: Der Ablauf einer Gasphasenreaktion mit messbarer Geschwindigkeit setzt voraus, dass zunächst ein hinreichend gebundener Ion/Molekül-Komplex gebildet wird (hier: $[\text{L}_n\text{ZnOH}]^+\cdot\text{CO}_2$). Nun sollte die Komplexbildungsenergie von $[\text{L}_n\text{ZnOH}]^+$ und CO_2 mit steigendem n abnehmen, sodass für das vierfach koordinierte $[\text{L}_4\text{ZnOH}]^+$ -Ion eine nur noch geringe Tendenz zur Anlagerung von CO_2 zu erwarten ist, doch zugleich erfordert der Angriff von CO_2 am C-Atom eine hinreichende Nucleophilie der Hydroxygruppe, die für ein $[\text{L}_n\text{ZnOH}]^+$ -Kation in der Gasphase mit abnehmendem n sinkt. Modellstudien^[2] weisen darauf hin, dass die Nucleophilie der Hydroxygruppe von der Energie des freien Elektronenpaares des O-Atoms (E_{LP}^0) abhängt, wobei E_{LP}^0 mit n ansteigt und zugleich die Zn-O-Bindungsordnung (BO_{ZnO}) sinkt. Für kleine n ist die Zn-O-Bindung überwiegend kovalent, während eine Zunahme von n die Bildung mehrfach geladener Metallkomplexfragmente wie $[\text{L}_n\text{Zn}]^{2+}$ begünstigt,^[20–22] neben denen dann „freie“ und daher nucleophilere Hydroxid-Ionen vorliegen. Diese gegenläufigen Trends liefern eine qualitative Erklärung für das Reaktivitätsmaximum im Falle des $[(\text{im})_2\text{ZnOH}]^+$ -Kations.

Diese eher intuitive Argumentation wird durch erste Ab-initio-Rechnungen zu $[(\text{im})_n\text{ZnOH}]^+$ -Komplexen gestützt (Tabelle 2): Die Komplexbildungsenergie der Imidazolligan-

rungen in organischen Verbindungen generell schwierig sind^[23,24] und dass Berechnungen am Modellsystem $[(\text{NH}_3)_3\text{ZnOH}]^+\cdot\text{CO}_2$ ^[3,25] deutliche Aktivierungsbarrieren für den Lipscomb-Mechanismus^[15,16] voraussagen, stellt sich allerdings die Frage, ob die Liganden im Gasphasenexperiment wirklich nur als Beobachter fungieren. Alternativ könnten die basischen Stickstoffliganden auch als interne Protonenüberträger dienen. Eine solche Betrachtungsweise liefert auch eine qualitative Erklärung für die unterschiedlichen Gasphasenreaktivitäten der formal ähnlichen Komplexe $[(\text{py})_2\text{ZnOH}]^+$ und $[(\text{phen})\text{ZnOH}]^+$ gegenüber CO_2 . Ferner könnte eine aktive Beteiligung der NH-Protonen auch die besondere Reaktivität von $[(\text{im})_2\text{ZnOH}]^+$ erklären. Weiter führende Arbeiten sind erforderlich, um die Unterschiede zwischen Imidazol- und Pyridinkomplexen zu verstehen und die Rolle möglicher Tunneleffekte bei den Wasserstoffwanderungen zu eruieren.^[26] Ferner ist bemerkenswert, dass sich die berechneten Eigenschaften des Komplexes $[(\text{phen})\text{ZnOH}]^+$ (Tabelle 2) nur wenig von denen des Komplexes $[(\text{im})_2\text{ZnOH}]^+$ unterscheiden. Möglicherweise vermag auch $[(\text{phen})\text{ZnOH}]^+$ das CO_2 -Molekül in der Gasphase zu aktivieren, doch werden die für den massenspektrometrischen Nachweis über $^{16}\text{O}/^{18}\text{O}$ -Austausch erforderlichen Wasserstoffwanderungen durch die geringere Flexibilität des Phenanthrolinliganden unterdrückt.

Ungeachtet der oben angeführten Unsicherheiten hinsichtlich der Details des Reaktionsverlaufs ist es bemerkenswert, dass die essenziellen Schritte der CO_2 -Aktivierung durch die Carboanhydrase, ein Enzym mit einem Molekulargewicht von ca. 30 kDa, durch Gasphasenkomplexe mit weniger als 300 Da nachgeahmt werden können. Dieser Befund eröffnet die Möglichkeit, experimentelle und theoretische Methoden zur Untersuchung biomimetischer Metallkomplexe anhand konkreter Fallbeispiele zu überprüfen.^[27]

Eingegangen am 19. März 2003,
veränderte Fassung am 26. Juni 2003
[Z51440]

Stichwörter: Carboanhydrase · Elektrospray-Ionisation · Kohlendioxid · Massenspektrometrie · Zink

Tabelle 2: Berechnete Komplexbildungsenergien $D(\text{im-Zn})$,^[a,b] atomare Ladungen von Zn und O (q_{Zn} , q_{O}),^[c] Ladung der OH-Gruppe (q_{OH}),^[c] Zn-O-Bindungsordnung (BO_{ZnO}),^[d] Zn-O-Abstand (d_{ZnO})^[e] und Energie des freien Elektronenpaares am O-Atom (E_{LP}^0)^[f] der $[(\text{im})_n\text{ZnOH}]^+$ -Komplexe und des Komplexes $[(\text{phen})\text{ZnOH}]^+$.^[g]

	$D(\text{im-Zn})$	q_{Zn}	q_{O}	q_{OH}	BO_{ZnO}	d_{ZnO}	E_{LP}^0
ZnOH^+		1.562	−1.060	−0.56	0.712	177.5	−0.544
$[(\text{im})\text{ZnOH}]^+$	394	1.555	−1.203	−0.72	0.459	175.2	−0.446
$[(\text{im})_2\text{ZnOH}]^+$	171	1.623	−1.274	−0.81	0.308	182.0	−0.387
$[(\text{im})_3\text{ZnOH}]^+$	129	1.650	−1.312	−0.85	0.210	188.5	−0.347
$[(\text{phen})\text{ZnOH}]^+$		1.594	−1.239	−0.77	0.375	178.8	−0.397

[a] Genauer definiert als: $D_0(\text{im-Zn}(\text{im})_{n-1}(\text{OH})^+)$. [b] In kJ mol^{-1} bei 0 K. [c] Gemäß „Natural Population“-Analyse. [d] Wiberg-Bindungsindex gemäß NBO. [e] In pm. [f] In Hartree. [g] Alle Werte beziehen sich auf das B3LYP6-311++G(d,p)-Niveau.

den sinkt mit n , während die Partialladung des Sauerstoffs der Hydroxygruppe von $q_{\text{O}} = -1.06$ in „nacktem“ ZnOH^+ auf $q_{\text{O}} = -1.31$ in $[(\text{im})_3\text{ZnOH}]^+$ ansteigt. Analog dazu nimmt die Partialladung der gesamten Hydroxygruppe (q_{OH}) von ZnOH^+ nach $[(\text{im})_3\text{ZnOH}]^+$ zu.

Das in der Gasphase gefundene Reaktivitätsmaximum für $[(\text{im})_2\text{ZnOH}]^+$ steht im Gegensatz zur Situation bei der Carboanhydrase, bei der ein vierfach koordinierter Zinkkomplex als reaktive Spezies fungiert. In Lösung kann es jedoch anders als im hier vorgestellten Gasphasenmodell zusätzliche Wasserstoffbrücken geben, die die Anbindung von CO_2 und die nachfolgenden Wasserstoffwanderungen erleichtern.^[4] In Anbetracht der Tatsache, dass 1,3-H-Wande-

- [1] W. Kaim, B. Schwederski, *Bioorganische Chemie*, Teubner, Stuttgart, 1991.
- [2] M. Bräuer, J. L. Pérez-Lustres, J. Weston, E. Anders, *Inorg. Chem.* **2002**, 41, 1454.
- [3] M. Mauksch, M. Bräuer, J. Weston, E. Anders, *ChemBioChem* **2001**, 2, 190.
- [4] Q. Cui, M. Karplus, *J. Phys. Chem. B* **2003**, 107, 1071.
- [5] Siehe auch: M. T. Nguyen, G. Raspoet, L. C. Vanquickenborne, P. T. Van Duijnen, *J. Phys. Chem. A* **1997**, 101, 7379.
- [6] J. B. Fenn, M. Mann, C. K. Meng, S. F. Wong, C. M. Whitehouse, *Science* **1989**, 246, 64; siehe auch den Nobel-Vortrag J. B. Fenn,

- Angew. Chem.* **2003**, *115*, 3999; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3871.
- [7] D. Schröder, T. Weiske, H. Schwarz, *Int. J. Mass Spectrom.* **2002**, *219*, 759.
- [8] Technischer Hinweis: Aus den trüben Lösungen, die sich nach dem Zusatz von Base bilden, fallen gelegentlich Zinkhydroxide aus, die zu einer Verstopfung der ESI-Kapillare führen können.
- [9] M. Kohler, J. A. Leary, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **1997**, *162*, 17.
- [10] Isotopenverteilungen wurden mit dem Sheffield ChemPuter berechnet, siehe: <http://www.shef.ac.uk/chemistry/chemputer/index.html> (Mark Winter, University of Sheffield, Großbritannien, **1993–2001**).
- [11] N. B. Cech, C. G. Enke, *Mass Spectrom. Rev.* **2001**, *20*, 362.
- [12] V. Baranov, G. Javahery, A. C. Hopkinson, D. K. Bohme, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 12801.
- [13] Es sei darauf hingewiesen, dass die bei höheren Konusspannungen gebildeten Ionen eine höhere innere Energie aufweisen können.^[7,14] Unabhängig davon ist die beobachtete Energieabhängigkeit des $^{16}\text{O}/^{18}\text{O}$ -Austauschs charakteristisch für einen thermischen Prozess.
- [14] D. Schröder, M. Engeser, M. Brönstrup, C. Daniel, J. Spandl, H. Hartl, *Int. J. Mass Spectrom.* **2003**, *228*, 743.
- [15] J.-Y. Liang, W. N. Lipscomb, *Biochemistry* **1987**, *26*, 5293.
- [16] J.-Y. Liang, W. N. Lipscomb, *Biochemistry* **1988**, *27*, 8676.
- [17] M. Solà, A. Lledós, M. Duran, J. Bertrán, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 869.
- [18] D. N. Silverman, S. Lindskog, *Acc. Chem. Res.* **1988**, *21*, 30.
- [19] K. L. Busch, G. L. Glish, S. A. McLuckey, *Mass Spectrometry/ Mass Spectrometry: Techniques and Applications of Tandem Mass Spectrometry*, VCH, Weinheim, **1988**.
- [20] M. Peschke, A. T. Blades, P. Kebarle, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 10440.
- [21] A. J. Stace, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2001**, *3*, 1935.
- [22] D. Schröder, K. Schroeter, H. Schwarz, *Int. J. Mass Spectrom.* **2001**, *212*, 327.
- [23] D. Schröder, J. Loos, H. Schwarz, R. Thissen, O. Dutuit, P. Mourgues, H.-E. Audier, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 2867; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2748, zit. Lit.
- [24] T. Loerting, C. Tautermann, R. T. Kroemer, I. Kohl, A. Hallbrucker, E. Mayer, K. Liedl, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 920; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 891.
- [25] Siehe auch: H. Erras-Hanauer, Z.-W. Mao, G. Liehr, T. Clark, R. van Eldik, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, 1562.
- [26] Z. Smedarchina, W. Siebrand, A. Fernández-Ramos, Q. Cui, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 243.
- [27] H. Vahrenkamp, *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 589.