

Mechanismus der metallvermittelten Desaminierung von Cytosin – Experiment und DFT-Rechnungen**

Judit E. Šponer,* Pablo J. Sanz Miguel, Luis Rodríguez-Santiago, Andrea Erxleben, Michael Krumm, Mariona Sodupe,* Jiří Šponer und Bernhard Lippert*

Die Desaminierung von Cytosin zu Uracil ist eine der Hauptursachen für DNA-Schäden in eukaryotischen Zellen,^[1] wobei Uracil durch das Enzym Uracil-DNA-Glycosylase umgehend aus der sich replizierenden DNA geschnitten wird. 5-Methylcytosin (^mC) dagegen, das an der Regulierung der Genexpression beteiligt ist, unterliegt einer Desaminierungsreaktion zu Thymin. Die Reaktion ^mC → Thymin verläuft drei- bis viermal schneller als die Reaktion Cytosin → Uracil.^[2] Thymin wird nicht ausgeschnitten, allerdings unterliegt das GT-Fehlpaar einer Fehlpaarungsreparatur, die jedoch bedeutend langsamer ist als das Herausschneiden von Uracil. Als Folge hiervon sind 5-Methylcytosin-Einheiten Hotspots für spontane Transitions-Mutationen.^[3] Annahmen zufolge sind ^mCpG-Sequenzen bevorzugte Stellen für spontane Punktmutationen (GC → AT-Transitionen), die für ein Drittel der Punktmutationen bei erblich bedingten menschlichen Krankheiten verantwortlich sein können.^[4] In sich nicht teilenden Zellen werden die RNA-Polymerasen nicht durch Uracil gehemmt und erzeugen folglich mit hoher Effizienz mutierte Transkripte.^[5] Die spontane hydrolytische

[*] Dr. J. E. Šponer, Dr. J. Šponer
Institute of Biophysics
Academy of Sciences of the Czech Republic
Královopolská 135, 61265 Brno (Tschechische Republik)
Fax: (+420) 541-211-293
E-mail: judit@ncbr.chemi.muni.cz
Dr. L. Rodríguez-Santiago, Dr. M. Sodupe
Departament de Química
Universitat Autònoma de Barcelona
Bellaterra 08193 (Spanien)
Fax: (+34) 93-581-2920
E-mail: mariona@klingon.uab.es
Dipl.-Chem. P. J. Sanz Miguel, Priv.-Doz. Dr. A. Erxleben,
Dr. M. Krumm, Prof. B. Lippert
Fachbereich Chemie
Universität Dortmund
44221 Dortmund (Deutschland)
Fax: (+49) 231-755-3797
E-mail: bernhard.lippert@uni-dortmund.de

[**] Diese Arbeit wurde durch folgende Institutionen unterstützt: MYCT und FEDER (Projekt BQU 2202-04112-C02-01), DURSI (Projekt 2001 SGR-00182), CESCA-CEPBA, LN00A016, MSMT ČR, Volkswagen-Stiftung (Projekt I/74657), Deutsche Forschungsgemeinschaft und Fonds der Chemischen Industrie. Wir bedanken uns für Rechnerzeit am Catalonia Supercomputer Center (CESCA) durch J.E.Š., J.Š., M.S. und L.R.S. und für ein Wellcome Trust International Senior Research Fellowship für Biomedizin in Zentraleuropa für J.Š.

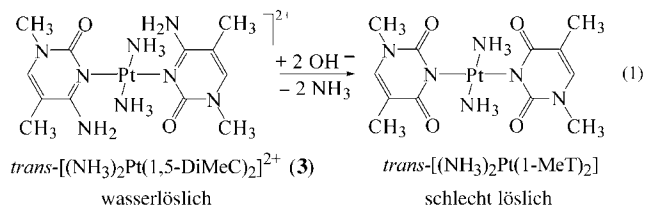


Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.

Desaminierung von Cytosin und 5-Methylcytosin erfolgt anscheinend ohne besondere Sequenzspezifität, jedoch reagiert Einzelstrang-DNA deutlich bereitwilliger.^[1] Hier berichten wir über unsere Beobachtungen, dass kationische Pt^{II}-Komplexe der Modellnucleobasen 1-Methylcytosin (1-MeC) und 1,5-Dimethylcytosin (1,5-DiMeC) unter basischen Bedingungen unerwartet leicht einer Desaminierung des Cytosinliganden unterliegen. Bei diesen Reaktionen entstehen die entsprechenden Komplexe von 1-Methyluracilat (1-MeU) bzw. 1-Methylthyminat (1-MeT). Die freien Basen 1-MeC und 1,5-DiMeC zeigen unter vergleichbaren Bedingungen über Monate hinweg keine Anzeichen von Desaminierung, und selbst die Desaminierung von Desoxycytidin^[6] oder Cytosin in einfach- oder doppelsträngiger DNA^[7] erfordert gleichermaßen unphysiologisch hohe pH-Werte. Diese scheinbar paradoxe Situation lässt darauf schließen, dass die Reaktion auch in vivo einen Katalysator erfordert, z. B. ein Metallion.

Interessanterweise enthalten Bakterien und Pilze Cytosin-Desaminasen (Cdsen) zur Wiederverwertung der Pyrimidinbasen.^[8] Diese Enzyme weisen entweder Zn^{2+} oder Fe^{2+} im aktiven Zentrum auf, wobei die Metallionen vermutlich die Addition eines OH^- -Nucleophils an die C4-Position von Cytosin vermitteln.

Desaminierungsreaktionen von an N3 platinierter Cytosin-Nucleobasen wurden von uns erstmals bei der Behandlung von Komplexen der Zusammensetzung *trans*-[a₂Pt(C-N3)₂](NO₃)₂ (a = NH₃, C = 1-Methylcytosin, 1-MeC (**1**); a = CH₃NH₂, C = 1-MeC (**2**); a = NH₃, C = 1,5-Dimethylcytosin, 1,5-DiMeC (**3**); a = CH₃NH₂, C = 1,5-DiMeC (**4**)) mit Base (KOH, NaOH) bei pH-Werten über 12.5 festgestellt. Wir beobachteten die Bildung der schlecht löslichen Komplexe *trans*-[a₂PtL₂] (L = 1-Methyluracilat, 1-MeU, oder 1-Methylthyminat, 1-MeT), die leicht charakterisiert und mit authentischen Proben verglichen werden konnten. Bei der Umsetzung von **3** setzte der Niederschlag des 1-MeT-Komplexes sofort nach Zugabe von Base ein (Reaktion 1). Erst kürzlich



beschrieben Arpalhti und Klika eine ähnliche Desaminierungsreaktion bei 9-Methyladenin-Komplexen von Pt^{II} .^[9]

Um die Desaminierung von Cytosin mechanistisch untersuchen zu können, haben wir einen einfacheren Komplex mit nur einer Cytosinbase hergestellt. Die Ausgangsverbindung [(dien)Pt(1-MeC-N3)](NO₃)₂ (**5**) (dien = Diethylentriamin) wurde durch Reaktion von [(dien)Pt(H₂O)]²⁺ mit 1-MeC erzeugt. Proben von **5** wurden in D₂O gelöst, der pD-Wert durch Zugabe von NaOD eingestellt und die Reaktion bei Raumtemperatur zeitlich verfolgt. Die ¹H-NMR-Spektren eines typischen Experiments bei pD 12.7 sind in den Hintergrundinformationen dargestellt. Der vergrößerte Tieffeldbe-

reich eines Spektrums ist in Abbildung 1 gezeigt. Wie zu erkennen ist, verschwinden Resonanzen der Ausgangsverbindung **5** (A) bei gleichzeitigem Auftreten der neuen Signalsätze B, C und D. Der Signalsatz B kann durch Vergleich mit

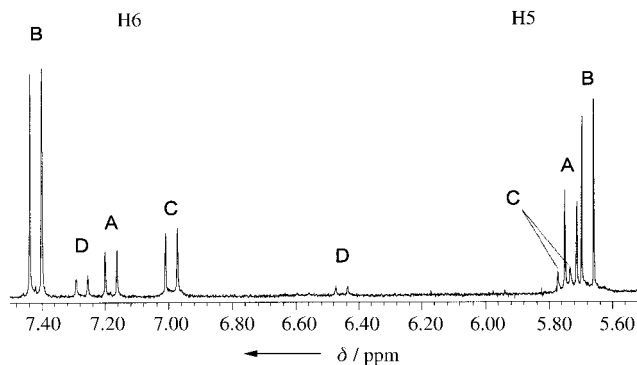
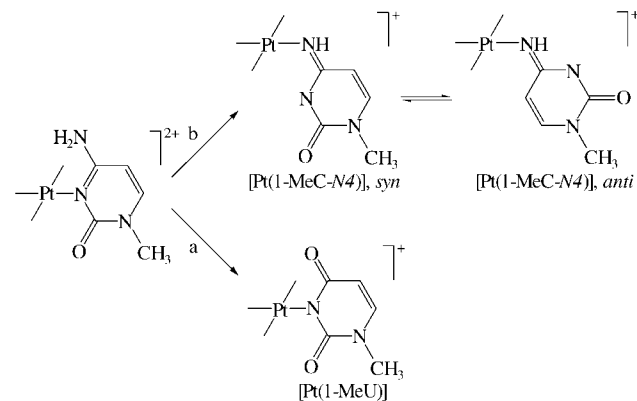


Abbildung 1. Tieffeldbereich des ^1H -NMR-Spektrums von **5** nach 4 Tagen bei Raumtemperatur.

einer Probe, die aus [(dien)Pt^{II}] und 1-MeU erhalten wurde, eindeutig dem Desaminierungsprodukt von **5**, [(dien)Pt(1-MeU-N3)]⁺, zugeordnet werden. Die beiden anderen Sätze wurden auf der Basis von 2D-NMR-Untersuchungen und ihrer pD-Abhängigkeit zwei Rotameren (C, *syn*; D, *anti*; 3:1) des Cytosin-N4-Bindungsisomers [(dien)Pt(1-MeC-N4)]⁺ zugeordnet (siehe Hintergrundinformationen). Somit zeigt sich, dass in stark alkalischem Milieu die Desaminierung der Cytosin-Nucleobase in **5** mit einer Wanderung des Metallzentrums nach N4 konkurriert (Schema 1). Unter den experimentellen Bedingungen werden 73 % des Desaminierungsprodukts und 27 % des Bindungsisomers gebildet.



Schema 1. a) Desaminierung der Cytosin-Nucleobase in [(dien)Pt(1-MeC-N3)]²⁺ (**5**) und b) konkurrierende Wanderung des Pt^{II}-Zentrums nach N4.

Auf der Grundlage pD-abhängiger ^1H -NMR-spektroskopischer Untersuchungen wird der pK_a -Wert der Deprotonierung von **5** auf ca. 13 geschätzt. Dies lässt darauf schließen, dass einer Wanderung der $\{(\text{dien})\text{Pt}^\text{II}\}$ -Einheit die Deprotonierung der exocyclischen Aminogruppe des Cytosins vorausgeht. Die Bindungsisomerisierung erinnert daher an den

bei $[(\text{NH}_3)_5\text{Ru}^{\text{III}}(1\text{-MeC})]^{3+}$ ^[10] und verschiedenen Adenin-Komplexen von Pt^{II} ^[11] beobachteten Prozess und unterscheidet sich von einem redoxunterstützten Reaktionsweg, der kürzlich von uns beschrieben wurde.^[12] Abbildung 2 zeigt das Verschwinden von **5** bei pD 12.7 ($t_{1/2} = 1.4$ d) und die gleichzeitige Bildung der Uracil-Spezies ($t_{1/2} = 1.43$ d, $k = 5.6 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$) sowie der N4-Bindungsisomere ($t_{1/2} = 1$ d, $k = 8.0 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$).

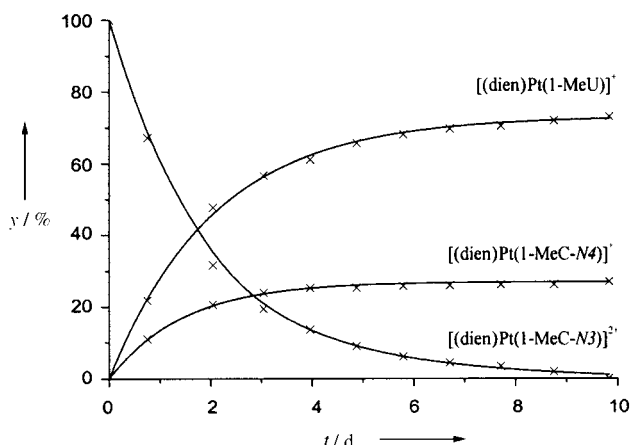


Abbildung 2. Umsetzung von **5** und Bildung des Desaminierungsprodukts $[(\text{dien})\text{Pt}(1\text{-MeU-N3})]^+$ und der N4-Bindungsisomere von $[(\text{dien})\text{Pt}(1\text{-MeC-N4})]^+$ (*syn*- und *anti*-Formen nicht unterschieden).

Wie bei $[(\text{dien})\text{Pt}(1\text{-MeC-N3})]^{2+}$ werden die 1-MeC-Liganden in *cis*- $[(\text{NH}_3)_2\text{Pt}(1\text{-MeC-N3})_2](\text{NO}_3)_2$ (**6**), *trans*- $[(\text{CH}_3\text{NH}_2)_2\text{Pt}(1\text{-MeU-N3})(1\text{-MeC-N3})]\text{ClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**7**) und *trans*- $[(\text{CH}_3\text{NH}_2)_2\text{Pt}(1\text{-MeU-N3})(1,5\text{-DiMeC-N3})]\text{ClO}_4$ (**8**) in stark alkalischem Milieu desaminiert. Chemische Verschiebungen ($^1\text{H-NMR}$) der Pt-Komplexe in D_2O sind in den Hintergrundinformationen zusammengefasst.

In den bisher beschriebenen Reaktionen kann die leichte Desaminierung von Pt-gebundenem Cytosin auf Lewis-Säure-Aktivierung durch das Metallion zurückgeführt werden. Um eine mögliche kombinierte Aktivierung durch Lewis-Säure und Metall-Hydroxid (durch einen nucleophilen Angriff von komplexiertem OH^-) zu testen, untersuchten wir die Desaminierung des Cytosin-Liganden in *cis*- $[(\text{NH}_3)_2\text{Pt}(1\text{-MeC-N3})(\text{OH})]^+$ (**9**).^[13] Der pK_a -Wert des entsprechenden Aqua-Komplexes liegt bei 5.9,^[14] was bedeutet, dass die Hydroxo-Spezies bei neutralem pH in Lösung dominiert. Bei pD 7.2 werden Signale des Desaminierungsprodukts *cis*- $[(\text{NH}_3)_2\text{Pt}(1\text{-MeU})\text{X}]^{n+}$ ($\text{X} = \text{OD}$, $n = 0$; $\text{X} = \text{D}_2\text{O}$, $n = 1$)^[15] selbst nach 15 Tagen bei 40 °C nicht beobachtet. Eine Desaminierung von *cis*- $[(\text{NH}_3)_2\text{Pt}(1\text{-MeC-N3})\text{Cl}]\text{Cl}$ findet nur statt, wenn der pD-Wert der Lösung auf 14 eingestellt wird. Bei diesem pD-Wert entstehen dem Komplex *cis*- $[(\text{NH}_3)_2\text{Pt}(1\text{-MeU-N3})(\text{OH})]$ zugeordnete Dubletts bei $\delta = 7.41$ und 5.67 ppm, deren Intensitäten über einen Zeitraum von 12 Tagen ansteigen. Somit ist die Desaminierungsgeschwindigkeit mit der von *cis*- $[(\text{NH}_3)_2\text{Pt}(1\text{-MeC-N3})_2]^{2+}$ vergleichbar, und eine Beteiligung der Hydroxo-Gruppe am Reaktionsmechanismus ist folglich auszuschließen. Dies ist

auch in Übereinstimmung mit den nachfolgend beschriebenen DFT-Rechnungen.

Der wahrscheinlichste Ablauf der Desaminierungsreaktion – der bimolekulare Weg – wurde für drei Verbindungen mit unsubstituiertem Cytosin (C) anstelle von 1-MeC modelliert: $[(\text{NH}_3)_3\text{Pt}(\text{C-N3})]^{2+}$ (**5a**; analog zu $[(\text{dien})\text{Pt}(1\text{-MeC-N3})]^{2+}$, **5**), *cis*- $[(\text{NH}_3)_2\text{Pt}(\text{C-N3})(\text{OH})]^+$ (**9a**; analog zu *cis*- $[(\text{NH}_3)_2\text{Pt}(1\text{-MeC-N3})(\text{OH})]^+$, **9**) und *cis*- $[(\text{NH}_3)_2\text{Pt}(\text{C-N3})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ (**9b**; die protonierte Form von **9a**).

Wir haben das Energieprofil der bimolekularen Reaktion auf DFT/Becke3LYP-Niveau unter Verwendung des Polarized Continuum Model (PCM) berechnet, um die Solvationseffekte zu berücksichtigen. Die Verlässlichkeit dieses Ansatzes zur Untersuchung dieser speziellen Reaktion wurde durch Benchmark-Rechnungen mit der CCSD(T)-Methode überprüft. Einzelheiten zu den Rechnungen sowie die Ergebnisse der Benchmark-Rechnungen finden sich in den Hintergrundinformationen. Der Reaktionsweg besteht aus zwei elementaren Schritten: der Addition eines Nucleophils an das C4-Kohlenstoffatom des Cytosins und der nachfolgenden Eliminierung der N4-Aminogruppe. Das Energieprofil der Reaktion ist in Abbildung 3 gezeigt. Dargestellt sind

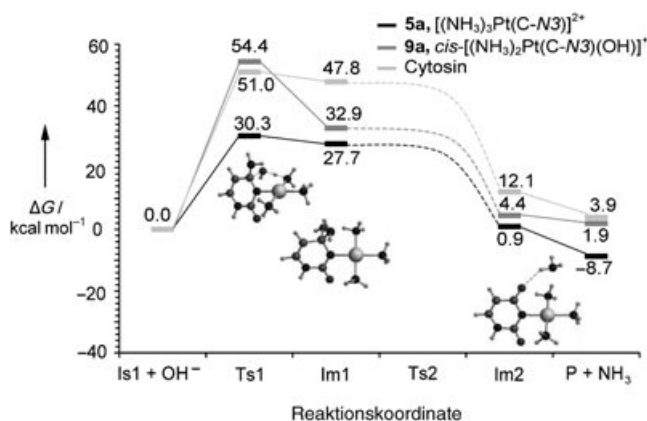


Abbildung 3. Berechnete Energieprofile der Desaminierungsreaktion von Cytosin (hellgrau) und der Platinkomplexe $[(\text{NH}_3)_3\text{Pt}(\text{C-N3})]^{2+}$ (**5a**, schwarz) und *cis*- $[(\text{NH}_3)_2\text{Pt}(\text{C-N3})(\text{OH})]^+$ (**9a**, dunkelgrau). Die Ergebnisse wurden auf DFT/Becke3LYP-Niveau unter Anwendung des PC-Modells zur Simulation des Lösungsmittels Wasser berechnet. Is1 = Substrat, Ts1 = Übergangszustand des ersten Reaktionsschritts, Im1 = Intermediat, das als Produkt des ersten Reaktionsschritts gebildet wird, Ts2 = Übergangszustand des zweiten Reaktionsschritts, Im2 = Produkt des zweiten Reaktionsschritts, P = Reaktionsprodukt (Platin-Uracil-Komplex).

unter anderem optimierte Strukturen in der Gasphase für die Zwischenstufen und den Übergangszustand des vorgeschlagenen Mechanismus der Reaktion von **5a** mit OH^- .

Die berechnete Aktivierungsenergie des ersten Reaktionsschritts, d.h. des Angriffs eines OH^- -Nucleophils an C4, ist stark abhängig von der Gesamtladung des resultierenden Komplexes: Sie beträgt $30.3 \text{ kcal mol}^{-1}$ bei einer Ladung von +1 (**5a** + OH^-) und nimmt bei neutralen (**9a** + OH^- , $54.4 \text{ kcal mol}^{-1}$) und negativ geladenen Systemen (Cytosin + OH^- , $51.0 \text{ kcal mol}^{-1}$) deutlich zu. Diese Werte sind in erster Linie wegen der großen Desolvationsenergie des OH^- -Ions

($-\Delta G_{\text{sol}}(\text{OH}^-)$) so hoch. Der experimentell bestimmte Wert für $-\Delta G_{\text{sol}}(\text{OH}^-)$ liegt zwischen -104 und -107.5 kcal mol $^{-1}$,^[16] wohingegen unsere PCM-Rechnungen einen beträchtlich höheren Wert von -113.1 kcal mol $^{-1}$ ergeben. Dies führt zu einer systematischen Überschätzung der Aktivierungsenergie des ersten Reaktionsschritts von mindestens 6.6 kcal mol $^{-1}$. Vernünftig abgeschätzte Aktivierungsenergien für **5a**, **9a** und freies Cytosin liegen somit bei 23.7, 47.8 bzw. 44.4 kcal mol $^{-1}$. Das Zwischenprodukt des Meisenheimer-Typs (Im1) wird durch Komplexbildung mit Platin deutlich besser stabilisiert als das nichtmetallierte System. Jedoch ist die berechnete kinetische Barriere für **9a** zu hoch, als dass Im1 in nennenswerten Mengen gebildet werden sollte. Das gleiche gilt für den Meisenheimer-Komplex, der durch die Reaktion von freiem Cytosin mit OH $^-$ entsteht. Neben kinetischen Gründen macht hier auch die geringe thermodynamische Stabilität von Im1 den Additionsschritt höchst unwahrscheinlich.

Im zweiten Reaktionsschritt wird die N4-Aminogruppe aus der Cytosin-Einheit freigesetzt, wobei gleichzeitig am C4-Kohlenstoffatom eine C=O-Bindung gebildet wird. Dieser Schritt erfordert einen Protonentransfer OH \rightarrow NH $_2$ von der *ipso*-Hydroxy- zur Aminogruppe des Meisenheimer-Komplexes. Die berechneten Aktivierungsenergien für diesen Reaktionsschritt sind relativ hoch und betragen für **5a**, **9a** und unsubstituiertes Cytosin 28.2, 33.7 bzw. 17.6 kcal mol $^{-1}$, könnten aber in wässriger Lösung durch lösungsmittelunterstützte Katalyse deutlich gesenkt werden.^[17] So haben etwa theoretische Untersuchungen von 1,3-Isomerisierungen^[18] gezeigt, dass die Energiebarriere um bis zu 30 kcal mol $^{-1}$ gesenkt werden kann, wenn der Prozess über ein Wassermolekül abläuft.

Anhand von **9a** und **9b** wurde auch die Möglichkeit eines unimolekularen Ablaufs der Desaminierung eines Cytosin-Platinkomplexes zum Uracil-Platinkomplex untersucht. Diesen Studien zufolge wird der nucleophile Angriff an C4 durch den Liganden in *cis*-Stellung zum Cytosinring initiiert. Ein Ligandentransfer von der Pt II -Einheit zum C4-Kohlenstoffatom von Cytosin erfordert eine Bewegung des Pt II -Zentrums hin zu C4. Im Übergangszustand teilt sich das Wassermolekül ein Wasserstoffatom mit der N4-Aminogruppe des Cytosins und bindet gleichzeitig an C4. Die Pyramidalisierung von C4 ist mit Diederwinkeln N4-C4-N3-C5 von -130.7° (**9a**) und -117.2° (**9b**) sehr ausgeprägt. Auch ist die quadratisch-planare Koordination des Pt II -Zentrums ungewöhnlich stark verzerrt. So betragen die N-Pt-N-Winkel unmittelbar am Cytosinring nur 74.6° (**9a**) und 74.8° (**9b**). Eine derart starke Symmetrierniedrigung sowohl der Nucleobase als auch der Metalleinheit erfordert eine relativ hohe Energie, die sich in den Aktivierungsenergien dieses unimolekularen Reaktionswegs ausdrückt (66.5 kcal mol $^{-1}$ für **9b**, 30.3 kcal mol $^{-1}$ für **9a**).

Zusammengefasst lassen unsere Berechnungen darauf schließen, dass in Wasser die Desaminierung von Cytosin nach einem bimolekularen nucleophilen Substitutionsmechanismus abläuft und dass die Aktivierungsenergie der Reaktion 23.7 kcal mol $^{-1}$ beträgt. Das Substrat der Reaktion hat eine Ladung von +2, und diese Ladung der metallkoordinierten Nucleobase verstärkt die Anziehung zwischen Sub-

strat und Nucleophil. Die Aktivierungsenergien, die für Substrate mit niedriger Ladung erhalten werden, sind für eine ausreichende Produktbildung zu hoch. Auch sind die beiden unimolekularen Szenarien energetisch ungünstiger als der für **5a** beschriebene bimolekulare Weg. Pt II spielt bei der Katalyse der Desaminierung eine dreifache Rolle, indem es a) die Produkte Im1 und Im2 stabilisiert, b) durch seine positive Ladung den Cytosinring aktiviert und c) bei der Reaktion von **5a** die Aktivierungsenergie des geschwindigkeitsbestimmenden Schritts deutlich herabsetzt. Wir sind uns der Tatsache bewusst, dass das Metall in unserem Modellsystem am desaminierten Produkt gebunden bleibt und dass es, wenn man von einem katalytischen Zyklus sprechen wollte, durch ein Proton ersetzt werden müsste.

Experimentelles

Die Verbindungen **1–9** wurden wie in den Hintergrundinformationen beschrieben synthetisiert. ^1H -NMR-Spektren wurden auf einem Bruker-AC200-Spektrometer (200 MHz) in D $_2$ O mit Natrium-3-(trimethylsilyl)propansulfonat (TSP) als internem Standard aufgenommen. Die pD-Werte wurden mit einem Metrohm-632-pH-Meter gemessen und mit NaOD und DNO $_3$ eingestellt. Die pK $_a$ -Werte wurden wie beschrieben berechnet.^[19]

Die DFT-Rechnungen wurden mit dem Programmpaket Gaussian98 durchgeführt. Einzelheiten sind in den Hintergrundinformationen angegeben.

Eingegangen am 24. März 2004

Stichwörter: Cytosin · Desaminierungen · Dichtefunktionalrechnungen · Nucleobasen · Platin

- [1] T. Lindahl, *Nature* **1993**, 362, 709–715.
- [2] T. Lindahl, B. Nyberg, *Biochemistry* **1974**, 13, 3405–3410.
- [3] a) B. K. Duncan, J. H. Miller, *Nature* **1980**, 287, 560–561; b) W. M. Rideout III, G. A. Coetzee, A. F. Olumi, P. A. Jones, *Science* **1990**, 249, 1288–1290.
- [4] D. N. Cooper, H. Youssoufian, *Hum. Genet.* **1988**, 78, 151–155.
- [5] A. Viswanathan, H. J. You, P. W. Doetsch, *Science* **1999**, 284, 159–162.
- [6] R. Y.-H. Wang, K. C. Kuo, C. W. Gehrke, L.-H. Huang, M. Ehrlich, *Biochim. Biophys. Acta* **1982**, 697, 371–377.
- [7] a) L. A. Frederico, T. A. Kunkel, B. Ramsay Shaw, *Biochemistry* **1990**, 29, 2532–2537; b) B. Ramsay Shaw in *Structural Biology: The State of the Art* (Hrsg.: R. H. Sarma, M. H. Sarma), Adenine Press, Shenectady, **1994**, S. 367–378.
- [8] G. C. Ireton, G. McDermott, M. E. Black, B. L. Stoddard, *J. Mol. Biol.* **2002**, 315, 687–697.
- [9] a) J. Arpalahti, K. D. Klika, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, 4195–4201; b) K. D. Klika, J. Arpalahti, *Chem. Commun.* **2004**, 666–667.
- [10] M. J. Clarke, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 5068–5075.
- [11] a) J. Arpalahti, K. D. Klika, *Eur. J. Inorg. Chem.* **1999**, 1199–1201; b) J. Viljanen, K. D. Klika, R. Sillanpää, J. Arpalahti, *Inorg. Chem.* **1999**, 38, 4924–4925; c) J. Arpalahti, K. D. Klika, S. Molander, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2000**, 1007–1013.
- [12] a) F. Pichierri, D. Holthenrich, E. Zangrando, B. Lippert, L. Randaccio, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1996**, 1, 439–445; b) B. Lippert, H. Schöllhorn, U. Thewalt, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 6616–6621; c) H. Schöllhorn, R. Beyerle-Pfnür, U. Thewalt, B. Lippert, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 3680–3688.

- [13] J. F. Britten, B. Lippert, C. J. L. Lock, P. Pilon, *Inorg. Chem.* **1982**, 21, 1936–1941.
- [14] F. Schwarz, B. Lippert, A. Iakovidis, N. Hadjiliadis, *Inorg. Chim. Acta* **1990**, 168, 275–281.
- [15] B. Lippert, D. Neugebauer, G. Raudaschl, *Inorg. Chim. Acta* **1983**, 78, 161–170.
- [16] T. Yamabe, K. Yamashita, M. Kaminoyama, M. Koizumi, A. Tachibana, K. Fukui, *J. Phys. Chem.* **1984**, 88, 1459–1463.
- [17] E. Constantino, X. Solans-Monfort, M. Sodupe, J. Bertran, *Chem. Phys.* **2003**, 295, 151–158.
- [18] L. Rodríguez-Santiago, O. Vendrell, I. Tejero, M. Sodupe, J. Bertran, *Chem. Phys. Lett.* **2001**, 334, 112–118.
- [19] R. K. O. Sigel, E. Freisinger, B. Lippert, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2000**, 5, 287–299.