

# Supramolekulare Bioanorganik: Modellkomplexe für Cytochrom-c-Oxidasen auf funktionellen Oberflächen

Martin Bröring\*

**Stichwörter:**

Cytochrom-c-Oxidase · Enzymmodelle · Gold ·  
Oberflächenchemie · Sauerstoff

Ein seit Jahrzehnten verfolgter und noch immer höchst lebendiger Zweig der bioanorganischen Chemie ist das Design und die Untersuchung von Modellsubstanzen, die die aktiven Stellen von Enzymen funktionell und/oder strukturell nachempfinden.<sup>[1]</sup> Diese Verfahrensweise erscheint besonders erfolgversprechend, wenn das aktive Zentrum einen molekularen Cofaktor wie beispielsweise eine Hämgruppe oder ein anderes Bioporphyrinoid enthält. Tatsächlich sind bei Porphyrinkomplexen vier der maximal sechs Bindungsstellen des interessierenden Metallions bereits in kinetisch inerter Weise blockiert, sodass die chemische Reaktivität der untersuchten Spezies von vornherein an die gewünschte distale oder proximale Position gelenkt wird. Hinzu kommt die besonders bei Porphyrinen gut ausgebauten Möglichkeit zur funktionellen Strukturierung der zweiten Koordinationssphäre durch kovalent an das Ligandenrückgrat angebrachte Substituenten. Auf diese Weise gelingt es, einfache wie auch komplexe Mimikria von Proteintaschen zu erzeugen und Kontrolle über die untersuchte Reaktion zu gewinnen.<sup>[2]</sup> Die ersten Anwendungen dieser Strategie betrafen „Picket-Fence“-Porphyryne, die O<sub>2</sub> reversibel binden; diese Beispiele sind eng mit dem Beginn der bioanorganischen Chemie verknüpft und heute aus Lehrbüchern nicht mehr wegzudenken.<sup>[3]</sup> Die Strategie wurde auch außerhalb der Porphyrinchemie höchst erfolgreich angewendet.<sup>[1]</sup>

Eine besondere Herausforderung besteht im funktionellen Nachahmen biologischer Redoxprozesse, insbesondere wenn hierbei Sauerstoff oder partiell reduzierte Sauerstoffspezies (partially reduced oxygen species, PROS) eine Rolle spielen. Die biomimetische Sauerstoffchemie stellt den Experimentator vor zwei Hauptprobleme: Zum einen ist die Analyse von kurzzeitig stabilen Spezies, vor allem von Radikalen, und damit die Beantwortung der Frage nach der Zahl der am Katalysator übertragenen Elektronen, nicht immer einfach. Zum anderen reagieren gerade diese Radikale häufig unspezifisch mit den Modellsubstanzen und leiten deren oxidativen Abbau ein. Während die Funktion von Peroxi-

dasen und einfachen Oxygenasen als Zweielektronenprozesse noch relativ wenig Gefahr birgt und einigermaßen leicht nachzu vollziehen ist, stellen Mimikria der Vierelektronentransfer-Enzyme aus der Klasse der membrangebundenen Cytochrom-c-Oxidasen (CcO), mit denen die Zelle Sauerstoff in Wasser und biologisch nutzbare Energie umwandelt, Natur und Labor vor schwere Aufgaben.<sup>[4]</sup> Die Freisetzung partiell reduzierter, toxischer und membranschädigender Sauerstoffspezies wie insbesondere HO<sup>·</sup> und HO<sup>·</sup> muss hier um jeden Preis unterdrückt werden.

Die sauerstoffreduzierende Stelle von CcO besteht aus einer Häm-a<sub>3</sub>-Gruppe mit proximalem Histidin-Liganden und einem etwa 5 Å entfernten distalen Cu<sub>B</sub>-Zentrum mit einem posttranslational modifizierten Tyrosin-Rest (Tyr244, Abbildung 1). Formal entsteht dadurch eine O<sub>2</sub> bindende Tasche, die alle vier notwendigen Reduktionsäquivalente bereithalten kann. Tatsächlich zeigen elektrokatalytische Studien an Modellkomplexen, die diese drei Funktionalitäten in biomimetischer Anordnung enthalten (Fe/Cu/ArOH-Modell<sup>[5]</sup>), dass molekularer Sauerstoff bei physiologischen Po-

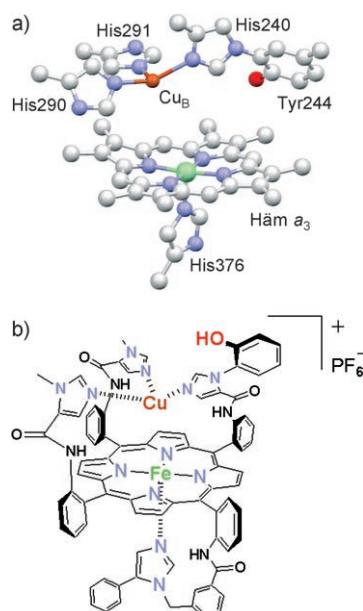


Abbildung 1. a) Strukturausschnitt der sauerstoffreduzierenden Stelle in Rinderherz-CcO;<sup>[5]</sup> b) synthetischer Fe/Cu/ArOH-Modellkomplex.<sup>[6]</sup>

[\*] Prof. Dr. M. Bröring  
Fachbereich Chemie  
Philipps-Universität Marburg  
Hans-Meerwein-Straße, 35032 Marburg (Deutschland)  
Fax: (+49) 6421-282-5653  
E-Mail: martin.broering@chemie.uni-marburg.de

tentialen und pH-Werten glatt und ohne detektierbare toxische Nebenprodukte einer Vierelektronenreduktion unterworfen wird. Der Befund scheint die oben getroffene Annahme zu stützen, wonach jede der drei Einheiten eine bestimmte Zahl von Reduktionsäquivalenten für die sehr schnelle und vollständige Reduktion von Sauerstoff bereitstellt, sodass die Dissoziation toxischer Intermediate kinetisch nicht konkurrieren kann. Untersuchungen an Teilmodellen, denen Cu<sub>B</sub> und/oder ArOH fehlen (Fe-only- bzw. Fe/Cu-Modelle), belegen jedoch, dass eine Vierelektronenreduktion auch mit einfacheren Systemen realisierbar ist.<sup>[7]</sup> Hier wird ein mangelhaftes Verständnis des Ablaufs der natürlichen Reaktion offenbar, insbesondere hinsichtlich der Frage nach der Rolle jeder einzelnen Komponente. Da das molekulare Design von CcO-Mimetika ausgereizt ist, kann diese Frage mit einem zwar hoch entwickelten, aber dennoch klassischen Modellkomplex allein kaum beantwortet werden.

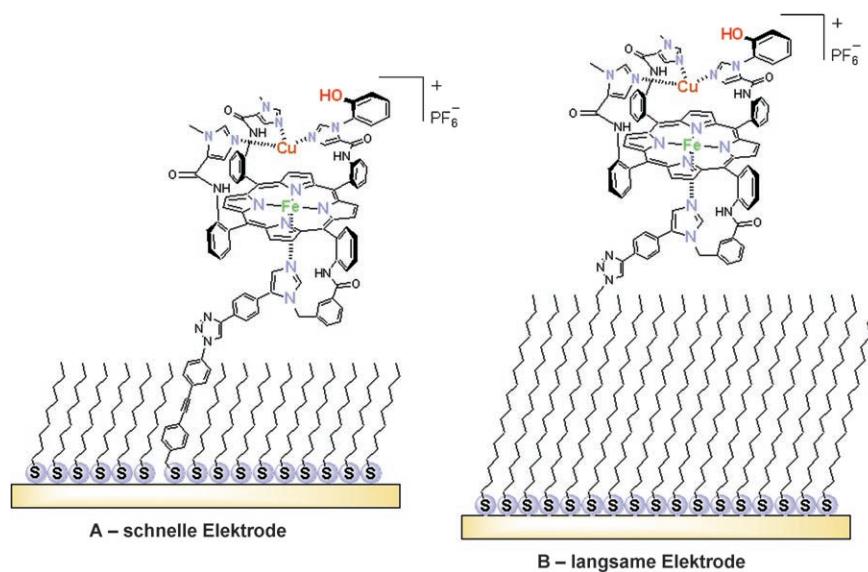
Ein offensichtlicher Unterschied zwischen der elektrokatalytischen Studie der Modellkomplexe auf einer Graphitscheibenelektrode und der biologischen Aktivität eines Membranproteins liegt in der Geschwindigkeit, mit der die Reduktionsäquivalente auf den Katalysator gebracht werden. Anders als auf einer Elektrodenoberfläche, wo Elektronen in großem Überschuss sehr schnell verfügbar sind, werden die Elektronen bei CcO einzeln durch das lösliche Cytochrom c an das Membranprotein transportiert und erst dort über eine Reihe von Cofaktoren an die aktive Stelle geleitet. Potenziell wird hierdurch die Verweilzeit von O<sub>2</sub> und Folgeprodukten an der Fe/Cu/Tyr\*-Stelle drastisch erhöht, und die Wahrscheinlichkeit der Freisetzung von PROS steigt (was die Natur aber vermeiden kann!).

Hier setzt die jüngste Arbeit von Collman, Chidsey et al. an.<sup>[8]</sup> Mithilfe gezielt funktionalisierter Goldoberflächen, an die CcO-Modellkomplexe über Linker kovalent angeheftet wurden, konnten sie Szenarien mit unterschiedlich schnellem Elektronentransfer nachstellen. Abbildung 2 gibt schematisch den Aufbau solcher Oberflächen wieder. Die Modell-

komplexe zeigen auf Oberfläche A (schneller Elektronentransfer durch den Diaryl-Linker) ein Verhalten analog dem in den früheren Studien auf Graphit und gewinnen trotz zunehmender Komplexität in der Reihe Fe-only < Fe/Cu < Fe/Cu/ArOH nur wenig Selektivität für den Vierlektronenprozess. Auf der langsamen Oberfläche B mit reinen Alkylthiolat-Linkern hingegen spreizt das Spektrum stark auf. Bis zu 96 % Selektivität auf der Seite des Fe/Cu/ArOH-Systems stehen dem raschen und vollständigen Katalysatorabbau auf der Seite des Fe-only-Komplexes gegenüber. In erstaunlicher Klarheit ergibt sich hieraus, dass das Zusammenspiel der drei Unterstrukturen bei langsamem Elektronenfluss eine fein abgestimmte Schutzfunktion für Katalysator und Umgebung darstellt.

Mit einer Selektivität von 96 % ist das funktionelle Modellieren von CcO allerdings noch nicht am Ende. Das natürliche System muss mehr als 99 % Selektivität aufweisen, um die eigene Zersetzung zu vermeiden.<sup>[9]</sup> Im Nachsatz beschreiben die Autoren, wie die Umgebung (polare Goldthiolat-Wasser-Grenzfläche einerseits, unpolare Protein-Membran-Matrix andererseits) sowie die nur im Enzym beobachtete Kooperativität der Reduktion von Eisen- und Kupferion die Selektivität beeinflussen. Eine Lösung für das Polaritätsproblem wird skizziert, während die Nachahmung eines kooperativen Verhaltens ein lange bekanntes Problem bioanorganischer Modellkomplexe darstellt. Hier könnten zukünftige Entwicklungen eine Lösung bringen.

Die allgemeine Anwendbarkeit des Ansatzes in dieser Arbeit, die durch die Entwicklung reproduzierbarer SAMs auf rotierenden Gold-Scheibenelektroden und die Katalysator-Anheftung durch die schonende Klick-Methode<sup>[10]</sup> sichergestellt wurde, lässt Folgearbeiten auch bei anderen, bislang wenig zugänglichen Mehrelektronenprozessen vorausahnen. Funktionelle supramolekulare Anordnungen von biomimetischen Modellkomplexen wie das hier vorgestellten System oder auch die schon seit einigen Jahren bekannten künstlichen photosynthetischen Membranen von Gust



**Abbildung 2.** Schnelle und langsame Goldthiolat-Elektroden mit einem kovalent angebundenen Fe/Cu/ArOH-Modellkomplex.

et al.<sup>[11]</sup> erscheinen für die bioanorganische Chemie als zukunftsweisende Konstrukte. Sie bieten eine vielversprechende Möglichkeit, zu einem besseren Verständnis natürlicher Prozesse zu gelangen, und berücksichtigen dabei auch die Funktion(en) der biogenen Matrix auf angemessene, und vielleicht noch wichtiger, vorhersagbare Weise.

Online veröffentlicht am 16. Juli 2007

- 
- [1] a) Themenheft: *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 347–1200; b) *Concepts and Models in Bioinorganic Chemistry* (Hrsg.: H.-B. Kraatz, N. Metzler-Nolte), Wiley-VCH, Weinheim, **2006**.
  - [2] J. P. Collman, R. Boulatov, C. J. Sunderland, L. Fu, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 561–588.
  - [3] M. Momenteau, C. A. Reed, *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 659–698.
  - [4] E. Kim, E. E. Chufán, K. Kamaraj, K. D. Karlin, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 1077–1134.
  - [5] S. Yoshikawa, K. Shinzawa-Itoh, R. Nakashima, R. Yaono, E. Yamashita, N. Inoue, M. Yao, M. J. Fei, C. P. Libeu, T. Mizushima, H. Yamaguchi, T. Tomizaki, T. Tsukihara, *Science* **1998**, *280*, 1723–1729.
  - [6] J. P. Collman, R. A. Decréau, Y. Yan, J. Yoon, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5794–5795.
  - [7] J. P. Collman, M. Rapta, M. Bröring, L. Raptova, R. Schwenninger, B. Boitrel, L. Fu, M. L'Her, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1387–1388.
  - [8] J. P. Collman, N. K. Devaraj, R. A. Decréau, Y. Yang, Y. Yan, W. Ebina, T. A. Eberspacher, C. E. D. Chidsey, *Science* **2007**, *315*, 1565–1568.
  - [9] G. T. Babcock, M. Wikström, *Nature* **1992**, *356*, 301–309.
  - [10] a) V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 2708–2711; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596–2599; b) C. W. Tornoe, C. Christensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057–3064.
  - [11] a) G. Steinberg-Yfrach, P. A. Liddell, S.-C. Hung, A. L. Moore, D. Gust, T. A. Moore, *Nature* **1997**, *385*, 239–241; b) G. Steinberg-Yfrach, J.-L. Rigaud, A. L. Moore, D. Gust, T. A. Moore, *Nature* **1998**, *392*, 479–482.