

Spaltung von Quecksilber-Alkyl-Bindungen nach dem Vorbild der Organoquecksilber-Lyase

Henry Strasdeit*

Enzymmodelle · Koordinationschemie · Quecksilber · S-Liganden · Spaltungsreaktionen

Ein Enzym, dessen Substrate metallorganische Spezies sind, kann man mit Recht als ungewöhnlich bezeichnen. Sein Mechanismus lässt Besonderheiten erwarten, die eine Nachahmung in synthetischen Systemen schwierig machen. Ein solches Enzym ist die Organoquecksilber-Lyase (auch als MerB bezeichnet), für die kürzlich funktionelle Modelle in Form von Metallkomplexen vorgestellt wurden.^[1]

Um die neuen Arbeiten einordnen zu können, ist es hilfreich, zunächst den globalen Kreislauf des Elementes Quecksilber zu betrachten. Er besteht aus zahlreichen abiotischen und biotischen Einzelprozessen. Zu den letzteren gehört die Biomethylierung von Hg^{2+} durch Sulfat reduzierende Bakterien in anaeroben marinen Sedimenten. Dabei wird das Methylquecksilber-Kation, kurz „Methylquecksilber“, gebildet. Das Methylquecksilber gelangt über das Plankton in die Nahrungskette, in deren Verlauf es um das ca. 10^6 -fache angereichert wird. Diese extreme Bioakkumulation führt dazu, dass am Ende der Nahrungskette, z.B. in Haien, Konzentrationen bis zu 4 ppm gefunden werden. Auch der Mensch kann davon unmittelbar betroffen sein, da Methylquecksilber stark neurotoxisch wirkt. Unter ungünstigen Umständen ist eine Gesundheitsgefährdung durch den Verzehr von Meeresfischen nicht auszuschließen.^[2] Im globalen Quecksilberkreislauf gibt es aber auch die „Rückreaktion“, d.h. die Demethylierung von Methylquecksilber. Viele Bakterien besitzen das Enzym dafür, nämlich das oben erwähnte MerB. Zusammen mit der Quecksilber(II)-Reduktase (MerA) verleiht es diesen Bakterien die so genannte Breitband-Resistenz gegen Quecksilberverbindungen: Sowohl Methylquecksilber als auch Hg^{2+} werden letztlich in metallisches Quecksilber überführt, das aus der Bakterienzelle herausdiffundiert [Gl. (1)].^[3]



Die von MerB katalysierte Bindungsspaltung ist eine Protonolysereaktion. Das Enzym kann zahlreiche Alkyl- und Arylquecksilberverbindungen in Hg^{2+} und den jeweiligen

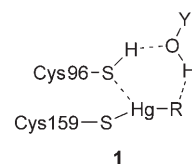
Kohlenwasserstoff überführen [Gl. (2)]. Bei dem Protonen-



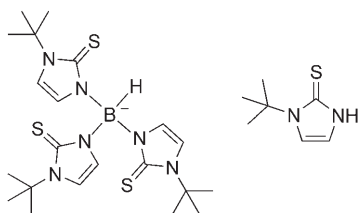
donor HA dürfte es sich um eine Aminosäureseitenkette im aktiven Zentrum des Enzyms handeln (siehe unten). Die dreidimensionale Struktur von MerB konnte in Lösung NMR-spektroskopisch bestimmt werden.^[4] Dabei wurden flexible Bereiche im aktiven Zentrum und eine benachbarte, relativ große hydrophobe Tasche, die den Kohlenwasserstoff-Rest des Substrats aufnehmen könnte, gefunden. Beides trägt vermutlich zu der breiten Substratspezifität bei. In geringem Maße setzt das Enzym auch bestimmte Organozinnverbindungen um. Primäres Substrat ist jedoch das natürlich vorkommende Methylquecksilber. Dessen Hg-C-Bindung ist kinetisch außerordentlich stabil – so findet selbst in konzentrierten starken Brønsted-Säuren bei Raumtemperatur kaum eine Spaltung statt. Will man im Labormaßstab Methylquecksilber vernichten, greift man stattdessen zu starken Oxidationsmitteln wie Königswasser.^[5] Vor diesem Hintergrund ist die Leistung von MerB, nämlich eine 10^6 - bis 10^7 -fache Beschleunigung gegenüber der chemischen Protonolyse, erstaunlich.

Der Mechanismus, der dies ermöglicht, ist noch nicht im Detail bekannt; man weiß jedoch, dass die beiden Cysteingruppen Cys96 und Cys159 (Zählung wie im MerB des Plasmids R831b) für die Enzymaktivität essenziell sind.^[6] Für den Schlüsselschritt der Protonierung wurde daher unter anderem die Möglichkeit **1** vorgeschlagen.^[7] Bei der Gruppe Y-O-H könnte es sich um das Tyrosin Tyr93 handeln. Es ist allerdings noch ungeklärt, welche Aminosäure tatsächlich als Protonendonator fungiert. Hier gibt es außer Tyr93 noch andere Kandidaten, z.B. Cys160.

Hg-C-Bindungen werden durch eine Erhöhung der Koordinationszahl des Hg-Atoms aktiviert (siehe unten). Diese Erkenntnis ist in den Vorschlag **1** eingeflossen und war auch Ausgangspunkt für die aktuelle Arbeit von Melnick und Parkin.^[1] Die Autoren haben den potenziell dreizähligen Schwefelliganden $\text{Tris}(1\text{-tert-butyl-2,3-dihydroimidazol-2-thion-1-yl})\text{hydridoborat}$, $(\text{Tm}^{\text{tBu}})^-$, (Schema 1) eingesetzt^[8] und damit die Alkylquecksilberkomplexe $[(\text{Tm}^{\text{tBu}})\text{HgMe}]$, $[(\text{Tm}^{\text{tBu}})\text{HgEt}]$ und $[(\text{Tm}^{\text{tBu}})\text{HgCH}_2\text{CN}]$ synthetisiert. Kris-

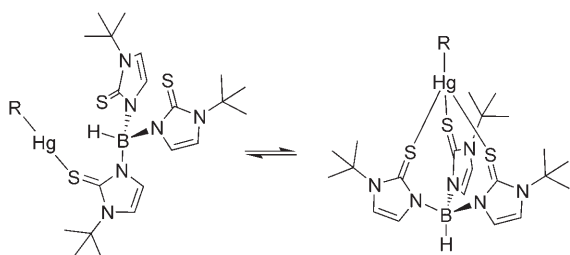


[*] Prof. Dr. H. Strasdeit
Institut für Chemie
Universität Hohenheim
Garbenstraße 30, 70599 Stuttgart (Deutschland)
Fax: (+49) 711-459-23950
E-Mail: h-strasdeit@uni-hohenheim.de
Homepage: <http://www.uni-hohenheim.de/bac>



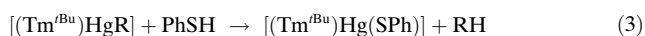
Schema 1. Strukturen der Liganden $(\text{Tm}^{\text{tBu}})^{-}$ (links) und Hmim^{tBu} (rechts).

tallstrukturanalysen zeigten, dass der Ligand im Methyl- und Ethylkomplex einzähnig (κ^1), im Cyanmethylkomplex dagegen dreizähnig (κ^3) koordiniert ist. Damit gehört $[(\text{Tm}^{\text{tBu}})\text{HgCH}_2\text{CN}]$ zu den wenigen bekannten pseudotetraedrischen Alkylquecksilberkomplexen. Weitere Beispiele sind der makrocyclische Thioetherkomplex $[(9)\text{aneS}_3]\text{HgMe}^{+}$ [7] und der Phosphankomplex $[\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{PPh}_2)_3]\text{HgMe}^{+}$. [9] ^1H -NMR-Spektren belegen, dass in Lösung bei -60°C auch der Methyl- und Ethylkomplex von $(\text{Tm}^{\text{tBu}})^{-}$ pseudotetraedrisch aufgebaut sind. Bei höheren Temperaturen fluktuieren die Komplexe zwischen der κ^1 - und der κ^3 -Form (Schema 2), wobei vermutlich das κ^2 -Isomer als Zwischenzustand auftritt.



Schema 2. Gleichgewicht zwischen der κ^1 - und der κ^3 -Form von $[(\text{Tm}^{\text{tBu}})\text{HgR}]$ ($\text{R} = \text{Me}, \text{Et}$).

Eines der entscheidenden Experimente war die Umsetzung von $[(\text{Tm}^{\text{tBu}})\text{HgR}]$ ($\text{R} = \text{Me}, \text{Et}$) mit Thiophenol in deuteriertem Benzol. Dabei zeigte sich, dass die Hg-C-Bindungsspaltung bei Raumtemperatur schon nach einem Tag praktisch quantitativ war [Gl. (3)]. Dieser Befund ist sehr

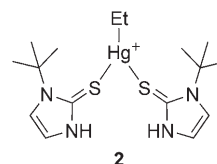


ungewöhnlich, weil sich Hg-Alkyl-Bindungen (anders als Hg-Aryl-Bindungen) durch Thiole üblicherweise nur äußerst schwer spalten lassen. [10] Die Reaktion (3) übertrifft die bisher besten Modellreaktionen für die bakterielle Hg-C-Spaltung. So ist die Reaktion von $[\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{PPh}_2)_3]\text{HgMe}^{+}$ mit Thiophenol ($\text{pK}_\text{s} = 6.6$) unter vergleichbaren Bedingungen unvollständig, [9] und zur Spaltung der Hg-C-Bindung in $[(9)\text{aneS}_3]\text{HgMe}^{+}$ bedarf es der sehr starken Trifluormethansulfonsäure ($\text{pK}_\text{s} \approx -13$). [7]

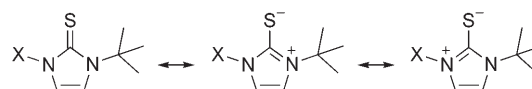
Die bisherigen Befunde lassen darauf schließen, dass es zu einer Aktivierung der Hg-C-Bindung kommt, wenn die Hg-Koordinationszahl den von Organoquecksilber-Verbindungen bevorzugten Wert von 2 übersteigt. Quantenchemische

Rechnungen weisen ebenfalls eindeutig in diese Richtung: Mit steigender Koordinationszahl sinkt die berechnete Aktivierungsbarriere für die Protonolyse drastisch. [7,11,12] Offensichtlich verstärkt eine höhere Koordinationszahl die Bindungspolarität ($\text{Hg}^{\delta+}-\text{C}^{\delta-}$), wodurch die Protonenübertragung auf die Alkylgruppe erleichtert wird. Die theoretischen Ergebnisse sind qualitativ in Einklang mit Experimenten, z. B. an Methylquecksilber-Thioetherkomplexen. Während $[(9)\text{aneS}_3]\text{HgMe}^{+}$ (KZ 4) mit Trifluormethansulfonsäure schon nach einer Stunde zu 25 % umgesetzt ist, zeigt $[(\text{Et}_2\text{S})\text{HgMe}^{+}]$ (KZ 2) auch nach einem Tag noch keine Veränderung. Melnick und Parkin konnten den Einfluss der Koordinationszahl aber noch unmittelbarer nachweisen. [11]

Dazu synthetisierten sie den Ethylquecksilberkomplex des Liganden 1-*tert*-Butyl-2,3-dihydroimidazol-2-thion, Hmim^{tBu} . Dieser Ligand repräsentiert das strukturelle Grundmotiv, das im größeren Liganden $(\text{Tm}^{\text{tBu}})^{-}$ dreimal auftritt (Schema 1). Im Komplex $[(\text{Hmim}^{\text{tBu}})\text{HgEt}]^{+}$ ist das Quecksilberatom linear koordiniert. Erwartungsgemäß ist demnach die Reaktion mit Thiophenol langsam. Bei Raumtemperatur lässt sich auch nach zwei Tagen noch kein Ethan nachweisen; für die vollständige Umsetzung sind zehn Tage bei 60°C nötig. Wird jedoch neben Thiophenol weiterer Hmim^{tBu} -Ligand zugegeben, so ist bereits nach zwei Tagen bei Raumtemperatur die Bildung von Ethan vollständig! Ursache dafür ist die Entstehung des Komplexes $[(\text{Hmim}^{\text{tBu}})_2\text{HgEt}]^{+}$ (2), in dem das Metallzentrum dreifach koordiniert ist. Zum Nachweis der Existenz von 2 wurden die Komplexe $[(\text{Hmim}^{\text{tBu}})\text{HgR}]^{+}$ ($\text{R} = \text{Me}, \text{Et}$) mit Hmim^{tBu} titriert und die Titrations ^1H -NMR-spektroskopisch verfolgt. Im Verlauf der Titration verschoben sich die Signale von Hmim^{tBu} und der Alkylgruppe, während Signale von nicht-koordiniertem Hmim^{tBu} fehlten. Daraus konnte auf eine schnelle reversible Koordination des zusätzlichen Hmim^{tBu} geschlossen werden.



Die in Lit. [1] vorgestellten Arbeiten können als Durchbruch bei der Suche nach funktionellen Modellen für die Organoquecksilber-Lyase gelten. Wahrscheinlich sind die beschriebenen Komplexe bis zu einem gewissen Grad auch als strukturelle Modelle anzusehen. Im Enzym kommt Cysteingruppen, also Thiole, eine Schlüsselrolle zu (vgl. 1). Tatsächlich haben die Schwefelatome der Modell-Liganden $(\text{Tm}^{\text{tBu}})^{-}$ und Hmim^{tBu} außer Thioketon- auch Thiolat-Charakter (Schema 3). Es kann jetzt kein Zweifel mehr bestehen, dass die Erhöhung der Quecksilberkoordinationszahl ein allgemeines Prinzip ist, um Quecksilber-Alkyl-Bindungen für die Protonolyse zu aktivieren. Warum sollte die Organoquecksilber-Lyase nicht ebenfalls dieses Prinzip nutzen? Über den reinen Erkenntnisgewinn hinaus sind auch prakti-



Schema 3. Resonanzstrukturen von $(\text{Tm}^{\text{tBu}})^{-}$ ($\text{X} = \text{BH}(\text{mim}^{\text{tBu}})_2$) und Hmim^{tBu} ($\text{X} = \text{H}$).

sche Anwendungsmöglichkeiten für die synthetischen Modelle vorstellbar: So könnten Liganden auf Hmim^{tBu} -Basis an unlöslichen festen Trägern, wie vernetzten Polymeren, verankert werden, um sie zur Entgiftung von Methylquecksilber-belasteten Abwässern zu nutzen. Der industrielle Einsatz Quecksilber-resistenter Bakterien wird heute bereits praktiziert.^[3] Auch wurden transgene Pflanzen erzeugt, die MerB (allein oder zusammen mit MerA) exprimieren.^[13,14] Mit ihrer Hilfe ließe sich Methylquecksilber aus kontaminierten Böden entfernen. Die Befunde von Melnick und Parkin könnten hilfreich dabei sein, die katalytischen Eigenschaften von MerB gezielt für derartige Anwendungen zu verbessern.^[15] Schließlich bleibt noch die interessante Frage, ob $(\text{Tm}^{\text{tBu}})^-$ und ähnliche Liganden auch die Protonolyse hoch toxischer Alkylzinnverbindungen ermöglichen. Die Leistungen des Enzyms sind in dieser Hinsicht nur mäßig.

Online veröffentlicht am 23. November 2007

[1] J. G. Melnick, G. Parkin, *Science* **2007**, 317, 225–227.

[2] T. W. Clarkson, L. Magos, *Crit. Rev. Toxicol.* **2006**, 36, 609–662.

- [3] T. Barkay, S. M. Miller, A. O. Summers, *FEMS Microbiol. Rev.* **2003**, 27, 355–384.
- [4] P. Di Lello, G. C. Benison, H. Valafar, K. E. Pitts, A. O. Summers, P. Legault, J. G. Omichinski, *Biochemistry* **2004**, 43, 8322–8332.
- [5] H. Strasdeit, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1998**, 46, 846–848.
- [6] K. E. Pitts, A. O. Summers, *Biochemistry* **2002**, 41, 10287–10296.
- [7] M. Wilhelm, S. Deeken, E. Berssen, W. Saak, A. Lützen, R. Koch, H. Strasdeit, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2004**, 2301–2312.
- [8] In Lit. [1] wird der Ligand $(\text{Tm}^{\text{tBu}})^-$ als Tris(2-mercapto-1-tert-butylimidazolyl)hydroborat bezeichnet.
- [9] P. Barbaro, F. Cecconi, C. A. Ghilardi, S. Midollini, A. Orlandini, A. Vacca, *Inorg. Chem.* **1994**, 33, 6163–6170.
- [10] H. Strasdeit, A. von Döllen, W. Saak, M. Wilhelm, *Angew. Chem.* **2000**, 112, 803–805; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 784–786.
- [11] B. Ni, J. R. Kramer, R. A. Bell, N. H. Werstiuk, *J. Phys. Chem. A* **2006**, 110, 9451–9458.
- [12] V. Barone, A. Bencini, F. Totti, M. G. Uytterhoeven, *J. Phys. Chem.* **1995**, 99, 12743–12750.
- [13] S. P. Bizily, C. L. Rugh, A. O. Summers, R. B. Meagher, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, 96, 6808–6813.
- [14] S. P. Bizily, C. L. Rugh, R. B. Meagher, *Nat. Biotechnol.* **2000**, 18, 213–217.
- [15] J. G. Omichinski, *Science* **2007**, 317, 205–206.