

Biomimetische Trispyrazolylborat-Eisen-Komplexe

Nicolai Burzlaff*

Bioanorganische Chemie · Eisen · Ketone ·

Oxygenierungen · Sauerstoffaktivierung

Viele einkernige Eisenoxygenasen weisen ein gemeinsames Metall bindendes Motiv auf: die faciale 2-His-1-Carboxylat-Triade.^[1] Die größte Gruppe unter diesen Enzymen bilden dabei die α -Ketoglutarat(α -KG)-abhängigen Eisenenzyme. Bei ihnen binden die beiden Histidin-Reste und ein Asparagin- oder Glutaminsäure-Rest der Triade ein Fe^{II} -Ion, an das vor einer Reaktion mit O_2 neben einem Wassermolekül zusätzlich α -Ketoglutarat als Cosubstrat κ^2 -O,O'-koordiniert ist.^[1] Sauerstoff generiert daraus unter CO_2 -Abspaltung und Succinat-Bildung eine $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ -Zwischenstufe, die in der Lage ist, verschiedene Substrate zu oxidieren.^[1] Für das am besten untersuchte α -Ketoglutarat-abhängige Eisenenzym, die Taurin-Dioxygenase (TauD),^[1,2] konnte die Bildung eines High-Spin- $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ -Intermediats nachgewiesen werden.^[2b]

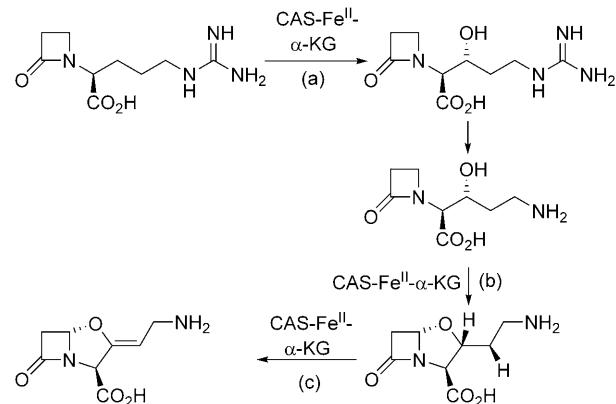
α -KG-abhängige Enzyme sind an einer Vielzahl von biologisch und physiologisch relevanten Reaktionen beteiligt, z.B. der Modifizierung von Collagen, dem Aufbau von Antibiotika, β -Lactamase-Inhibitoren und Pflanzenfarbstoffen, der Demethylierung und Reparatur von DNA sowie der Sauerstofferkennung und der Erythropoetin(EPO)-Regulation.^[1]

Die Reaktivität der α -Ketoglutarat-abhängigen Eisenenzyme lässt sich dabei in drei Kategorien einteilen: Spaltung einer aliphatischen CH-Bindung mit a) anschließender Hydroxylierung mithilfe eines Radical-rebound-Prozesses (d.h. einer Radikalrekonversion des Substratradikals mit dem Hydroxylradikal), b) radikalischem Ringschluss oder radikalischer Ringerweiterung oder c) Dehydrierung. Alle drei Reaktionstypen lassen sich am Beispiel der Clavaminat-Synthase (CAS) beobachten, die bei der Biosynthese der Clavaminsäure substratspezifisch sowohl eine Hydroxylierung, eine Ringschlussreaktion wie auch eine Dehydrierung katalysiert (Schema 1).^[3]

Seit mehr als 15 Jahren werden nun einkernige Trispyrazolylborat-Komplexe als Modelle für diese Eisenoxygenasen eingesetzt, wobei die Pyrazol-Donoren die Imidazol-Gruppen der 2-His-1-Carboxylat-Triade nachahmen. Bisher zeigten mit $[\text{Fe}(\text{Tp}^{\text{Me}^2})(\text{BF})]$ und $[\text{Fe}(\text{Tp}^{\text{Ph}^2})(\text{BF})]$ (**1**) nur wenige dieser Systeme Aktivität als funktionelle Modelle.^[4-8]

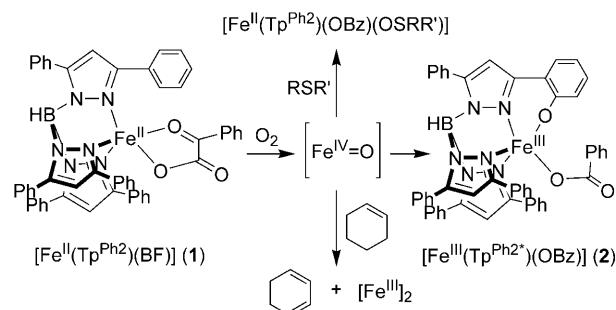
[*] Prof. Dr. N. Burzlaff

Department für Chemie und Pharmazie und
Interdisciplinary Centre for Molecular Materials
Universität Erlangen-Nürnberg
Egerlandstraße 1, 91058 Erlangen (Deutschland)
Fax: (+49) 9131-852-7387
E-Mail: burzlaff@chemie.uni-erlangen.de



Schema 1. CAS-katalysierte Schritte der Clavaminsäure-Biosynthese.
a)–c) siehe Text.

Bereits 1995 konnten Valentine und Mitarbeiter aus $[\text{Fe}(\text{Tp}^{\text{Me}^2})(\text{BF})]$ und O_2 *in situ* ein Oxidans erhalten, mit dem es gelingt, *cis*-Stilben zu epoxidieren.^[5] Der analoge Komplex $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{Tp}^{\text{3}^{\text{Bu}},\text{5}^{\text{Pr}}})(\text{BF})]$ erwies sich dagegen laut Hikichi et al., wohl wegen der starken sterischen Hinderung, als unreaktiv.^[6] Die Hinderung scheint beim Komplex $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{Tp}^{\text{Ph}^2})(\text{BF})]$ (**1**) geringer auszufallen, denn 1999 beobachteten Que und Mitarbeiter die Umwandlung von **1** binnen 1 h mit O_2 bei 25°C zu einem Komplex $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{Tp}^{\text{Ph}^2})(\text{OBz})]$ (**2**). Dies lässt sich durch eine oxidative Decarboxylierung unter Bildung einer $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ -Spezies und anschließende Hydroxylierung eines Phenyl-Substituenten des Tp^{Ph^2} -Liganden erklären (Schema 2).^[7] Eine analoge Reaktion zeigt auch der entsprechende Tp^{Ph^2} -Komplex mit Phenylpyruvat,^[8] das im Enzym 4-Hydroxyphenylpyruvat-Dioxygenase (4-HPPD) die Rolle von Substrat und Cosubstrat in einem übernimmt.^[9]



Schema 2. Reaktionen von **1** mit O_2 in Benzol bei 25°C .

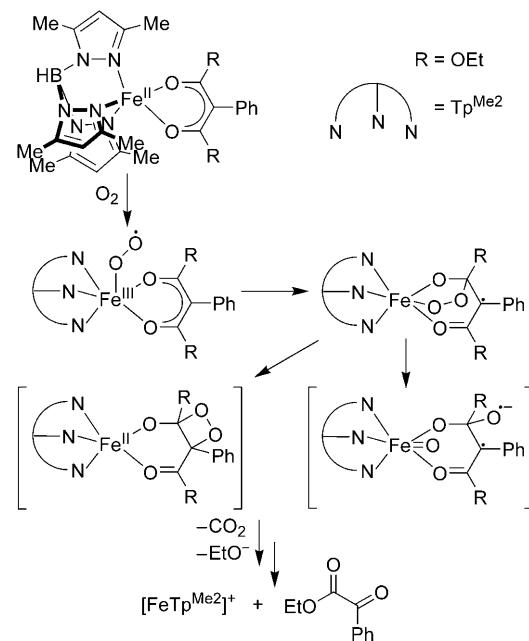
Die Reaktion von **1** mit O_2 wurde nun erneut von Que et al. aufgegriffen und durch Abfangreaktionen detaillierter untersucht.^[10] So konnte mit einem Überschuss an Thioanisol (MeSPh) die Bildung von Komplex **2** unterdrückt und die Reaktion zugunsten des Sulfoxid-Komplexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{Tp}^{\text{Ph}^2})\text{(OBz})(\text{OSMePh})]$ verschoben werden (Schema 2). Analoge Abfangreaktionen der $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ -Spezies z. B. als Sulfoxid wurden bereits von Baldwin et al. mit Proteinkristallographie für das Enzym Isopenicillin-N-Synthase (IPNS) nachgewiesen.^[11] Die Konzentration an MeSPh hat bei der Reaktion von **1** mit O_2 keinen signifikanten Einfluss auf die Reaktionszeit, was auf die Bildung der $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ -Spezies als geschwindigkeitsbestimmenden Schritt schließen lässt. Die Gegenwart ausreichender Mengen des Substrates MeSPh unterdrückt die Selbst-Hydroxylierung des biomimetischen Tp^{Ph^2} -Komplexes vollständig. Auch hier lässt sich eine Analogie zu den α -KG-abhängigen Eisenenzymen ziehen: Erst wenn das Substrat in die Enzymtasche eingebunden ist und dadurch das koordinierte Wassermolekül vom Fe^{II} -Zentrum verdrängt wurde, kann es zur Bildung der $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ -Spezies mit O_2 kommen. Das heißt, das Oxidans wird erst gebildet, wenn ausreichend Substrat zugegen ist, um eine Selbst-Hydroxylierung des Enzyms zu vermeiden.

Weitere Abfangreaktionen wurden mit 9,10-Dihydroanthracen (DHA), Fluoren, Cyclohexen, Toluol, Ethylbenzol, Diphenylmethan, Cyclopentan, Cyclooctan und Cyclohexan durchgeführt. DHA wie auch Cyclohexen waren in der Lage, 75–80 % des $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ -Oxidans abzufangen, wobei Anthracen bzw. Cyclohexadien gebildet wurde. Es liegt hier also eine Dehydrierung nach Kategorie (c) vor. Dabei bewirkt der Angriff des $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ -Oxidans z. B. im Falle von Cyclohexen zunächst die Bildung eines Cyclohexenyl-Radikals, das anschließend mit der resultierenden $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-OH}$ -Spezies das dehydrierte Produkt bildet.^[10] Der Erfolg der Abfangreaktion scheint hier weniger von der Stärke der zu spaltenden C-H-Bindung als von der Form des Substrates abzuhängen. Bisher dominierte die Hydroxylierung (a) bei biomimetischen Oxidationen von Kohlenwasserstoffen mit $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ -Spezies. Bei den Oxygenasen ist die Substrat-Hydroxylierung eine mit der Dehydrierung eng verwandte Transformation. Die Diskriminierung erfolgt üblicherweise über die Substratform und die Enzymtasche des aktiven Zentrums, wie beim obigen Beispiel CAS (Schema 1). Que et al. demonstrieren somit erstmals eine entsprechende Diskriminierung an einem biomimetischen Modell. Interessanterweise wurde keine Bildung von 2-Cyclohexenol oder 2-Cyclohexenon beobachtet (Schema 2). Dagegen zeigen die UV/Vis- und Mößbauer-spektroskopischen Daten als Nebenreaktion die Bildung eines zweikernigen $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-}\mu\text{-O-Fe}^{\text{III}}$ -Komplexes an, die sich aus der Reaktion des Produktes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{Tp}^{\text{Ph}^2})\text{(OBz)}]$ mit der $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ -Spezies erklären lässt.^[10]

Die Entwicklung längerlebiger $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ -Modelle, die einen High-Spin ($S=2$)-Zustand wie beim $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ -Intermediat der entsprechenden Enzyme aufweisen, war in den letzten Jahren ein unerreichtes Ziel der bioanorganischen Koordinationschemie. Auch im Fall der aus **1** gebildeten $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ -Spezies ist ein solcher High-Spin-Zustand noch nicht zweifelsfrei belegbar.^[10] Wie Que et al. nun aber in einer weiteren Veröffentlichung berichteten, gelingt dies mit dem vierzäh-

nigen tripodalen Liganden TMG_3tren .^[12] Ein entsprechendes $S=2$ -Oxoeisen(IV)-Komplexkation $[\text{Fe}^{\text{IV}}(\text{O})(\text{TMG}_3\text{tren})]^{2+}$ kann durch Reaktion von 2-(*tert*-Butylsulfonyl)iodosobenzol (*t*BuSO₂C₆H₄IO) mit $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{TMG}_3\text{tren})(\text{OTf})]\text{OTf}$ generiert werden und wurde durch Resonanz-Raman- und Mößbauer-Spektroskopie sowie EXAFS-Daten und begleitende DFT-Rechnungen nachgewiesen.^[12] Hierbei nutzen die Autoren die Tatsache, dass TMG_3tren durch seinen sterischen Anspruch intermolekulare Zersetzungssprozesse verhindert und in $[\text{Fe}^{\text{IV}}(\text{O})(\text{TMG}_3\text{tren})]^{2+}$ als trigonale Bipyramide mit lokaler C_{3v} -Symmetrie einen $S=2$ -Grundzustand herbeiführt, da die d_{xy} - und $d_{x^2-y^2}$ -Orbitale entartet sind.^[12] DFT-Rechnungen zur $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ -Spezies von TauD, die durch spektroskopische Daten gestützt werden, nehmen allerdings eine oktaedrische Koordination des Eisenzentrums in der $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ -Spezies mit κ^2 -koordiniertem Carboxylat-Donor an.^[2c] Dieser Koordinationsmodus sollte auch mit Heteroskopionat- und Skorpionat-Liganden wie Tp^{Ph^2} erreichbar sein.

Für die Acetylaceton-Dioxygenase, ein Enzym, für das eine Koordination des Fe^{II} -Cofaktors durch drei Histidin-Reste angenommen wird,^[13] konnten jüngst Limberg und Mitarbeiter ein strukturell sehr ähnliches, funktionelles Modell mit dem Tp^{Me^2} -Liganden erhalten (Schema 3).^[14] Der



Schema 3. Angenommener Mechanismus für die oxidative Spaltung von Diethylphenylmalonat.^[14]

Weg zum Erfolg war hier nicht eine Abfangreaktion, sondern der Einsatz von Diethylphenylmalonat als Substrat-Analagon.^[14] Mit O_2 werden hieraus Ethylbenzoylformiat und CO_2 gebildet, wobei die Reaktion sogar katalytisch verläuft. Die Autoren schlagen einen Reaktionsweg über ein Dioxetan oder eine O-O-Bindungsspaltung vor.

Die jüngsten Beispiele für biomimetische Trispyrazolylborat-Eisen-Komplexe zeigen, dass diese Chemie auch nach mehr als 15 Jahren noch immer für Überraschungen gut ist.

Der Nachweis der $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ -Spezies über Abfangreaktionen sowie die Verwendung substratalogener Verbindungen sind bisher vernachlässigte Ansätze im Bereich der biomimetischen Modelle. Es ist aussichtsreich, diese Konzepte in Zukunft auf Eisenkomplexe mit N,N,O-Liganden zu übertragen, welche die faciale 2-His-1-Carboxylat-Triade exakter nachbilden, z. B. sterisch anspruchsvolle Bis(pyrazol-1-yl)acetato- oder Bis(imidazol-2-yl)propionato-Liganden.^[1a,d]

Eingegangen am 29. Januar 2009

Online veröffentlicht am 5. Juni 2009

- [1] a) M. Costas, M. P. Mehn, M. P. Jensen, L. Que, Jr., *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 939; b) R. P. Hausinger, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **2004**, *39*, 21; c) C. Krebs, D. G. Fujimori, C. T. Walsh, J. M. Bollinger, Jr., *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 484; d) P. C. A. Bruijninx, G. van Koten, R. J. M. Klein Gebbink, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 2716; e) C. Loenarz, C. J. Schofield, *Nat. Chem. Biol.* **2008**, *4*, 152.
- [2] a) J. M. Elkins, M. J. Ryle, I. J. Clifton, J. C. Dunning Hotopp, J. S. Lloyd, N. I. Burzlaff, J. E. Baldwin, R. P. Hausinger, P. L. Roach, *Biochemistry* **2002**, *41*, 5185; b) J. C. Price, E. W. Barr, T. E. Glass, C. Krebs, J. M. Bollinger, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13008; c) S. Sinnecker, N. Svensen, E. W. Barr, S. Ye, J. M. Bollinger, Jr., F. Neese, C. Krebs, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6168.
- [3] a) Z. Zhang, J. Ren, D. K. Stammers, J. E. Baldwin, K. Harlos, C. J. Schofield, *Nat. Struct. Biol.* **2000**, *7*, 127; b) J. Zhou, W. L. Kelly, B. O. Bachmann, M. Gunsior, C. A. Townsend, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7388; c) Z. Zhang, J. Ren, K. Harlos, C. H. McKinnon, I. J. Clifton, C. J. Schofield, *FEBS Lett.* **2002**, *517*, 7.
- [4] Abkürzungen: BF = Benzoylformiat, Bz = Benzoyl, DHA = 9,10-Dihydroanthracen, OTf = CF_3SO_3^- , TauD = Taurin:α-Ketoglutarat-Dioxygenase, TMG₃tren = Tris(tetramethylguanidino)tren (tren = Tris(2-aminoethyl)amin), Tp^{Me^2} = Hydrotris(3,5-dimethylpyrazol-1-yl)borat, $\text{Tp}^{\text{3}^{\text{t}^{\text{Bu}}}\text{5}^{\text{i}^{\text{Pr}}}}$ = Hydrotris(3-*tert*-butyl-5-*iso*-propylpyrazol-1-yl)borat, Tp^{Ph^2} = Hydrotris(3,5-diphenylpyrazol-1-yl)borat.
- [5] E. H. Ha, R. Y. N. Ho, J. F. Kesiel, J. S. Valentine, *Inorg. Chem.* **1995**, *34*, 2265.
- [6] S. Hikichi, T. Ogihara, K. Fujisawa, N. Kitajima, M. Akita, Y. Moro-oka, *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 4539.
- [7] a) E. L. Hegg, R. Y. K. Ho, L. Que, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1972; b) M. P. Mehn, K. Fujisawa, E. L. Hegg, L. Que, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 7828.
- [8] T. K. Paine, H. Zheng, L. Que, Jr., *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 474.
- [9] K. Johnson-Winters, V. M. Purpero, M. Kavana, T. Nelson, G. R. Moran, *Biochemistry* **2003**, *42*, 2072.
- [10] A. Mukherjee, M. Martinho, E. L. Bominaar, E. Münck, L. Que, Jr., *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 1812; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 1780.
- [11] a) N. I. Burzlaff, P. J. Rutledge, I. J. Clifton, C. M. H. Hensgens, M. Pickford, R. M. Adlington, P. L. Roach, Sir J. E. Baldwin, *Nature* **1999**, *401*, 721; b) W. Ge, I. J. Clifton, J. E. Stock, R. M. Adlington, J. E. Baldwin, P. J. Rutledge, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 10096.
- [12] J. England, M. Martinho, E. R. Farquhar, J. R. Frisch, E. L. Bominaar, E. Münck, L. Que, Jr., *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 3676; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 3622.
- [13] a) G. D. Straganz, A. Glieder, L. Brecker, D. W. Ribbons, W. Steiner, *Biochem. J.* **2003**, *369*, 573; b) Protein Data Bank, <http://www.rcsb.org/pdb/>, Code 3bal.
- [14] I. Siewert, C. Limberg, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 8071; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 7953.