

Allosterische, Chelat- und interannuläre Kooperativität auf den Punkt gebracht

Gianfranco Ercolani* und Luca Schiaffino

Chelatwirkung · Kooperativität · Multivalenz ·
Selbstorganisation · Supramolekulare Chemie

1. Einleitung

Die Kooperativität ist ein Schlüsselmechanismus, der das Verhalten komplexer Molekülsysteme in der Biologie und der supramolekularen Chemie reguliert.^[1,2] Bei der Definition und der Einschätzung verschiedener Typen von Kooperativität sind aber grundlegende Probleme zu lösen, bevor die Erscheinung auch quantitativ verstanden werden kann.

Kürzlich skizzierten Whitty^[3] und Hunter und Anderson^[4] zwei Typen von Kooperativität, nämlich allosterische Kooperativität und Chelatkooperativität. Die erste entsteht durch das Zusammenspiel von zwei oder mehr bindenden intermolekularen Wechselwirkungen, z.B. beim Binden von Sauerstoff an Hämoglobin,^[5] und die zweite durch die Wirkung von einer oder mehreren bindenden intramolekularen Wechselwirkungen, also als Folge einer Chelatwirkung (Multivalenz). Die allosterische Kooperativität ist gut bekannt, weniger aber die Chelatkooperativität, für die einige Gesichtspunkte noch ungenügend ausgeleuchtet sind. Daher werden wir diese Chelatkooperativität hier eingehend analysieren und als Folge dieser Analyse einen dritten Typ von Kooperativität einführen, nämlich die interannuläre Kooperativität. Diese entsteht aus dem Zusammenspiel von zwei oder mehr bindenden intramolekularen Wechselwirkungen.

Ein System mit mehreren Wechselwirkungen ist kooperativ, wenn sich sein Verhalten als Ganzes von dem Verhalten unterscheidet, das aus den Eigenschaften der isolierten Einzelwechselwirkungen zu erwarten wäre. Zur schlüssigen Bewertung von Kooperativität wird hier ein dreistufiger Ansatz verwendet: 1) Auswertung der isolierten Einzelwechselwirkung („Referenz“);^[6] 2) Entwicklung eines Modells, bei dem jede Wechselwirkung des Systems unabhängig von den anderen ist, d.h. das System verhält sich wie die Referenz („nichtkooperatives Modell“); 3) Vergleich des realen Systems mit den Vorhersagen aus dem nichtkooperativen Modell; jede Abweichung, positiv wie auch negativ, des realen

Systems ist definitionsgemäß ein Zeichen von Kooperativität. Die drei Typen von Kooperativität sollen nun über diesen dreistufigen Ansatz analysiert werden.

2. Allosterische Kooperativität

Die allosterische (ortsübergreifende) Kooperativität ist die am besten verstandene Art von Kooperativität.^[2a,7] Deshalb behandeln wir nur den prototypischen Fall, bei dem ein einwertiger Ligand B an einen zweiwertigen Rezeptor AA bindet (Abbildung 1). An diesem Beispiel können die

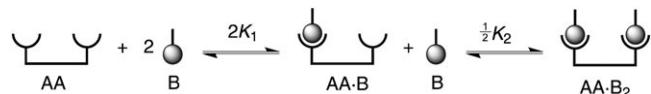


Abbildung 1. Binden eines einwertigen Liganden B an einen zweiwertigen Rezeptor AA.

Schritte zur Bewertung der Kooperativität gut verdeutlicht werden. Die Gleichgewichte in Abbildung 1 werden durch die beiden mikroskopischen Assoziationskonstanten K_1 und K_2 , multipliziert mit den statistischen Faktoren 2 bzw. $\frac{1}{2}$, beschrieben.^[8,9] Die Referenzkonstante K kann durch Untersuchung der Bindung des einwertigen Liganden B an ein einwertiges Modell des Rezeptors A bestimmt werden; alternativ dazu wird die Konstante K_1 direkt als Referenzkonstante verwendet. Ohne Kooperativität gilt einfach $K_2 = K_1 = K$. Die Kooperativität kann durch einen Wechselwirkungsparameter (oder Kooperativitätsfaktor) α quantifiziert werden, der als Verhältnis der experimentellen Gesamtkonstante $K_1 K_2$ zu der hypothetischen nichtkooperativen Gesamtkonstante K^2 definiert ist, $\alpha = K_1 K_2 / K^2$. Der Faktor α ist bei positiver Kooperativität größer als 1, bei Nichtkooperativität gleich 1 und bei negativer Kooperativität kleiner als 1. Es ist anzumerken, dass ein Kooperativitätsfaktor ein Verhältnis von zwei Gesamt-Gleichgewichtskonstanten mit der gleichen Maßeinheit ist; die Konstante im Zähler enthält die Einflüsse der kooperativen Wechselwirkungen, während die Konstante im Nenner die Referenz darstellt. Der Kooperativitätsfaktor kann als die Gleichgewichtskonstante der Umwandlung des hypothetischen Komplexes mit nichtwechselwirkenden Positionen (nichtkooperativ) in den Komplex mit wechselwir-

[*] Prof. G. Ercolani, Dr. L. Schiaffino

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Chimiche
Università di Roma Tor Vergata
Via della Ricerca Scientifica (Italien)
Fax: (+39) 0672594328
E-Mail: ercolani@uniroma2.it

Ergänzende Informationen zu diesem Essay sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/anie.201004201> verfügbar.

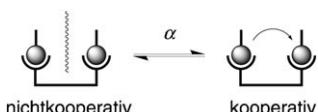


Abbildung 2. Ein Kooperativitätsfaktor kann als Gleichgewichtskonstante für die Umwandlung des hypothetischen Komplexes mit nicht-wechselwirkenden Stellen (nichtkooperativ) in den Komplex mit wechselwirkenden Stellen (kooperativ) angesehen werden.

kenden Positionen (kooperativ) angesehen werden (Abbildung 2). Die kooperative Wechselwirkung kann eine beliebige dafür mögliche Wechselwirkung sein (elektrostatisch, sterisch, konformativ usw.).

3. Chelatkooperativität

Zur Diskussion der Chelatkooperativität betrachten wir den einfachen Fall der Bindung eines zweiwertigen Liganden BB an einen zweiwertigen Rezeptor AA. Der Ligand sei in hohem Überschuss gegenüber dem Rezeptor vorhanden, sodass Komplexe mit mehr als einem Rezeptormolekül vernachlässigt werden können, und es gelte $\alpha = 1$, um eine allosterische Kooperativität auszuschließen (Abbildung 3). Unter

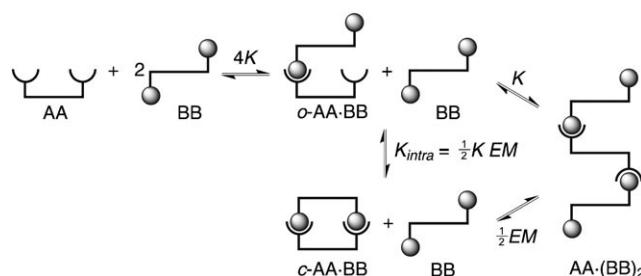


Abbildung 3. Binden eines zweiwertigen Liganden BB an einen zweiwertigen Rezeptor AA unter der Annahme, dass $[\text{BB}]_0 \gg [\text{AA}]_0$ und $\alpha = 1$.

diesen Bedingungen gibt es nur vier mögliche Zustände des Rezeptors: freies AA, den teilgebundenen, offenen 1:1-Komplex $o\text{-AA}\cdot\text{BB}$, den vollständig gebundenen, cyclischen 1:1-Komplex $c\text{-AA}\cdot\text{BB}$, und den 1:2-Komplex $\text{AA}\cdot(\text{BB})_2$. Die bindende intramolekulare Wechselwirkung K_{intra} wird durch



Gianfranco Ercolani promovierte 1979 an der Universität La Sapienza in Rom und ist aktuell Professor für organische Chemie an der Universität Tor Vergata in Rom. Seine allgemeinen Forschungsinteressen umfassen die physikalisch-organische Chemie, Computerchemie und supramolekulare Chemie, seine aktuelle Forschung behandelt die Mechanismen der Kooperativität, asymmetrische Katalyse und Chiralitätsverstärkung.

das Produkt $\frac{1}{2} K EM$ beschrieben. $\frac{1}{2}$ ist dabei der statistische Faktor für den Cyclisierungsvorgang,^[8,9] K ist die mikroskopische intermolekulare Konstante, die die Stärke der bindenden Wechselwirkung beschreibt, und EM ist die mikroskopische effektive Molarität (mit der Einheit mol L^{-1}),^[10,11] ein Parameter, der die Leichtigkeit des intramolekularen Vorgangs beschreibt. Abbildung 4 zeigt die Speziationprofile

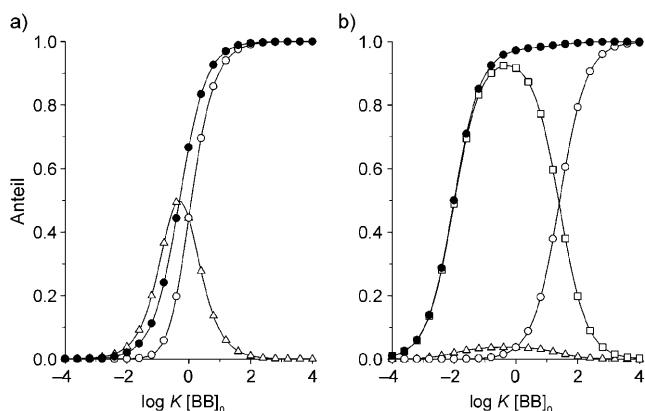


Abbildung 4. Speziationsprofile für die in Abbildung 3 gezeigten Gleichgewichte a) bei Fehlen der Chelatwechselwirkung ($K_{\text{intra}}=0$) und b) in Gegenwart der Chelatwechselwirkung, beispielsweise $K_{\text{intra}}=25$, entsprechend $KEM=50$. Die Konzentrationsskala auf der Abszisse ist durch Multiplikation mit K normalisiert. Die Symbole stellen Anteile dar: $o\text{-AA}\cdot\text{BB}$ (\triangle); $\text{AA}\cdot(\text{BB})_2$ (\circ); $c\text{-AA}\cdot\text{BB}$ (\square); Gesamtanteil der besetzten Bindungsstellen des Rezeptors AA (\bullet).

der in Abbildung 3 dargestellten Gleichgewichte ohne ($K_{\text{intra}}=0$) und mit Chelatwechselwirkung, beispielsweise mit $K_{\text{intra}}=25$. Analoge Darstellungen wurden von Hunter und Anderson veröffentlicht.^[4] Beim Vergleich von Abbildung 4b und Abbildung 4a ist zu sehen, dass die Chelatwechselwirkung zu einer starken Abnahme des teilgebundenen Intermediätkomplexes $o\text{-AA}\cdot\text{BB}$ zugunsten des vollständig gebundenen cyclischen Komplexes $c\text{-AA}\cdot\text{BB}$ führt. Dieses Merkmal kennzeichnet kooperative Systeme, in denen im Extremfall ein „Alles-oder-Nichts“-Vorgang abläuft, bei dem die intermediären Zustände völlig aufgebraucht werden. Nun tendiert hier zwar die Gesamtbindung zu einem „Alles-oder-Nichts“-Vorgang, das Speziationsprofil des Chelatkomplexes $c\text{-AA}\cdot\text{BB}$ ist aber glockenförmig, und dies weist darauf hin, dass der intramolekulare Vorgang eher als „Nichts-Alles-Nichts“ anzusehen ist. Dieses Verhalten liegt daran, dass bei niedrigen Konzentrationen der cyclische Komplex gegenüber dem nichtgebundenen Rezeptor benachteiligt ist, während bei hohen Konzentrationen der cyclische Komplex mit dem vollständig gebundenen, offenen 1:2-Komplex konkurriert muss. Tatsächlich hängt die Konzentration des cyclischen Komplexes linear von der Ligandenkonzentration ab [Gleichung (1)], während jene des vollständig gebundenen, offenen Komplexes vom Quadrat der Ligandenkonzentration abhängt [Gleichung (2)]; bei niedrigen Konzentrationen ist also der cyclische Komplex begünstigt, während bei höheren Konzentrationen der vollständig gebundene, offene Komplex gegenüber dem cyclischen überwiegt. Wenn die Ausdrücke auf der rechten Seite der Gleichungen (1) und (2) gleich groß

sind, wird Gleichung (3) erhalten, die die Ligandenkonzentration beschreibt, bei der es zum „Umschalten“ zwischen dem vollständig gebundenen, offenen Komplex und dem cyclischen Komplex kommt.

$$[c\text{-AA} \cdot \text{BB}] = 2K^2 EM[\text{AA}][\text{BB}] \quad (1)$$

$$[\text{AA}(\text{BB})_2] = 4K^2 [\text{AA}][\text{BB}]^2 \quad (2)$$

$$[\text{BB}]_{\text{Umschalten}} = EM/2 \quad (3)$$

EM ist hier die Grenzkonzentration der ligandenbindenden Gruppe B, über welcher der intramolekulare Vorgang bei der Konkurrenz mit dem intermolekularen unterliegt.^[10] Der Vorteil, der durch die Chelatwechselwirkung entsteht, verliert sich also bei hohen Konzentrationen. Daraus ist zu schließen, dass die Chelatkooperativität im Unterschied zur allosterischen Kooperativität von der Ligandenkonzentration abhängt.^[12,13] Dieser Umstand ist früher übersehen worden, was ein fehlerhaftes Bild der Chelatkooperativität zur Folge hatte. So wurde angenommen, die Chelatkooperativität würde sich zeigen, wenn die intramolekulare Konstante K_{intra} größer als $4K$ ist.^[3,14] Ein solcher Vergleich ist aber sinnlos, da die intramolekulare Konstante dimensionslos ist, während die intermolekulare Konstante in Einheiten von mol^{-1}L ausgedrückt wird.

Ähnlich haben manche Autoren für die Bindung eines zweiwertigen asymmetrischen Liganden AB an einen komplementären Rezeptor (Abbildung 5) angenommen, dass es

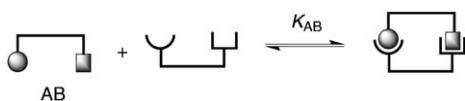


Abbildung 5. Binden eines zweiwertigen asymmetrischen Liganden AB an einen komplementären Rezeptor.

bei einer günstigeren freien Bindungsenergie der Spezies AB im Vergleich zu der Summe der freien Bindungsenergien der einzelnen Teile A und B zu einer positiven Kooperativität kommen würde.^[15,16] Das Fehlen von Chelatkooperativität würde bedeuten, dass die beobachteten Gibbs-Bindungsenergien der beiden Moleküle A und B in dem Molekül AB additiv sind, sodass $\Delta G_{\text{AB}}^0 = \Delta G_A^0 + \Delta G_B^0$ gilt. Jencks^[17] wies jedoch darauf hin, dass diese Annahme keine Grundlage hat: Das Addieren von Gibbs-Energien ist äquivalent mit der Multiplikation von Bindungskonstanten, und bei Messung von K_A , K_B und K_{AB} in mol^{-1}L ist die Gleichung $K_{\text{AB}} [\text{mol}^{-1}\text{L}] = K_A K_B [\text{mol}^{-1}\text{L}]^2$ sinnlos. Jencks wies auch darauf hin, dass der korrekte Ansatz für das Problem der Additivität von Bindungsenergien das Hinzufügen einer Gibbs-Verknüpfungsenergie ist, die der Veränderung der Bindungswahrscheinlichkeit entspricht, die aus der Verknüpfung von A und B in AB folgt. Diese Gibbs-Verknüpfungsenergie ist tatsächlich die mit der EM verbundene freie Energie, d.h. ΔG_{EM}^0 . Somit gilt $\Delta G_{\text{AB}}^0 = \Delta G_A^0 + \Delta G_B^0 + \Delta G_{EM}^0$, was bei Übersetzung in Bindungskonstanten die in ihren Dimensionen korrekte Gleichung $K_{\text{AB}} [\text{mol}^{-1}\text{L}] = K_A K_B EM [\text{mol}^{-1}\text{L}]$ ergibt.

Nach diesen Betrachtungen könnte man vielleicht annehmen, dass bei Fehlen von Chelatkooperativität $EM = 1 \text{ mol L}^{-1}$ gelten würde, während $EM > 1 \text{ mol L}^{-1}$ und $EM < 1 \text{ mol L}^{-1}$ positive bzw. negative Kooperativität anzeigen sollten. Diese Annahme ist aber widersprüchlich, denn die Einheit von EM ist die einer Konzentration, sodass ihr Zahlenwert von der Wahl des Standardzustands abhängt. Ein stimmiger Kooperativitätsfaktor, der das Verhältnis zweier Gleichgewichtskonstanten mit der gleichen Einheit darstellt, muss dimensionslos sein. Außerdem muss die Chelatkooperativität, wie zuvor dargelegt, von der Ligandenkonzentration abhängen und nicht nur von einem konstanten Parameter wie der EM .

Andere Autoren betrachteten das Produkt KEM als ein Maß der Chelatkooperativität.^[4] Auch dieser Schluss ist aus mehreren Gründen unrichtig: 1) Das Produkt KEM fällt, neben dem statistischen Faktor $\frac{1}{2}$, mit der Gleichgewichtskonstante der bindenden intramolekularen Wechselwirkung K_{intra} zusammen. Eine einzelne bindende Wechselwirkung kann aber kein Maß der Kooperativität sein, da Kooperativität definitionsgemäß eine kollektive Eigenschaft ist, die aus dem Wechselspiel von zwei oder mehr bindenden Wechselwirkungen resultiert. 2) Ein Kooperativitätsfaktor ist ein Verhältnis von zwei Gleichgewichtskonstanten, wobei die Konstante im Zähler die von der kooperativen Wechselwirkung beeinflusste Konstante ist, und die Konstante im Nenner die Referenz; das Produkt KEM erfüllt diese Bedingung offensichtlich nicht. 3) Chelatkooperativität muss von der Ligandenkonzentration abhängen, während KEM von der Ligandenkonzentration unabhängig ist. 4) Ein stimmiger Kooperativitätsfaktor muss bei Fehlen von Kooperativität dem Wert 1 zustreben, während KEM null zustrebt. Wir haben bereits früher dargelegt, dass das Produkt KEM mit der Maximalausbeute eines cyclischen oder multicyclischen Aggregats verbunden ist,^[10a] eine Beziehung, die keine Bedeutung für die Chelatkooperativität hat.

Was also ist der richtige Weg zur Einschätzung der Chelatkooperativität? Es gibt zwei verwandte, aber voneinander verschiedene Chelatkooperativitätsfaktoren. Der erste Faktor betrifft die Gesamtbindung (also die Summe von intermolekularer und intramolekularer Bindung) bezogen auf die intermolekulare Bindung, der zweite Faktor dagegen nur die intramolekulare Bindung bezogen auf die intermolekulare Bindung. In beiden Fällen wird die intermolekulare Bindung (Abbildung 3 mit $EM = 0 \text{ mol L}^{-1}$) als Referenz verwendet. Bei Fehlen von Chelatkooperativität ist die Gesamtkonstante für den vollständig gebundenen Rezeptor $4K^2$. Zur Beurteilung der Chelatkooperativität für die Gesamtbindung betrachten wir die Gesamtkonzentration des vollständig gesättigten Rezeptors C_{SR} , die durch Gleichung (4) gegeben ist.

$$C_{SR} = [\text{AA}(\text{BB})_2] + [c - \text{AA} \cdot \text{BB}] = [\text{AA}(\text{BB})_2] \left(1 + \frac{EM}{2[\text{BB}]} \right) \quad (4)$$

Anschließend betrachten wir die Gesamtkonstante bei vorhandener Chelatkooperativität, wie durch $4K K_{\text{app}}$ gegeben, wobei das durch Gleichung (5) definierte K_{app} die scheinbare Bildungskonstante des vollständig gesättigten Rezeptors aus dem teilgebundenen, offenen Komplex ist.

$$K_{\text{app}} = \frac{C_{\text{SR}}}{[o - AA \cdot BB][BB]} = K \left(1 + \frac{EM}{2[BB]} \right) \quad (5)$$

Der Kooperativitätsfaktor β' für die Gesamtbinding ist durch das Verhältnis der Gesamtkonstante $4KK_{\text{app}}$ bei vorhandener Chelatwechselwirkung zu der Referenzkonstante $4K^2$ gegeben [Gl. (6)].

$$\beta' = 1 + \frac{EM}{2[BB]} \quad (6)$$

Der Faktor β' erfüllt alle Bedingungen für einen Chelatkooperativitätsfaktor: Er ist aus einem Verhältnis von zwei Gleichgewichtskonstanten mit der gleichen Einheit abgeleitet, er hängt von der Ligandenkonzentration ab und er strebt beim Fehlen von Chelatkooperativität dem Wert 1 zu, wenn also entweder die EM null oder die Ligandenkonzentration unendlich zustrebt. Der Faktor β' ist niemals kleiner als 1, sodass die Chelatkooperativität hinsichtlich der Gesamtbinding nur positiv sein kann. Der Umstand, dass β' bei niedrigen Ligandenkonzentrationen größer ist, hängt davon ab, dass die Stabilität des cyclischen 1:1-Komplexes $c\text{-AA}\cdot\text{BB}$ im Vergleich zu dem vollständig gebundenen 1:2-Komplex $\text{AA}\cdot(\text{BB})_2$ mit zunehmender Verdünnung zunimmt.

Der Ausdruck $EM/2[BB]$ auf der rechten Seite der Gleichung (6) ist der Beitrag des intramolekularen Vorgangs zu dem Kooperativitätsfaktor β' . Der Kooperativitätsfaktor β gibt die intramolekulare Bindung allein in Bezug auf die intermolekulare Bindung wieder [Gl. (7)].

$$\beta = \frac{EM}{2[BB]} \quad (7)$$

Der Faktor β stellt auch die scheinbare Gleichgewichtskonstante für die Umwandlung des Komplexes $\text{AA}\cdot(\text{BB})_2$ in den cyclischen Komplex $c\text{-AA}\cdot\text{BB}$ dar (Abbildung 6). Der

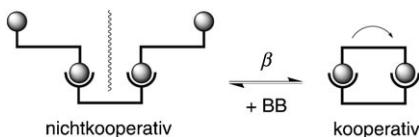


Abbildung 6. Der Kooperativitätsfaktor β stellt die scheinbare Gleichgewichtskonstante (abhängig von der Ligandenkonzentration) für die Umwandlung des Komplexes $\text{AA}\cdot(\text{BB})_2$ (nichtkooperativ) in den Chelatkomplex $c\text{-AA}\cdot\text{BB}$ (kooperativ) dar.

Wert von β hängt von der Ligandenkonzentration ab: Wenn die Konzentration des zweiwertigen Liganden $EM/2$ beträgt, ist die Chelatwechselwirkung nichtkooperativ ($\beta = 1$). Positive und negative Chelatkooperativitäten erfordern $[BB] < EM/2$ (d.h., $\beta > 1$) bzw. $[BB] > EM/2$ (d.h., $\beta < 1$). Je höher der Wert von EM ist, desto breiter ist der Konzentrationsbereich, über den die Chelatwirkung positiv kooperativ ist. Wie in Abbildung 4b dargestellt, zerfällt der anfangs intakte cyclische Komplex bei zunehmender Ligandenkonzentration. Dieser Zerfallsvorgang folgt aus der Abnahme der Chelatkooperativität, die bei $[BB] = EM/2$ von positiver zu negativer Kooperativität wechselt.

Diese Ergebnisse können auf die Bindung eines n -wertigen Liganden "B" an einen n -wertigen Rezeptor "A" erweitert werden, wobei ein multicyclischer 1:1-Komplex $c\text{-}^n\text{A}\cdot^n\text{B}$ entsteht, dessen konstituierende Ringe identische Struktur aufweisen, sodass auch ihre EM -Werte identisch sind. Es sei angenommen, dass der Ligand in hohem Überschuss bezogen auf den Rezeptor vorhanden ist und dass $\alpha = 1$ gilt. Aufgrund der Chelatkooperativität können wir das Vorhandensein von Intermediatzuständen vernachlässigen und nur die nichtgebundenen und die vollständig gebundenen Spezies betrachten (Abbildung 7a). Zur Veranschaulichung zeigt Abbildung 7b

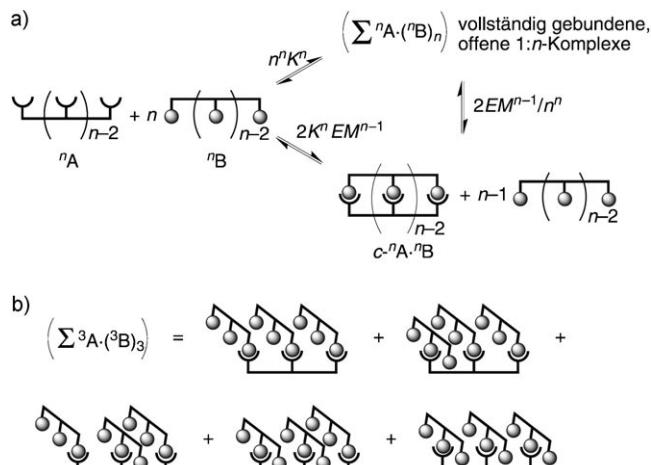


Abbildung 7. a) Binden eines n -wertigen Liganden "B" an einen n -wertigen Rezeptor "A" unter der Annahme, dass $[^n\text{B}]_0 \gg [^n\text{A}]_0$ und $\alpha = 1$. Begründungen für die Ausdrücke der Gleichgewichtskonstante sind in den Hintergrundinformationen zu finden. b) Gemisch der vollständig gebundenen, offenen $1:n$ -Komplexe für $n = 3$.

das Gemisch der vollständig gebundenen, offenen $1:n$ -Komplexe für den Fall von $n = 3$. Gleichung (7) kann leicht für den mehrwertigen Fall der Gleichung (8) generalisiert werden, wobei β die scheinbare Konstante für das in Abbildung 8 gezeigte Gleichgewicht ist.

$$\beta = \frac{2}{n^n} \left(\frac{EM}{[^n\text{B}]} \right)^{n-1} \quad (8)$$

Der Faktor β hängt von einem statistischen Faktor ab, der multipliziert wird mit dem Verhältnis des EM zu der Ligandenkonzentration hoch der Cyclenzahl des Aggregats. Offensichtlich ist die EM zwar für sich kein Maß der Chelatkooperativität, sie ist aber der entscheidende Strukturparameter, von dem β abhängt.

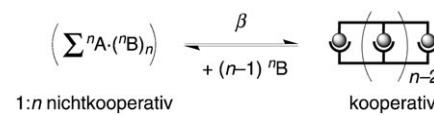


Abbildung 8. Der Kooperativitätsfaktor β stellt die scheinbare Gleichgewichtskonstante (abhängig von der Ligandenkonzentration) für die Umwandlung des Gemisches der Komplexe $"^n\text{A}\cdot(^n\text{B})_n$ (nichtkooperativ) in den Chelatkomplex $c\text{-}^n\text{A}\cdot^n\text{B}$ (kooperativ) dar.

Nach Gleichung (8) wird bei zunehmendem Cyclenzahl die Chelatkooperativität immer empfindlicher gegen die Ligandenkonzentration, wenn $\beta \approx 1$, das heißt wenn $[B] \approx (2/n^{n-1})^{1/(n-1)} EM$. Dieses Verhalten ist deutlich an den Spezialisationsprofilen des Chelatkplexes $c\text{-}A\text{-}B$ zu erkennen, die für die Fälle $KEM = 50$ und $n = 2, 3, 4$ und 10 berechnet wurden (Abbildung S1 der Hintergrundinformationen). Die Profile zeigen, dass der Zerfall (die Denaturierung) des Chelatkplexes $c\text{-}A\text{-}B$ mit zunehmendem Wert von n immer stärker begünstigt wird, da die Chelatkooperativität dann immer steiler abfällt. Dieses Abfallen geht mit einer komplementären steilen Zunahme des Anteils vollständig gebundener, offener $1:n$ -Komplexe einher. Die scheinbare Kooperativität des Denaturierungsvorgangs ist eine Folge des Verschwindens der Chelatkooperativität bei zunehmender Ligandenkonzentration.

Selbstverständlich führt auch die Zugabe eines einwertigen Liganden B zu einem bestehenden Chelatkplex $c\text{-}A\text{-}B$ zur Denaturierung (siehe die Hintergrundinformationen), was an den mechanistischen Grundlagen aber nichts ändert.

4. Interannuläre Kooperativität

Interannuläre Kooperativität entsteht durch das Zusammenspiel von zwei oder mehr bindenden intramolekularen Wechselwirkungen. Zur Veranschaulichung dieser Erscheinung betrachten wir einen vierwertigen Rezeptor 4A , bei dem ein Paar von Bindungsstellen bezüglich des anderen Paars frei rotieren kann (Abbildung 9). Nehmen wir an, ein zweiwertiger

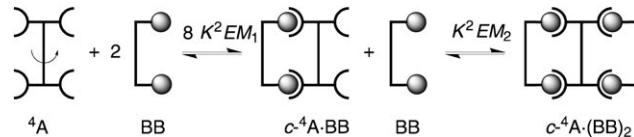


Abbildung 9. Binden eines zweiwertigen Liganden BB an einen vierwertigen Rezeptor 4A mit der Möglichkeit zur freien inneren Rotation unter der Annahme, dass $[BB]_0 \gg [{}^4A]_0$ und $\alpha = 1$.

ger Ligand BB sei in hohem Überschuss bezogen auf den Rezeptor vorhanden, sodass Komplexe mit mehr als einem Rezeptormolekül vernachlässigt werden können, nicht aber in so hohem Überschuss, dass der bicyclische Komplex $c\text{-}{}^4A\text{-}(BB)_2$ zerfällt. Ferner gelte $\alpha = 1$, um eine allosterische Kooperativität auszuschließen. Nun bindet ein erstes Ligandenmoleköl BB an den Rezeptor und bildet dabei einen Ring, der die interne Rotation sperrt. Das Binden eines zweiten BB-Moleküls erfolgt dann wesentlich leichter, da der Entropieverlust beim Einfrieren der internen Rotation bereits mit dem Binden des ersten Moleküls verbunden war. Da das Schließen des ersten Rings das Schließen des zweiten, praktisch identischen Rings erleichtert, besteht eine positive Kooperativität. Dieser Typ von Kooperativität entsteht aber nicht durch eine Zunahme der Affinität der Bindungsstellen des Rezeptors, sondern durch eine Zunahme der EM des zweiten Rings bezogen auf jene des ersten Rings. Klare Bei-

spiele dieses Typs von Kooperativität sind in dem Doppelrad-Octapyridylrezeptor von Shinkai und Mitarbeitern^[2b,18] und dem Bisporphyrintetrapyridyl-Rezeptor von Wilson und Anderson^[19] zu finden (Abbildung 10). Der Rezeptor von

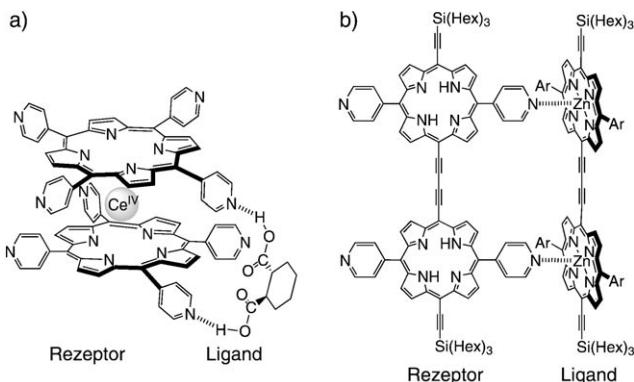


Abbildung 10. Rezeptoren mit zweizähnigen Liganden, beschrieben von a) Shinkai und Mitarbeitern; b) Wilson und Anderson. Hex = Hexyl.

Shinkai besteht aus zwei Porphyrin-„Rädern“, die jeweils vier Pyridyl-Bindungsstellen tragen und durch eine Cer-„Achse“ verbunden sind, sodass die Räder relativ zueinander rotieren können. Gleichzeitiges Binden eines ersten ditopen Liganden wie (1R,2R)-Cyclohexan-1,2-dicarbonsäure über Wasserstoffbrücken an beide Räder unterdrückt deren freie Rotation, sodass die nachfolgenden Liganden leichter gebunden werden. Der Rezeptor von Anderson besteht aus zwei Porphyrinen, die jeweils zwei Pyridyl-Bindungsstellen tragen und frei um eine Butadiinylachse rotieren können. Gleichzeitiges Binden eines Bis(zinkporphyrin)-Liganden durch Metallkoordination erleichtert aufgrund der eingeschränkten Drehbewegung das Binden eines zweiten Ligandenmoleküls. Selbstverständlich ist das Einfrieren von Drehbewegung nur einer der möglichen Mechanismen einer interannulären Kooperativität. Bei anderen Mechanismen kann eine Anziehung oder Abstoßung zwischen den Liganden beteiligt sein.

Die Gleichgewichte in Abbildung 9 werden durch einen statistischen Faktor, eine mikroskopische intermolekulare Konstante K und die mikroskopischen effektiven Molaritäten EM_1 und EM_2 beschrieben. Die Referenzkonstante K kann durch Untersuchung der Bindung eines einwertigen Liganden B an einen einwertigen Modellrezeptor A bestimmt werden, während der EM -Referenzwert durch Untersuchung der Bindung des Liganden BB an einen zweiwertigen Modellrezeptor AA bestimmt werden kann (Abbildung 11). Bei fehlender interannulärer Kooperativität gilt $EM_2 = EM_1 =$

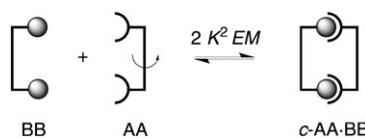


Abbildung 11. Anlagerung des Liganden BB an einen zweiwertigen Modellrezeptor AA zur Bestimmung des EM -Referenzwerts.

EM. Mit Bezug auf Abbildung 9 kann die interannuläre Kooperativität durch einen Kooperativitätsfaktor γ quantifiziert werden, der durch das Verhältnis der experimentellen Gesamtkonstante zu der hypothetischen nichtkooperativen Gesamtkonstante gegeben ist: $\gamma = EM_1 EM_2 / EM^2$.

Zur korrekten Ermittlung des *EM*-Referenzwerts muss die allosterische Kooperativität ausgeschlossen werden ($\alpha = 1$), andernfalls ($\alpha \neq 1$) ist ihr Einfluss zu quantifizieren, indem die Anlagerung des einwertigen Liganden B an den zweiwertigen Modellrezeptor AA untersucht wird (Abbildung 1). Würde das Vorhandensein eines allosterischen Faktors einfach ignoriert, wäre die Bestimmung des *EM*-Referenzwerts verfälscht, sodass eine allosterische Kooperativität entweder unerkannt bliebe oder fälschlich als interannuläre Kooperativität interpretiert würde.

Da die Konzepte der interannulären Kooperativität und der Chelatkooperativität nicht einfach sind und verwechselt werden könnten, sollte Folgendes beachtet werden: 1) Chelatkooperativität entsteht aus dem bloßen Vorhandensein einer oder mehrerer unabhängiger bindender intramolekulare Wechselwirkungen, die interannuläre Kooperativität hängt dagegen vom Zusammenspiel von zwei oder mehr derartigen Wechselwirkungen ab. 2) Aus interannulärer Kooperativität folgt notwendigerweise das Vorhandensein von Chelatkooperativität, das Umgekehrte trifft aber nicht zu. 3) Interannuläre Kooperativität ist im Unterschied zu Chelatkooperativität von der Ligandenkonzentration unabhängig.

5. Stabilität eines Aggregats

Die Gesamt-Gleichgewichtskonstante K_{sa} für die Bildung eines Aggregats aus seinen Grundbaueinheiten hängt oft von zahlreichen intermolekularen und intramolekularen Wechselwirkungen ab, sodass die Erstellung theoretischer Modelle sehr hilfreich ist, anhand derer die Stabilität eines Aggregats auf der Grundlage der Kenntnis der einzelnen Teilwechselwirkungen vorhergesagt werden kann. Unter Berücksichtigung der oben genannten Typen der Kooperativität kann eine allgemeine Gleichung für die Stabilität eines Aggregats formuliert werden [Gl. (9)], aus der theoretische Modelle für verschiedene betrachtete Sonderfälle folgen.

$$K_{\text{sa}} = \alpha \gamma K_o K^b EM^c \quad (9)$$

Die Parameter in Gleichung (9) haben folgende Bedeutungen: α und γ sind Kooperativitätsfaktoren für die gesamte allosterische bzw. interannuläre Kooperativität. K_o ist der statistische Faktor für den Aggregationsvorgang, der leicht auf der Basis der Symmetriezahlen des Aggregats und seiner Baueinheiten ermittelt werden kann.^[8,9] K und *EM* sind die wichtigsten Referenzparameter, wobei der erste Parameter der Stärke der einzelnen bindenden Wechselwirkung entspricht und der zweite bei einem cyclischen oder multicyclischen Aggregat der Einfachheit der Bildung der cyclischen Referenzstruktur entspricht; diese Parameter können an geeigneten Modellen experimentell bestimmt werden. b ist die Zahl an bindenden Wechselwirkungen, die die Baueinheiten

miteinander verbinden, und c ist die Cyclenzahl des Aggregats, gegeben durch $b-i+1$, wobei i die Zahl der Baueinheiten ist.^[9,10a,13] Abhängig von den Werten dieser Parameter können verschiedene Modelle abgeleitet werden:

1) Das nichtkooperative Modell ($\alpha = \gamma = 1, c = 0$): Dieses Modell gilt für Aggregate, an denen nur intermolekulare Wechselwirkungen ohne allosterischen Effekt beteiligt sind. Die einzelnen Bindungsstellen des Rezeptors sind rein statistisch besetzt. Dieses Modell bildet die Referenz zum Erkennen von allosterischen Effekten in realen Systemen und gilt auch bei der Bildung eines gegebenen Oligomers bei der isodesmischen Polymerisation. Ein Beispiel für diesen Vorgang ist die reversible schrittweise Polymerisation eines Monomers A-B, bei der alle Assoziationskonstanten identisch gleich K sind. Die Bildungskonstante jedes Oligomers (A-B)_n ist durch Gleichung (9) mit $\alpha = \gamma = 1, c = 0, K_o = 1$ und $b = i-1$ gegeben.^[10a,20]

2) Das allosterisch kooperative Modell ($\alpha \neq 1, \gamma = 1, c = 0$): Dieses Modell betrifft typischerweise kooperative Systeme wie Hämoglobin, an denen nur intermolekulare Wechselwirkungen beteiligt sind. Das Modell gilt auch für die reversible Bildung von Oligomeren unter der Bedingung unterschiedlicher Konstanten für die schrittweise Assoziation, wie es bei der Polymerisation mit Nukleations- und Wachstumsphasen der Fall ist.^[20]

3) Das Chelatkooperativitätsmodell ($\alpha = \gamma = 1, c > 0$): Dieses Modell gilt für cyclische und multicyclische Aggregate mit identischen cyclischen Grundeinheiten. Jedes cyclische oder multicyclische Aggregat zieht Vorteil aus der Chelatkooperativität, was auf die Stabilität des Aggregats im Vergleich zu dem entsprechenden vollständig gesättigten, offenen Rezeptor hinweist. Anders als die allosterische und die interannuläre Kooperativität ist die Chelatkooperativität konzentrationsabhängig; sie nimmt mit zunehmender Konzentration des Liganden ab, bis sie von günstig ($\beta > 1$) zu ungünstig ($\beta < 1$) wechselt und bei hohen Ligandenkonzentrationen zum Zerfall (Denaturierung) führt. Das Chelatkooperativitätsmodell hängt von den beiden Referenzparametern K und *EM* ab, mit denen unter der Annahme von $\alpha = \gamma = 1$ die hypothetische Chelatkooperativitätskonstante des Aggregats aus der Gleichung (9) berechnet werden kann. Die experimentellen Stabilitätskonstanten mehrerer Aggregate mit unterschiedlichen Topologien, nämlich Helicate,^[21] Leitern^[22] und Käfige mit D_{3h} ^[23]- und D_{4h} ^[24]-Symmetrie, sind mit berechneten Stabilitätskonstanten aus dem Chelatkooperativitätsmodell vereinbar, was für alle diese Fälle das Fehlen anderer kooperativer Effekte bestätigt.^[9,10a,13] Dieses Ergebnis zeigt, dass das Chelatkooperativitätsmodell ein wirkungsvolles Instrument zur Vorhersage von Selbstorganisationsverhalten sein kann.

4) Das Modell mit allosterischer Kooperativität und Chelatkooperativität ($\alpha \neq 1, \gamma = 1, c > 0$): Bei diesem Modell werden sowohl allosterische Kooperativität als auch Chelatkooperativität berücksichtigt. Der Faktor α kann durch Untersuchung der Wechselwirkung des Rezeptors mit einem einwertigen Liganden ermittelt werden. Alternativ dazu kann unter der Voraussetzung, dass interannuläre Kooperativität ausgeschlossen werden kann, α auch als das Verhältnis der experimentellen Selbstaggregationskonstante zu jener aus

dem Chelatkooperativitätsmodell erhalten werden. Bei einem weiteren Ansatz wird eine theoretische Funktion für den Faktor α definiert. Diesen Ansatz entwickelten Piguet und Mitarbeiter für ihre bahnbrechenden Untersuchungen zur Stabilität von selbstorganisierten Mehrkernkomplexen, z.B. Metallohelicaten.^[2e] Dieses „Extended Site Binding Model“ kann im Zusammenhang des Modells mit allosterischer Kooperativität und Chelatkooperativität mit einem durch die Gleichung (10) bestimmten Faktor α behandelt werden, wobei $\Delta E_k^{\text{M,M}}$ die Wechselwirkungen berücksichtigt, die aus Coulomb-Effekten zwischen den Metallionen in Lösung entstehen, und $\Delta E_l^{\text{L,L}}$ berücksichtigt, dass Liganden bei der aufeinanderfolgenden Anlagerung an das gleiche Metallion unterschiedliche Bindungsaffinitäten aufweisen.

$$\alpha = \prod_k \exp(-\Delta E_k^{\text{M,M}}/RT) \prod_l \exp(-\Delta E_l^{\text{L,L}}/RT) \quad (10)$$

Oft sind aber wegen der einander entgegenwirkenden, im Betrag ähnlichen Beiträge von Coulomb- und Solvatisierungseffekten zu den Wechselwirkungen zwischen gleichen Komponenten, $\Delta E_k^{\text{M,M}}$ und $\Delta E_l^{\text{L,L}}$, die allosterischen kooperativen Effekte vernachlässigbar (leicht positiv oder negativ),^[25] was in vielen Fällen die Verwendung des einfachen Chelatkooperativitätsmodells rechtfertigt.

5) Das Modell mit interannulärer Kooperativität und Chelatkooperativität ($\alpha=1, \gamma \neq 1, c > 0$): Dieses Modell berücksichtigt sowohl interannuläre Kooperativität als auch Chelatkooperativität. Unter der Voraussetzung, dass allosterische Kooperativität a priori oder aus der Untersuchung der Wechselwirkung des Rezeptors mit einem einwertigen Liganden ausgeschlossen werden kann, kann der Faktor γ als das Verhältnis der experimentellen Selbstaggregationskonstante zu jener aus dem Chelatkooperativitätsmodell erhalten werden. Typische Aggregate, auf die dieses Modell angewendet werden kann, sind jene von Shinkai und Anderson (Abbildung 10).

6) Das Modell mit allosterischer Kooperativität, interannulärer Kooperativität und Chelatkooperativität ($\alpha \neq 1, \gamma \neq 1, c > 0$): Dies ist das allgemeinste Modell, bei dem alle drei Arten der Kooperativität berücksichtigt werden. Zum Auf trennen des Produkts $\alpha\gamma$ in seine Komponenten muss der Faktor α gesondert durch Untersuchung der Wechselwirkung des Rezeptors mit einem einwertigen Liganden bestimmt werden. Gegenwärtig gibt es keine gut beschriebenen Beispiele, bei denen alle drei Typen von Kooperativität nachgewiesen und quantifiziert wurden.

Wie sollte also Kooperativität bei der Selbstorganisation beurteilt werden? Wir haben erwähnt, dass drei Typen von Kooperativität in Betracht zu ziehen sind: allosterische Kooperativität (α), Chelatkooperativität (β) und interannuläre Kooperativität (γ). Während das Vorhandensein von Chelatkooperativität bei der Bildung eines cyclischen oder multicyclischen Aggregats unmittelbar ersichtlich ist, benötigen die allosterische und die interannuläre Kooperativität Referenzmodelle, oder es müssen gängige Auftragungen herangezogen werden (Bindungsisothermen, Scatchard-Plots und Hill-Plots).^[7] In jedem Fall liefert Gleichung (9) den Bezugsrahmen für die quantitative Beurteilung der Kooperati-

vität bei der Selbstorganisation. Die hier beschriebenen Konzepte sollten den Weg für weitere Fortschritte zur theoretischen Vorhersage der wichtigsten Kooperativitätsfaktoren α, β und γ ebnen. Das von Piguet und Mitarbeitern vorgeschlagene Modell für α ist ein erster Schritt in diese Richtung,^[2e,25] dem weitere Schritte folgen sollten.

Eingegangen am 9. Juli 2010

Online veröffentlicht am 27. Januar 2011

Übersetzt von Dr. Thomas Steiner, Neu-Ulm

- [1] a) M. F. Q. Perutz, *Q. Rev. Biophys.* **1989**, *22*, 139–236; b) A. Fersht, *Structure and Mechanism in Protein Science*, Freeman, New York, **1999**; c) A. Ben-Naim, *Cooperativity and Regulation in Biochemical Processes*, Kluwer, New York, **2001**; d) Themenheft zu Kooperativität: *Nat. Chem. Biol.* **2008**, *4*, 433–507.
- [2] a) H.-J. Schneider, A. K. Yatsimirsky, *Principles and Methods in Supramolecular Chemistry*, Wiley, Chichester, **2000**, Abschnitte A9 und D1.3.2; b) S. Shinkai, A. Sugasaki, M. Ikeda, M. Takeuchi, *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 494–503; c) A. Mulder, J. Huskens, D. N. Reinhoudt, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 3409–3424; d) J. D. Badjic, A. Nelson, S. J. Cantrill, W. B. Turnbull, J. F. Stoddart, *Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 723–732; e) J. Hamacek, M. Borkovec, C. Piguet, *Dalton Trans.* **2006**, 1473–1490.
- [3] A. Whitty, *Nat. Chem. Biol.* **2008**, *4*, 435–439. In diesem Kommentar wird der Begriff „configurational cooperativity“ (Konfigurationskooperativität) anstelle von „chelate cooperativity“ (Chelatkooperativität) verwendet.
- [4] C. A. Hunter, H. L. Anderson, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 7624–7636; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 7488–7499.
- [5] W. A. Eaton, E. R. Henry, J. Hofrichter, A. Mozzarelli, *Nat. Struct. Biol.* **1999**, *6*, 351–358.
- [6] Diese Vorgehensweise ist für homotrope Kooperativität (kooperatives Binden mehrerer Molekülen des gleichen Liganden) streng gültig. Im Fall von heterotroper Kooperativität (kooperatives Binden unterschiedlicher Liganden) muss mehr als eine Referenzwechselwirkung definiert werden. Ein aktuelles Beispiel für heterotrope Kooperativität: A. B. C. Deutman, C. Monnereau, M. Moalin, R. G. E. Coumans, N. Veling, M. Coenen, J. M. M. Smits, R. de Gelder, J. A. A. W. Elemans, G. Ercoleani, R. J. M. Nolte, A. E. Rowan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 10471–10476.
- [7] a) K. A. Dill, S. Bromberg, *Molecular Driving Forces: Statistical Thermodynamics in Chemistry and Biology*, Garland Science, New York, **2003**, Kap. 28; b) K. A. Connors, *Binding Constants: The Measurement of Molecular Complex Stability*, Wiley, New York, **1987**, Kap. 2; c) B. Perlmutter-Hayman, *Acc. Chem. Res.* **1986**, *19*, 90–96.
- [8] Bei einem generischen Gleichgewicht $aA + bB \rightleftharpoons cC$, wobei σ_A , σ_B und σ_C die Symmetriezahlen von A, B und C sind, ist der statistische Wert der Gleichgewichtskonstante durch den Faktor $K_o = (\sigma_A)^a (\sigma_B)^b / (\sigma_C)^c$ gegeben. Die Symmetrienzahl eines Moleküls ist als die Gesamtzahl der unabhängigen Permutationen identischer Atome oder Gruppen in einem Molekül definiert, die durch einfache Rotationen des gesamten Moleküls oder durch Rotationen um Einfachbindungen innerhalb des Moleküls erzeugt werden können. Wenn eine an dem Gleichgewicht beteiligte Spezies chiral ist und als racemisches Gemisch vorliegt, muss die Symmetrienzahl mit $1/2$ multipliziert werden, um die Mischungsentropie der beiden Enantiomere zu berücksichtigen. Alternativ dazu kann der statistische Wert einer Gleichgewichtskonstante als das Verhältnis der Zahl an Mikrospezies von Produkten zu jener der Reaktanten bestimmt werden. Aktuelle Diskussion von statistischen Faktoren finden sich in Lit. [9] und zit. Lit.

- [9] G. Ercolani, C. Piguet, M. Borkovec, J. Hamacek, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 12195–12203.
- [10] a) G. Ercolani, *Struct. Bonding (Berlin)* **2006**, *121*, 167–215; b) C. Galli, L. Mandolini, *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 3117–3125; c) L. Mandolini, *Adv. Phys. Org. Chem.* **1987**, *22*, 1–111.
- [11] Das Symbol *EM* wird oft als Bezeichnung der effektiven Molarität verwendet, die das Produkt der mikroskopischen effektiven Molarität mit dem statistischen Faktor des Cyclisierungsvorgangs ist. Dem Beispiel von Hunter und Anderson (Lit. [4]) gemäß verwenden wir das Symbol *EM* für die mikroskopische effektive Molarität.
- [12] Einer von uns wandte sich gegen die verbreitete Neigung, den Chelateffekt als kooperativen Effekt anzusehen, mit der Grundlage, dass die von der Chelatwirkung gelieferte treibende Kraft im Unterschied zur allosterischen Kooperativität konzentrationsabhängig ist (Lit. [13]). Für viele Chemiker ist dieses Argument nicht ausreichend stark, um den Chelateffekt aus den Quellen der Kooperativität auszuschließen (siehe beispielsweise Lit. [3] und [4]). Tatsächlich können wir diese weitverbreitete Meinung und das Konzept der Chelatkooperativität problemlos vereinbaren, vorausgesetzt, dass die Konzentrationsabhängigkeit erkannt wurde.
- [13] G. Ercolani, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 16097–16103.
- [14] Dieses Konzept wird in der Legende der Abbildung 1 b in Lit. [3] in Bezug auf Dissoziationskonstanten ausgedrückt, d.h. $K_{d2} < K_{d1}$, wobei $K_{d2} = 1/K_{\text{intra}}$ und $K_{d1} = 1/(4K)$.
- [15] M. Mammen, S.-K. Choi, G. M. Whitesides, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2908–2953; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2754–2794.
- [16] C. T. Calderone, D. H. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6262–6267.
- [17] W. P. Jencks, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1981**, *78*, 4046–4050.
- [18] a) M. Takeuchi, A. Sugasaki, M. Ikeda, S. Shinkai, *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 865–873; b) G. Ercolani, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 803–805.
- [19] G. S. Wilson, H. L. Anderson, *Chem. Commun.* **1999**, 1539–1540.
- [20] a) T. F. A. De Greef, M. M. J. Smulders, M. Wolffs, A. P. H. J. Schenning, R. P. Sijbesma, E. W. Meijer, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 5687–5754; b) T. F. A. de Greef, G. Ercolani, G. B. W. L. Ligthart, E. W. Meijer, R. P. Sijbesma, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13755–13764.
- [21] A. Pfeil, J.-M. Lehn, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 838–840.
- [22] P. N. Taylor, H. L. Anderson, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 11538–11545.
- [23] P. Ballester, A. I. Oliva, A. Costa, P. M. Deyà, A. Frontera, R. M. Gomila, C. A. Hunter, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5560–5569.
- [24] L. Baldini, P. Ballester, A. Casnati, R. M. Gomila, C. A. Hunter, F. Sansone, R. Ungaro, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 14181–14189.
- [25] a) J.-F. Lemonnier, L. Guénée, G. Bernardinelli, J.-F. Vigier, B. Bocquet, C. Piguet, *Inorg. Chem.* **2010**, *49*, 1252–1265; b) N. Dalla Favera, U. Kiehne, J. Bunzen, S. Hytteballe, A. Lützen, C. Piguet, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 129–132; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 125–128; c) N. Dalla Favera, L. Guénée, G. Bernardinelli, C. Piguet, *Dalton Trans.* **2009**, 7625–7638; d) T. Riis-Johannessen, N. Dalla Favera, T. Todorova, S. M. Huber, L. Gagliardi, C. Piguet, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 12702–12718; e) N. Dalla Favera, J. Hamacek, M. Borkovec, D. Jeannerat, F. Gumy, J.-C. G. Bünzli, G. Ercolani, C. Piguet, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 2994–3005; f) G. Canard, C. Piguet, *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 3511–3522.