

Fixierung von O₂ und CO an Metallporphyrin-Anionen in der Gasphase**

Tatjana Karpuschkin, Manfred M. Kappes und Oliver Hampe*

Metallporphyrine und ihre Derivate sind die essenziellen Kofaktoren in vielen Häm-Enzymen, welche in nahezu allen lebenden Organismen vorkommen. In solchen Häm-Proteinen (z. B. Cytochrom P450 oder Hämoglobin) dient ein Eisenporphyrin als prosthetische Gruppe und agiert als wirkungsvoller Katalysator bei Sauerstoffübertragung und -transport.^[1] Es sind diese Enzyme, die es letztlich lebenden Zellen ermöglichen, molekularen – und ansonsten unreaktiven – Sauerstoff direkt aus der Umgebung zu nutzen. In den meisten dieser biochemischen Reaktionen steht zu Beginn des Katalysezyklus die Anlagerung von Disauerstoff an die Eisen(II)-Häm-Gruppe, d. h. nach Reduktion des Eisenporphyrin-Komplexes von dem unreaktiven Oxidationszustand Eisen(III) in ein aktives Eisen(II).^[2] Es ist bereits seit langem bekannt, dass die Bindung von Sauerstoff in Häm-Enzymen ein hochgradig kooperativer Vorgang ist^[3] und in empfindlicher Weise von axial gebundene Liganden am Fe^{II} abhängt sowie von deren Eigenschaft, als Elektronendonator oder -akzeptor zu fungieren. Man weiß aus spektroskopischen Experimenten, dass vierfach koordinierte Eisenporphyrine (4c-FeP; ohne axialen Ligand) einen Triplett-Grundzustand haben (*S* = 1).^[4] In 5c-FeP liegt in der Regel ein Quintett-Grundzustand vor (*S* = 2), mit geringen aber relevanten Unterschieden hinsichtlich der Reaktivität mit Sauerstoff in Abhängigkeit des axialen Liganden. So wurde kürzlich beschrieben,^[5] dass die schwachen Donorliganden Imidazol und Histidin (wie sie im Hämoglobin bzw. Myoglobin vorliegen) zu einer reversiblen Fe-O₂-Anlagerung führen; stärker elektronenschiebende Liganden wie das anionische Imidazolat werden für eine stärkere Sauerstofffixierung (wie im Cytochrom P450) verantwortlich gemacht.

Mit dem Ziel eines vertieften Verständnisses dieser elementarchemischen Bindungsschritte, wie sie in Häm-Komplexen auftreten, haben Experimente in der Gasphase – insbesondere solche an massenselektierten Teilchen – den Vorteil, dass der Oxidationszustand des Metallzentrums eindeutig kontrolliert werden kann^[6] und gleichzeitig Matrixeffekte, wie sie durch Gegenionen oder Lösungsmittelmoleküle ent-

stehen, rigoros ausgeschlossen werden können. In diesem Zusammenhang haben Crestoni et al.^[7] umfangreiche Untersuchungen zur Ionenchemie von Metallporphyrinen in einer Ionenzyklotronresonanz(ICR)-Zelle bei Raumtemperatur durchgeführt. Im Rahmen der untersuchten Systeme wurden keine Hinweise auf starke Ligandeneffekte auf die Assoziationsgleichgewichte von Fe^{II}- und Fe^{III}-Häm-Kationen bei tiefen Drücken gefunden; es konnte jedoch eine thermochemische Leiter (d. h. Unterschiede in ΔG) für die Stärke der Bindung verschiedener Neutralliganden wie Pyridin oder NO aufgestellt werden.^[8] In einer weiteren ICR-Studie im hyperthermischen Temperaturbereich von 308–342 K wurde von Ridge et al.^[9] die Assoziationsreaktion von einigen Eisen(II)-Porphyrin-Kationen (die sich in den peripheren Substituenten unterscheiden) mit NO untersucht. Es wurden Fe-NO Bindungsenergien in einem Bereich von 103.8–120.9 kJ mol⁻¹ ermittelt, d. h. geringe Variationen als Funktion des peripheren Porphyrinliganden. Insbesondere wurden dabei für das einfach und zweifach geladene Porphyrinkation nahezu identische Zahlenwerte gefunden.

Hier berichten wir über die erste experimentelle Bestimmung der Bindungsenergie von molekularem Sauerstoff und Kohlenmonoxid an Metallporphyrin-Komplexe im Vakuum. Dazu wurden die Assoziationsreaktionen von deprotonierten Tetraanionen des Eisen(II)-tetrakis(4-sulfonatophenyl)porphyrins [Fe^{II}(tpps)]⁴⁻ (Abbildung 1) sowie des

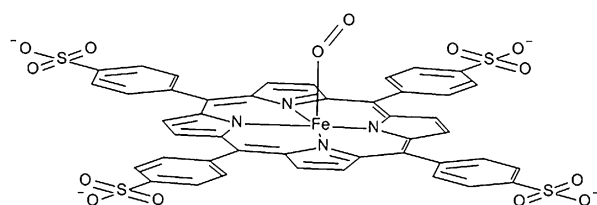


Abbildung 1. Der Sauerstoffkomplex von [Fe^{II}(tpps)]⁴⁻. tpps = Tetraakis(4-sulfonatophenyl)porphyrin.

analogen Mangan(II)-tetrakis(4-sulfonatophenyl)porphyrins [Mn^{II}(tpps)]⁴⁻ mit O₂ und CO in einem Temperaturbereich von 120–210 K mithilfe einer temperierbaren Penning-Ionenfalle untersucht (Abbildung 2).^[10]

Gespeicherte [Fe^{II}(tpps)]⁴⁻- und [Mn^{II}(tpps)]⁴⁻-Ionen können bei tiefen Temperaturen mit O₂ oder CO zum Assoziationsprodukt reagieren. Abbildung 3 zeigt die Reaktion beispielhaft für das System [Fe^{II}(tpps)]⁴⁻/O₂ bei *T* = 123 K, wobei keinerlei Nebenreaktionen in den dazugehörigen Massenspektren beobachtet werden konnten. In vollkommen analoger Weise reagiert [Fe^{II}(tpps)]⁴⁻ mit CO bereits bei

[*] Dr. T. Karpuschkin, Prof. Dr. M. M. Kappes, Priv.-Doz. Dr. O. Hampe Institut für Nanotechnologie und Institut für Physikalische Chemie Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Karlsruhe (Deutschland) E-Mail: oliver.hampe@kit.edu Homepage: <http://www.int.kit.edu/english/1111.php>

[**] Diese Arbeit wurde unterstützt durch die DFG innerhalb des Sonderforschungsbereichs TR-SFB 88 „Kooperative Effekte in homo- und heterometallischen Komplexen (3MET)“ und durch das BMBF über die Helmholtz-Gemeinschaft (POF „STN“)

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201303200> zu finden.

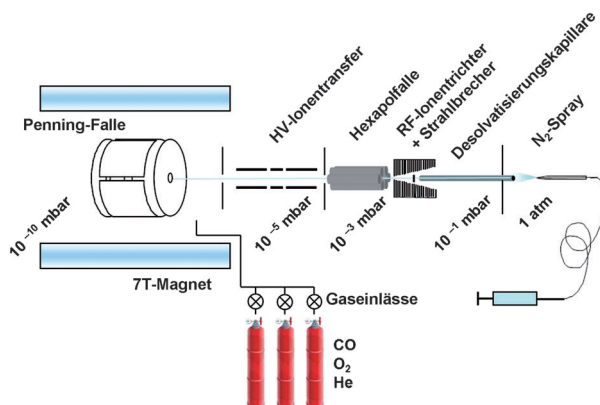


Abbildung 2. Darstellung des experimentellen Aufbaus.

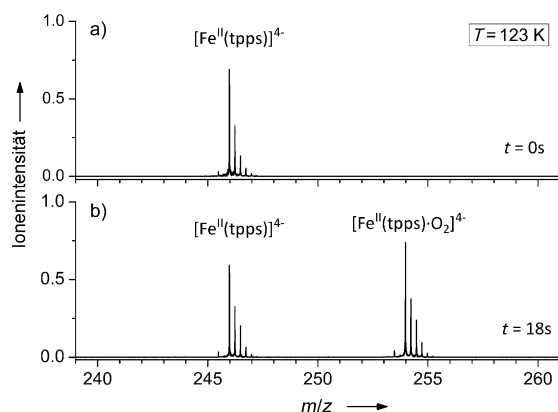
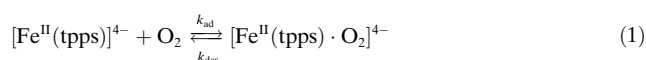


Abbildung 3. Anionen-Massenspektrum von $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{tpps})]^{4-}$ a) vor und b) nach Zugabe von Sauerstoff für 18 s bei einem Partialdruck von 4×10^{-7} mbar und bei einer Temperatur von 123 K.

Temperaturen im Bereich 180–210 K ebenso wie $[\text{Mn}^{\text{II}}(\text{tpps})]^{4-}$ mit O_2 .^[11]

Die kinetische Daten, die durch Bestimmung der Ionenkonzentration als Funktion der Reaktionszeit bei konstantem Reaktantendruck erhalten wurden, zeigen deutlich, dass die Reaktion bei hinreichend tiefer Temperatur zu einem Gleichgewicht für lange Reaktionszeiten führt (siehe Abbildung 4 für das Eisen/ O_2 -System) und die Reaktion lässt sich summarisch als Gleichung (1) schreiben.



Die Reversibilität der Reaktion konnte in Kontrollexperimenten eindeutig belegt werden: Nach Abschalten der O_2 - oder CO-Zufuhr nach der Reaktion zerfällt der entstandene Komplex wieder unter Abspaltung des zweiatomigen Moleküls und Rückbildung des Metallporphyrin-Ions (siehe Abbildung S1/S2 in den Hintergrundinformationen). Abbildung 4 präsentiert auch angepasste Kurven der entsprechenden Geschwindigkeitsgesetze für einen Zwei-Schritt-Mechanismus bestehend aus einem strahlungsvermittelten Assoziationsschritt und einem (aktivierten) Dissoziationsschritt.^[10b] Die daraus erhaltenen Werte für die Geschwin-

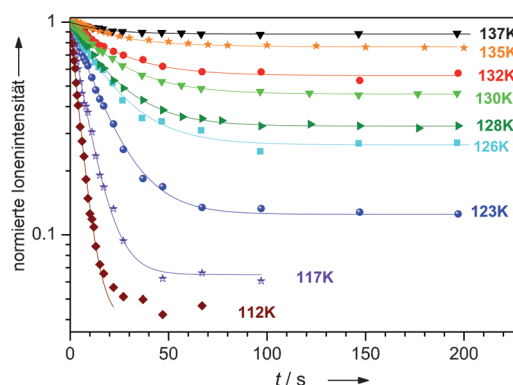


Abbildung 4. Kinetiken der Assoziation von Sauerstoff an gespeicherte $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{tpps})]^{4-}$ (O_2 -Partialdruck 4×10^{-7} mbar) als Funktion der Temperatur. Die durchgängigen Linien zeigen Anpassungen an die experimentellen Daten unter Verwendung der zugrundeliegenden Assoziations- und Dissoziations-Geschwindigkeitsgesetze. Die Gleichgewichtskonstanten K_p wurden durch Parametrisierung der Signale im stationären Zustand bei langen Reaktionszeiten gewonnen.

digkeitskoeffizienten sind in den Hintergrundinformationen zusammengefasst.

Dies wiederum ermöglicht die Bestimmung der Gleichgewichtskonstanten K_p aus dem Verhältnis der Geschwindigkeitskoeffizienten $k_{\text{ad}}/k_{\text{des}}$ bei bekanntem Reaktantendruck. Abbildung 5 zeigt die Ergebnisse als Funktion der

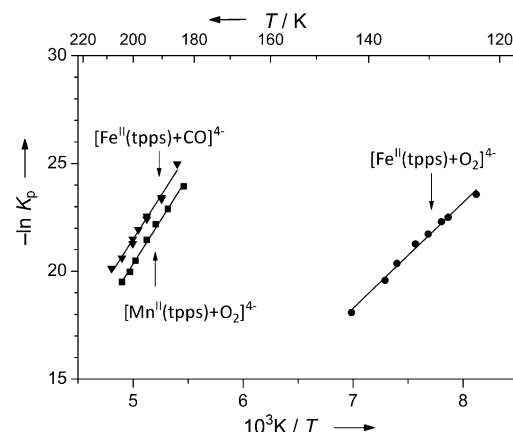


Abbildung 5. Van't-Hoff-Darstellung der experimentell bestimmten Gleichgewichtskonstanten K_p für die beschriebenen Gasphasen-Assoziationsreaktionen. Reaktionsenthalpien wurden aus der Steigung einer an die Daten angepassten Geraden erhalten.

Temperatur für die drei untersuchten Reaktionssysteme. Aus einer solchen Van't-Hoff-Darstellung der Gleichgewichtskonstanten ($-\ln K_p$ gegen die inverse Temperatur) und einer linearen Anpassung an die Daten erhält man direkt die Reaktionsenthalpie und -entropie für die Reaktionen zwischen O_2 oder CO und den Metallporphyrinen (Tabelle 1). Man beachte, dass das Negative der Reaktionsenthalpie mit der Bindungsenergie des jeweiligen zweiatomigen Moleküls gleichgesetzt werden kann. Unsere Ergebnisse zeigen, dass molekularer Sauerstoff mit 40.8 kJ mol^{-1} an $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{tpps})]^{4-}$ gebunden ist. Die entsprechende Bindungsenergie des Koh-

Tabelle 1: Gemessene Reaktionsenthalpien ΔH , und -entropien ΔS , für die Assoziationsreaktion unter Bildung des entsprechenden O_2/CO -Komplexes.

	$[Fe^{II}(tpps) \cdot O_2]^{4-}$	$[Fe^{II}(tpps) \cdot CO]^{4-}$	$[Mn^{II}(tpps) \cdot O_2]^{4-}$
ΔH , [kJ mol ⁻¹] ^[a]	-40.8 ± 1.4	-66.3 ± 2.6	-67.4 ± 2.2
ΔS , [J K ⁻¹ mol ⁻¹]	-134 ± 10	-153 ± 13	-168 ± 11

[a] Fehlerabschätzung aus möglichen systematischen Fehlern von Druck (Faktor 2) und Temperatur (± 5 K) sowie aus dem statistischen Fehler aus der Anpassung.

lenmonoxid ist mit 66.3 kJ mol^{-1} erheblich größer. Mit 67.4 kJ mol^{-1} bindet Sauerstoff deutlich stärker an ein Mn^{II} -Zentrum als im Falle des Eisenporphyrin an das Fe^{II} -Zentrum.

Es ist interessant, unsere Ergebnisse mit Literaturwerten aus quantenchemischen Rechnungen an Modell-Komplexen des Eisen- und Manganporphyrins wie auch mit relevanten Studien an Häm-Proteinen in kondensierter Phase zu vergleichen (Tabelle 2). So wurde in einer Reihe von theoretischen Studien festgestellt, dass die relativen Bindungsenergie von O_2 , CO und NO an Eisen(II)-Häm^[12] in der Reihenfolge $E_b(O_2) < E_b(CO) < E_b(NO)$ ansteigt,^[13] eine quantitative theoretische Beschreibung stellt jedoch noch immer eine Herausforderung dar. In einer kürzlich erschienenen Arbeit haben Radon und Pierloot^[14] geschlossen, dass Dichtefunktionalmethoden die Bindungsenergien tendenziell unterschätzen – mit einer Ausnahme: dem BP86-Funktional. Sie

Tabelle 2: Bindungsenergien von O_2 und CO an Modellkomplexe aus Rechnungen an Fe^{II} - und Mn^{II} -Porphyrine und aus Studien an Häm-Proteinen in Lösung.

Modellsystem	E_b [kJ mol ⁻¹]	Referenz
<i>Eisenporphyrin + O_2</i>		
$[Fe(tpps)]^{4-}$	40.8 ± 1.3	diese Arbeit
FeP	37.7	DFT, Rovira et al. (1997) ^[13]
FeP	54.0	DFT, Estrin et al. (2008) ^[16]
FeP/Fe(tpp)	56.0/75.3	DFT, Zhang et al. (2007) ^[17]
FeP/[FePPIX] ²⁻	55.2/60.2	DFT, Witko et al. (2006) ^[18]
$[Fe(häm)(his)]^{2-}$	89.9	DFT, Witko et al. (2007) ^[19]
FeP	32.8	DFT, Sun et al. (2009) ^[20]
FeP	-5.4 – 67.4	DFT/Radon et al. (2008) ^[14]
FeP	44.8	CASPT2, Radon et al. (2008) ^[14]
Humanes HbA	55.2 ± 1.7	Gaud et al. (1974) ^[21]
Myoglobin	75.7 ± 1.7	Keyes et al. (1971) ^[22]
Hb	43.1 ± 4.6	Johnson et al. (1992) ^[23]
Fe{Piv ₃ (5ClImP)Por}	68.2 ± 4.6	Collman et al. (1978) ^[24]
<i>Eisenporphyrin + CO</i>		
$[Fe(tpps)]^{4-}$	66.3 ± 2.6	diese Arbeit
FeP	108.8	DFT, Rovira et al. (1997) ^[13]
FeP	139.3	DFT, Estrin et al. (2008) ^[16]
FeP	-4.2 – 110.9	DFT, Radon et al. (2008) ^[14]
FeP	66.9	CASPT2, Radon et al. (2008) ^[14]
$[Fe(häm)(his)]^{2-}$	156.9	DFT, Witko et al. (2007) ^[19]
Humanes HbA	74.1 ± 1.7	Gaud et al. (1974) ^[21]
Myoglobin	89.5 ± 1.3	Keyes et al. (1971) ^[22]
<i>Manganporphyrin + O_2</i>		
$[Mn(tpps)]^{4-}$	67.4 ± 2.2	diese Arbeit
MnP	48.9	DFT, Witko et al. (2006) ^[18]

erhielten beispielsweise für die Bindungsenergie von O_2 an 4c-FeP Werte in einem Bereich zwischen -5.4 kJ mol^{-1} (B3LYP), d. h. nichtgebunden, und 67.4 kJ mol^{-1} für BP86. In der gleichen Arbeit wurde auch festgestellt, dass wellenfunktionbasierte Methoden unter Verwendung von Störungstheorie (CASPT2) die Bindungsenergien, wie sie an Myoglobin in der Wildform (ein 5c-FeP-Komplex innerhalb des natürlichen Proteins) in Lösung gemessen wurden, verhältnismäßig gut wiedergegeben werden.^[15]

Unser Wert für die Bindungsenergie von O_2 und CO an Eisen(II)-Porphyrin-Ionen in der Gasphase stimmt sehr gut mit der CASPT2-Beschreibung überein (Tabelle 2).

Eine weitere theoretische Studie hat sich mit dem Einfluss der Ladung auf die Bindungsverhältnisse von Eisen(II)-Porphyrinen beschäftigt.^[18] Beim Vergleich des neutralen Eisenporphyrins (FeP) mit dem dianionischen Eisenprotoporphyrin IX (FePPIX), das noch zwei deprotonierte Propionsäurereste außen am Porphyringerüst trägt, wurde ein Anstieg in der Sauerstoff-Bindungsenergie von ca. 10 % gefunden. In den maßgeblichen Rechnungen von Rovira et al.^[13] wurde ebenfalls festgestellt, dass randständige Liganden einen nur geringen Einfluss auf das chemische Verhalten des Eisenzentrums ausüben.

Zusammenfassend liefern die hier beschriebenen experimentellen Arbeiten thermochemische Bezugswerte für eine der wichtigsten biochemischen Reaktionen überhaupt. Diese Daten zur Bindungsenergie von molekularem Sauerstoff und Kohlenmonoxid an Eisen- und Manganporphyrine sollten sich als hilfreich erweisen im Hinblick auf quantitative quantenchemische Beschreibungen der zum Teil spinverbotenen Reaktionsschritte, welche in den entsprechenden enzymatischen Reaktionen vorkommen.^[25] Insbesondere können sie aber auch helfen um klar unterscheiden zu können zwischen den intrinsischen Eigenschaften des aktiven metallorganischen Zentrums und den Einflüssen der Umgebung, welche in der Literatur häufig als „Proteineffekt“ zusammengefasst werden.

Experimentelles

Die Experimente wurden an einem 7T-FT-ICR-Massenspektrometer^[26] (APEX II, Bruker Daltonik) mit Elektrospray-Ionenquelle (ESI, Analytica of Branford) und einem selbstgebauten Ionentrichter mit Strahlunterbrecher^[27] durchgeführt. Lösungen von Mn(III)-mesotetra(4-sulfonatophenyl)porphyrinchlorid und Fe(III)-mesotetra(4-sulfonatophenyl)porphyrinchloride (# MnT1239 und # FeT1239 von Frontier Scientific, Logan, UT, USA) in reinem Wasser mit Konzentrationen von ca. $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ wurden verwendet. Für einige Experimente wurde auch eine selbstkonstruierte Nanosprayquelle verwendet. Die erzeugten Anionen wurden nach der Desolvationskapillare effizient in einem Ionentrichter gesammelt, in einer Hexapol-Ionenfalle gespeichert und in die ICR-Zelle gepulst. Die gespeicherten Ionen wurden mit Standard-ICR-Techniken angeregt und nachgewiesen. Um temperaturabhängige Kinetikmessungen an Ionen-Molekülreaktionen zu ermöglichen, wurde die Infinity-ICR-Zelle in unserer Gruppe so modifiziert,^[10a] dass sie innerhalb eines Temperaturbereichs von $T = 90$ – 420 K geheizt und gekühlt werden kann.^[28] Zur Aufnahme der kinetischen Daten wurde ein massenspektrometrisches Messprotokoll verwendet, das kürzlich bereits detailliert beschrieben worden ist.^[10a] Kurz zusammengefasst wurden die ionischen Reaktanten in der ICR-Zelle isoliert und mit Helium

oder Argon bei einem Druck von 10^{-5} mbar für 5 s thermalisiert. Nach einer Abspumpzeit wurden die jeweiligen Reaktionsgase (O_2 oder CO) für die Dauer der Reaktionszeit mithilfe eines Solenoid-Ventils bis zu einem konstanten Druck von ca. 4×10^{-7} mbar in die UHV-Kammer der ICR-Zelle eingepulst. Die Reinheit der verwendeten Gase wurde online mit einem Restgasanalysator mitgemessen und betrug $>99.5\%$.

Eingegangen am 16. April 2013

Online veröffentlicht am 19. Juli 2013

Stichwörter: Biophysikalische Chemie ·

Eisen(II)-Häm-Komplexe · Gasphasen-Ionenchemie ·

Massenspektrometrie · Sauerstofffixierung

- [1] S. Shaik, S. Cohen, Y. Wang, H. Chen, D. Kumar, W. Thiel, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 949–1017.
- [2] I. G. Denisov, T. M. Makris, S. G. Sligar, I. Schlichting, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2253–2277.
- [3] M. F. Perutz, *Nature* **1970**, *228*, 726–734.
- [4] a) J. P. Collman, J. L. Hoard, N. Kim, G. Lang, C. A. Reed, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 2676–2681; b) H. Goff, G. N. Lamar, C. A. Reed, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 3641–3646; c) G. Lang, K. Spartalian, C. A. Reed, J. P. Collman, *J. Chem. Phys.* **1978**, *69*, 5424–5427.
- [5] C. Hu, C. D. Sulok, F. Paulat, N. Lehnert, A. I. Twigg, M. P. Hendrich, C. E. Schulz, W. R. Scheidt, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 3737–3750.
- [6] D. K. Böhme, H. Schwarz, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 2388–2406; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 2336–2354.
- [7] a) B. Chiavarino, R. Cipollini, M. E. Crestoni, S. Fornarini, F. Lanucara, A. Lapi, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 3208–3217; b) M. E. Crestoni, S. Fornarini, F. Lanucara, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 7863–7866; c) M. E. Crestoni, S. Fornarini, F. Lanucara, J. J. Warren, J. M. Mayer, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 4336–4343.
- [8] a) B. Chiavarino, M. E. Crestoni, S. Fornarini, C. Rovira, *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 7792–7801; b) F. Angelelli, B. Chiavarino, M. Crestoni, S. Fornarini, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2005**, *16*, 589–598.
- [9] O. N. Chen, S. Groh, A. Liechty, D. P. Ridge, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 11910–11911.
- [10] a) O. Hampe, T. Karpuschkin, M. Vonderach, P. Weis, Y. M. Yu, L. B. Gan, W. Kloppe, M. M. Kappes, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13*, 9818–9823; b) M. Neumaier, F. Weigend, O. Hampe, M. M. Kappes, *J. Chem. Phys.* **2005**, *122*, 104702.
- [11] Wir merken an, dass unter praktisch identischen experimentellen Bedingungen die Porphyrinspezies mit dem zentralen Metallatom im Oxidationszustand +III und gleicher Zahl (=4) an Deprotonierungsplätzen, d.h. ein molekulares Trianion, nicht in meßbarem Umfang reagiert. Dies zeigt deutlich, dass das chemische Verhalten der Metallporphyrine in Hinblick auf die Fixierung von O_2 oder CO tatsächlich durch das Metallzentrum und zu einem wesentlich geringeren Maße durch die peripheren Ladungen bestimmt ist.
- [12] L. M. Blomberg, M. R. A. Blomberg, P. E. M. Siegbahn, *J. Inorg. Biochem.* **2005**, *99*, 949–958.
- [13] C. Rovira, K. Kunc, J. Hutter, P. Ballone, M. Parrinello, *J. Phys. Chem. A* **1997**, *101*, 8914–8925.
- [14] M. Radoń, K. Pierloot, *J. Phys. Chem. A* **2008**, *112*, 11824–11832.
- [15] J. S. Olson, G. N. Phillips, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1997**, *2*, 544–552.
- [16] D. E. Bikiel, S. E. Bari, F. Doctorovich, D. A. Estrin, *J. Inorg. Biochem.* **2008**, *102*, 70–76.
- [17] Z. Shi, J. J. Zhang, *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 7084–7090.
- [18] D. Rutkowska-Zbik, M. Witko, *J. Mol. Catal. A* **2006**, *258*, 376–380.
- [19] D. Rutkowska-Zbik, M. Witko, G. Stochel, *J. Comput. Chem.* **2007**, *28*, 825–831.
- [20] Y. Sun, X. Hu, H. Li, A. F. Jalbout, *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 14316–14323.
- [21] H. T. Gaud, B. G. Barisas, S. J. Gill, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1974**, *59*, 1389–1394.
- [22] M. H. Keyes, M. Falley, R. Lumry, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 2035.
- [23] C. R. Johnson, D. W. Ownby, S. J. Gill, K. S. Peters, *Biochemistry* **1992**, *31*, 10074–10082.
- [24] J. P. Collman, J. I. Brauman, K. M. Doxsee, T. R. Halbert, K. S. Suslick, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1978**, *75*, 564–568.
- [25] S. Shaik, M. Filatov, D. Schröder, H. Schwarz, *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 193–199.
- [26] B. Concina, M. Neumaier, O. Hampe, M. M. Kappes, *J. Chem. Phys.* **2008**, *128*, 134306.
- [27] K. Q. Tang, A. V. Tolmachev, E. Nikolaev, R. Zhang, M. E. Belov, H. R. Udseth, R. D. Smith, *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 5431–5437.
- [28] a) X. H. Guo, M. Duursma, A. Al-Khalili, L. A. McDonnell, R. M. A. Heeren, *Int. J. Mass Spectrom.* **2004**, *231*, 37–45; b) R. L. Wong, K. Paech, E. R. Williams, *Int. J. Mass Spectrom.* **2004**, *232*, 59–66; c) O. P. Balaj, C. B. Berg, S. J. Reitmeier, V. E. Bondybey, M. K. Beyer, *Int. J. Mass Spectrom.* **2009**, *279*, 5–9.