

Bioanorganische Chemie

Metalloenzyme

◆ Eines der Highlights des letzten Jahres in der bioanorganischen Chemie war die neue Kristallstruktur des Photosystems II aus *Thermosynechococcus vulcanus* mit einer Auflösung von bis zu 1,9 Å.¹⁾ Diese erlaubt es, die Struktur des zentralen Mn_4CaO_5 -Clusters in bisher nicht da gewesenen Detail zu analysieren und insbesondere die an den Cluster gebundenen Aminosäureseitenketten zu identifizieren (Abbildung 1). Weiterhin ließ sich das für den Protonentransfer wichtige Wasserstoffbrückennetzwerk zwischen dem Mn_4CaO_5 -Cluster, dem Tyrosin Tyr_Z als zentralem Elektronenakzeptor und der Proteinoberfläche im Detail auflösen. Diese Strukturdaten liefern die Basis für weitere Einblicke in den molekularen Mechanismus der Sauerstoffbildung durch Oxidation von Wasser.

Interessante Entwicklungen gab es auch bei den Eisen-Schwefel-Clustern. Die prototypischen [4Fe-4S]-Cluster haben wie im Ferredoxin eine Gesamtladung von -2 oder -3. Nur in den High-poten-

tial-iron-sulfur-Proteinen (HiPIPs) ist auch das Redoxpaar -1/-2 zugänglich. Dabei ging man bisher davon aus, dass die [4Fe-4S]²⁺-Cluster stets einen diamagnetischen Grundzustand aufweisen, der durch die antiferromagnetische Austauschwechselwirkung zwischen zwei gemischtvalenten delokalisierten Fe^{+2,5}-Fe^{+2,5}-Paaren mit jeweils $S=1/2$ zu Stande kommt. Hales und Ribbe wiesen dagegen in dem DnifB-NifEN-Protein, das an der Biosynthese des FeMo-Cofaktors (FeMoco) der Nitrogenase beteiligt ist, erstmals einen paramagnetischen Grundzustand für einen [4Fe-4S]²⁻-Cluster nach.²⁾ Temperaturabhängige Veränderungen im Magnetocirculardichroismus(MCD)-Spektrum dieses Clusters belegen eine offenschalige Spezies, vermutlich mit einem Spin von $S=1$ oder 2. Dies könnte das Fehlen eines EPR-Signals erklären. Ein ähnlicher Effekt findet sich auch bei DnifH-MoFe, das ebenfalls an der Biosynthese der Nitrogenase beteiligt ist. Welche strukturellen Merkmale dazu führen, dass beide [Fe-S]-Proteine einen solchen pa-

ramagnetischen Grundzustand aufweisen, ist dagegen noch unbekannt und bedarf weiterer struktureller und spektroskopischer Untersuchungen.

Ungewöhnliche [Fe-S]-Cluster finden sich auch in der Elektronentransfer-Kette einiger [NiFe]-Hydrogenasen. Lenz sowie Lubitz et al. zeigten kürzlich in zwei Arbeiten, dass die Sauerstofftoleranz dieser Enzyme aus *Ralstonia eutropha* und *Aquifex aeolicus* auf einer besonderen Koordinationsumgebung der Eisen-Schwefel-Cluster beruht.^{3,4)} Während [4Fe-4S]-Cluster normalerweise über vier Cysteinate an die Proteinmatrix binden, sind die beiden genannten Enzyme mit fünf bzw. sechs anstelle der vier konservierten Cysteine hyperkoordiniert (Abbildung 2, S. 248). Dadurch wird neben dem -2/-3-Redoxpaar auch der superoxidierte -1-Zustand zugänglich. Man nimmt an, dass das erste Redoxpaar dem normalen Elektronentransfer dient, während der -1/-2-Redoxschritt vor oxidativem Stress schützt. Eine prinzipiell ebenfalls mögliche Bildung einer

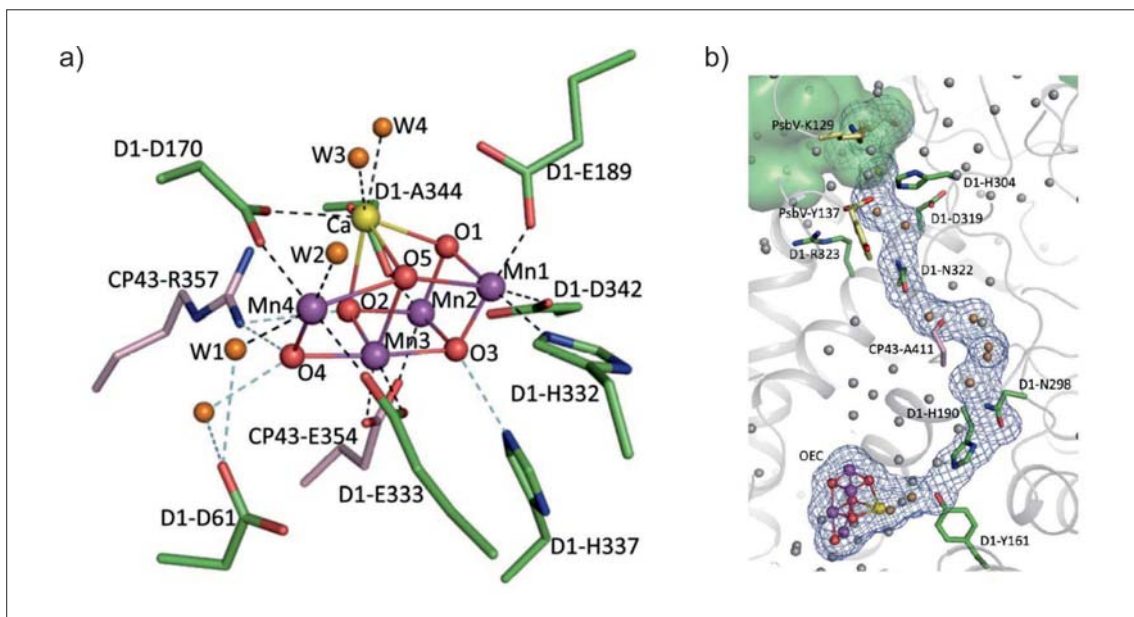


Abb. 1. a) Details der Struktur des Mn_4CaO_5 -Clusters im aktiven Zentrum des Photosystems II aus *T. vulcanus*, gelb: Calcium, violett: Mangan, rot: μ -Oxo-Liganden, orange: Wasser, A: Alanin, freier C-Terminus, D: Asparaginsäure, E: Glutaminsäure, H: Histidin, R: Arginin und b) Wasserstoffbrücken-Netzwerk zwischen dem Mn_4CaO_5 -Cluster, Tyrosin Tyr_Z (Y161) und der lumenalen Öffnung des Enzymkomplexes, oben links in grün hervorgehoben.³⁾

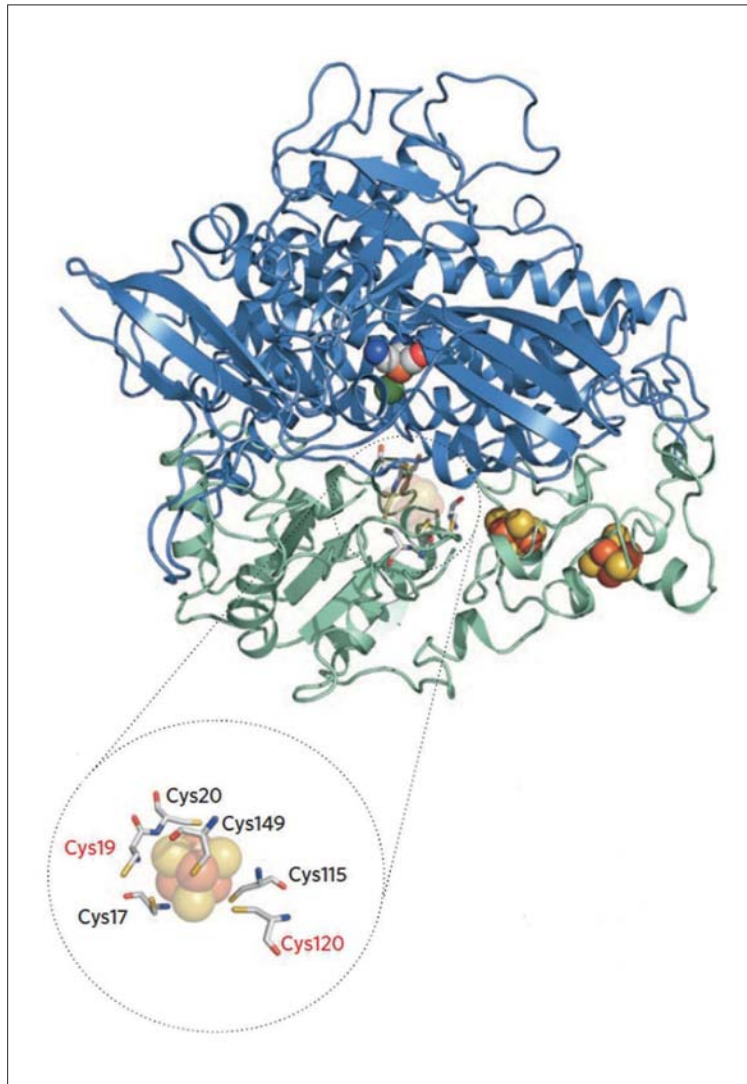


Abb. 2. Struktur und Details des hyperkoordinierten [4Fe-4S]-Clusters der membran- gebundenen Hydrogenase aus *R. eutropha* mit den beiden zusätzlichen Cysteinatliganden Cys19 und Cys120 in rot hervorgehoben.³⁾

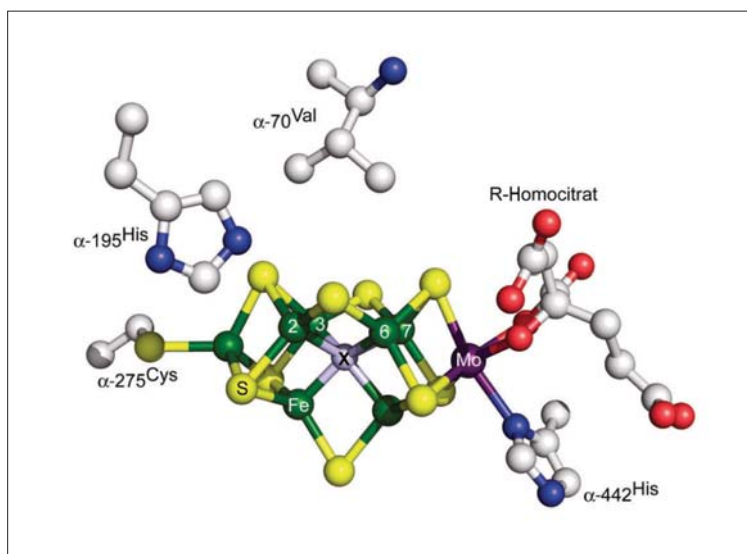


Abb. 3. Struktur des zentralen [7Fe-9S-Mo-Homocitrat-X]-Clusters im MoFe-Protein der Nitrogenase.⁶⁾

Disulfidbrücke durch die beiden zusätzlichen Cysteine lässt sich auf Grund der Mößbauer-Spektren ausschließen. Diese zeigen eine eisenzentrierte Oxidation. Werden diese Cys-Liganden durch Mutagenese gegen Glycin ersetzt, so steigt die Empfindlichkeit gegenüber Sauerstoff wieder signifikant.

Auch wenn Untersuchungen zur Struktur und Funktion der aktiven Zentren von Metalloenzymen weiterhin im Fokus der bioanorganischen Chemie stehen, beschäftigen sich zunehmend mehr Arbeiten mit der Biosynthese und Insertion des Metallzentrums und seiner nichtproteinogenen Liganden sowie dem Transport von Substrat und Produkt zwischen Reaktionszentrum und Medium. Mit Multiskalensimulationen auf der Basis von Molekulardynamikrechnungen klärten so Blumberger und Mitarbeiter den Transport von H_2 und O_2 in das aktive Zentrum einer [NiFe]-Hydrogenase auf.⁵⁾ Für Wasserstoff und Sauerstoff identifizierten sie mehrere sehr ähnliche Diffusionswege durch die Proteinmatrix. Die Ergebnisse geben auch Hinweise darauf, wie der Zugang von O_2 zum aktiven Zentrum durch Austausch von Aminosäuren erschwert werden könnte, was zu einer höheren Oxidationstoleranz führen sollte. Solche Mutanten haben eine erhebliche Bedeutung für die nachhaltige enzymatische Erzeugung von Wasserstoff als alternative Energiequelle.

Weitere interessante Entwicklungen gab es auch bei anderen Nickelenzymen. So wurde für die Methyl-Coenzym M-Reduktase (MCR), die den finalen Schritt der Methanogenese aus Methyl-Coenzym M und Coenzym B katalysiert, in einer 1,2-Å-Kristallstruktur eine Methyl-Nickel-Spezies identifiziert. Diese Spezies liefert Hinweise auf den Mechanismus dieser wichtigen Reaktion, welche die Hauptquelle des Treibhausgases Methan ist.

Auch die Nitrogenase, welche die Reduktion von N_2 zu Ammoniak als biogener Stickstoffquelle un-

ter ATP-Verbrauch katalysiert, stand im Jahr 2011 weiterhin im Fokus. Wesentlich Aspekte des Mechanismus sind allerdings weiterhin unklar. Mit fortgeschrittenen EPR-Methoden zeigten Hoffman et al. jedoch kürzlich, dass der zentrale [7Fe-9S-Mo-Homocitrat-X]-Cluster im FeMo-Protein (Abbildung 3) während der 8-Elektronen-Reduktion von N_2 zu 2 NH_3 und H_2 lediglich zwischen zwei verschiedenen Oxidationsstufen hin und her wechselt. Eine davon entspricht dem Ruhezustand M^N , während der zweite Zustand M^R um ein Elektron ärmer ist.⁶⁾ Detaillierte dichte-funktionaltheoretische Untersuchungen von Harris und Szilagyi erlaubten es zudem, das aktive Zentrum in Abhängigkeit vom Protonierungsgrad des Homocitrat und Histidin umfassend zu charakterisieren. Berechnet wurden unter anderem die Reduktionspotenziale verschiedener Oxidationszustände sowie deren Spindichte- und Mößbauer-Parameter und EPR-Hyperfeinkopplungskonstanten. Diese Ergebnisse geben auch Hinweise auf die Natur des μ_6 -Liganden X im Zentrum des Clusters, dessen Identität immer noch nicht geklärt ist. Während ein O^{2-} -Zentrum ausgeschlossen wird, stehen N^{3-} oder C^{4-} grundsätzlich mit den Rechnungen im Einklang. Mit allen zum Vergleich herangezogenen Kriterien zeigt jedoch die Formulierung als $[4Fe^{II}-3Fe^{III}-Mo^{IV}-C^{4-}+H]$ die beste Übereinstimmung.⁷⁾ Ein solcher sechsfach koordinierter zentraler Carbidgebund (μ_6-C^{4-}) ist bisher ohne Vorbild in der Natur und bedarf daher dringend weiterer experimenteller Belege. Diese liefern kürzlich veröffentlichte Untersuchungen auf der Basis der Röntgenemissions-Spektroskopie (X-ray emission spectroscopy, XES).⁸⁾ In der verwendeten $K\beta$ -XES detektiert man Röntgenphotonen, die nach der Ionisierung eines Metall-1s-Elektrons beim Übergang von Elektronen in das Loch in der 1s-Schale emittiert werden. In der Valence-to-core-Region (V2C) stammen diese aus ns- oder np-Or-

bitalen der Liganden. Die koordinierten Atome beeinflussen daher direkt die V2C-XES-Bandenlagen und ermöglichen es so, den Carbidgebund im Zentrum des Fe-Mo-Clusters zu identifizieren. Dies wurde kürzlich auch durch eine

neue 1,0-Å-Kristallstruktur belegt.⁹⁾ Ob dieser direkt am katalytischen Zyklus beteiligt ist, und auf welchem Biosyntheseweg das C^{4-} -Zentrum in die Nitrogenase eingebaut wird, sind spannende offene Fragen. →

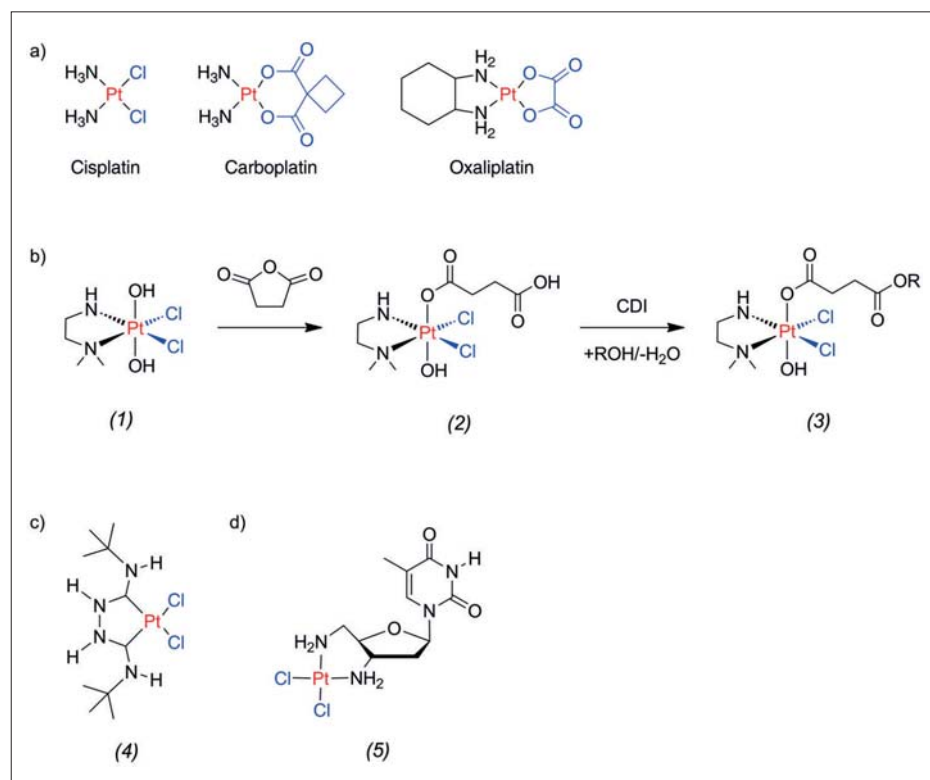


Abb. 4. a) Für die Chemotherapie von Krebserkrankungen zugelassene Platin(II)-verbindungen Cisplatin, Carboplatin und Oxaliplatin, b) Synthese eines Platin(IV)-Prodrugs und Cisplatin-Analoga auf der Basis c) eines Bis-Carbens sowie d) eines Nucleosid-Derivats.

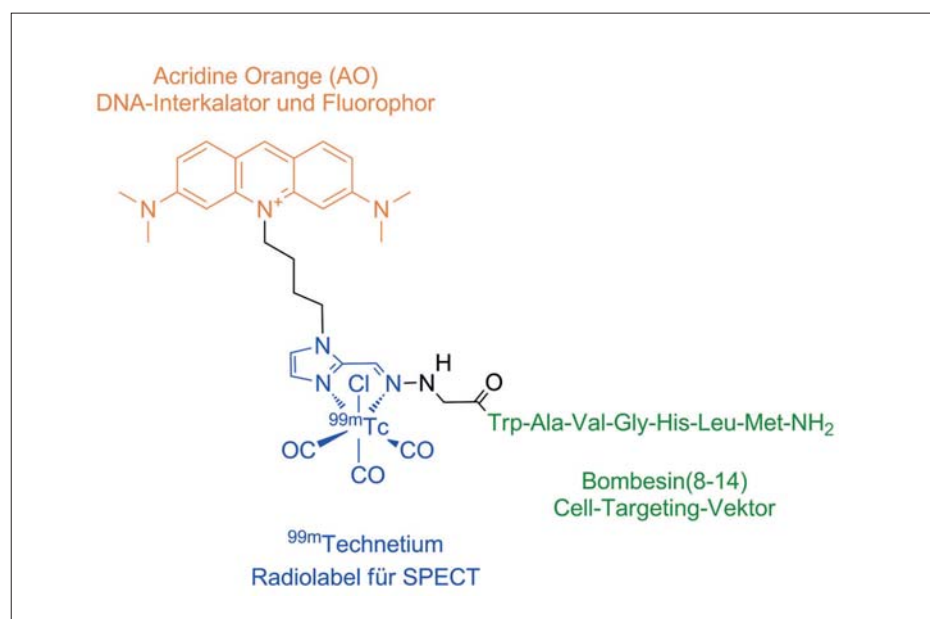


Abb. 5. Polyfunktionelles Biokonjugat mit (orange) Acridine Orange als DNA-Interkalator und Fluorophor, (blau) ^{99m}Tc -Technetiumtricarboxyl-Komplex für das Radioimaging mit Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie und (grün) Heptapeptid Bombesin(8-14) als Cell-Targeting-Vektor.

Interessante Ergebnisse gab es auch – wiederum von Ribbe in Zusammenarbeit mit Hodgson und Hedman et al. – zur Biosynthese der Nitrogenase, dem wohl komplexesten Metalloenzym in der Natur.¹⁰⁾ Dabei spielt das NifEN-Protein eine wichtige Rolle als Gerüst für die Reifung des FeMo-Cofaktors, der erst nach seinem vollständigen Aufbau in das MoFe-Protein einschiebt. Erstmals wurde die Vorstufe des FeMo-Cofaktors aus dem NifEN-Protein isoliert und mit EPR- sowie XAS/EXAFS-Spektroskopie umfassend charakterisiert. Um die experimentellen Daten der Röntgenabsorptionsspektroskopie (XAS) anpassen zu können, war es jedoch notwendig ein zusätzliches Eisenzentrum in das Modell einzuführen, und zwar an einer terminalen Position anstelle der Molybdän-Homocitrat-Gruppe. Dieses achte Eisenzentrum wird dann erst während des weiteren Biosyntheseprozesses und nach der Insertion in das MoFe-Protein durch Molybdän ersetzt.

Medizinische anorganische Chemie

◆ In der medizinischen anorganischen Chemie zeigte sich, dass man mit Kreativität selbst seit mehreren Jahrzehnten etablierten Leitstrukturen wie dem Cisplatin und seinen ebenfalls für klinische Anwendungen zugelassenen Derivaten (Abbildung 4, S. 249) noch neue Aspekte hinzufügen und dabei eine interessante Synthesechemie entwickeln kann.

So erhielten Keppler et al. durch Reaktion von $[\text{Pt}(\text{Me}_2\text{en})(\text{OH})_2\text{Cl}_2]$ (1) mit Succinanhidrid die oktaedrische Platin(IV)-Verbindung (2) (Abbildung 4), deren freie Carboxylatgruppe dann in der Koordinationssphäre des Metalls mit verschiedenen Alkoholen zu (3) verestert wurde. Es wird angenommen, dass solche Komplexe als Prodrugs fungieren, die erst in der Zelle zu aktiven Platin(II)-Spezies reduziert werden. Dabei zeigte sich, dass die wachstumshemmende Aktivität der Verbindungen von der Art der

Estergruppe abhängt. Insbesondere gegenüber der CH1-Krebszelllinie zeigten die *n*-Propyl- und *n*-Pentylester eine im Vergleich zu Cisplatin um eine Größenordnung höhere Aktivität mit IC_{50} -Werte im mittleren nanomolaren Bereich.¹¹⁾ Gautier und Mitarbeiter stellten auf der Basis des Tschugajew-Carbens, eines bis-acyclischen Diaminocarbens (bis-ADC), ein Cisplatin-Analog (4) her, das eine der Stammverbindung vergleichbare Aktivität zeigt und mit hoher Affinität an zelluläre Thiole wie Cystein und Gluthathion bindet. Im Gegensatz zum Cisplatin bleibt jedoch der bis-ADC-Ligand an das Metallzentrum gebunden.¹²⁾

Zudem synthetisierten Gottschaldt und Prokop das Cisplatin-Analog (5) auf der Basis eines modifizierten Nukleosids 3',5'-Diamino-3,5'-dideoxythymidin (daher auch Thymi-platin getauft), das in Lymphom-Zellen den programmierten Zelltod (Apoptose) aktiviert. Dieser wird vermutlich über einen mitochondrienabhängigen Weg induziert. Dabei überwindet (5) die Resistenz von NALM6-Zellen gegenüber den organischen Wirkstoffen Vincristin und Daunorubicin.¹³⁾

In der medizinischen Bildgebung gewinnen multimodale Sonden und Theranostika immer mehr an Bedeutung. Erstere vereinen mehrere Imaging-Modalitäten in einem Molekül, um so eine Detektion mit verschiedenen Methoden zu ermöglichen. Theranostika kombinieren einen therapeutisch aktiven Molekülbaustein mit einer diagnostischen Funktion, so dass deren Verteilung in Zellen und Geweben untersucht werden kann und eine individuelle Therapiekontrolle möglich wird. Unter den vielen in letzter Zeit veröffentlichten Systemen soll hier das in Abbildung 5 (S. 249) gezeigte Konjugat aus der Gruppe von Alberto in Zürich vorgestellt werden. Das über eine elegante Synthesestrategie gewonnene Konjugat vereint in einem Molekül ein Peptid als Targeting-Vektor, einen DNA-affinen Fluoro-

phor und ein $^{99\text{m}}$ Technetium-Zentrum als Marker für das Radioimaging mit Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie (single photon emission computed tomography, SPECT).¹⁴⁾

Ulrich Schatzschneider,

Jahrgang 1971, ist seit September 2010 Professor für bioanorganische Chemie an der Universität Würzburg. Seine Forschungsinteressen gelten diagnostischen und therapeutischen Anwendungen von Übergangsmetallkomplexen, insbesondere den „CO releasing molecules“ (CORMs).



Literatur

- 1) Y. Umena, K. Kawakami, J.-R. Shen, N. Kamiya, *Nature* 2011, 473, 55–61.
- 2) K. Rupnik, C.C. Lee, Y. Hu, M. W. Ribbe, B. J. Hales, *J. Am. Chem. Soc.* 2011, 133, 6871–6873.
- 3) T. Goris, A.F. Wait, M. Saggu, J. Fritsch, N. Heidary, M. Stein, I. Zebger, F. Lenzian, F. A. Armstrong, B. Friedrich, O. Lenz, *Nat. Chem. Biol.* 2011, 7, 310–318.
- 4) M.-E. Pandelia, W. Nitschke, M.-T. Giudici-Orticoni, E. Bill, W. Lubitz, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2011, 108, 6097–6102.
- 5) P.-H. Wang, R.B. Best, J. Blumberger, *J. Am. Chem. Soc.* 2011, 133, 3548–3556.
- 6) P. E. Doan, J. Teslser, B.M. Barney, R. Y. Ggarashi, D. R. Dean, L. C. Seefeldt, B. M. Hoffman, *J. Am. Chem. Soc.* 2011, 133, 17329–17340.
- 7) T. V. Harris, R. K. Szilagyi, *Inorg. Chem.* 2011, 50, 4811–4824.
- 8) K. M. Lancaster, M. Römel, P. Ettenhuber, Y. Hu, M. W. Ribbe, F. Neese, U. Bergmann, S. DeBeer, *Science* 2011, 334, 974–977.
- 9) T. Spatzal, M. Aksoyoglu, L.-P. Zhang, S. L. A. Andrade, E. Schleicher, S. Weber, D. C. Rees, O. Einsle, *Science* 2011, 334, 940.
- 10) A. W. Fay, M. A. Blank, C. C. Lee, Y. Hu, K. O. Hodgson, B. Hedman, M. W. Ribbe, *Angew. Chem.* 2011, 123, 7933–7936.
- 11) V. Pichler, S. M. Valiahi, M. A. Jakupec, V. B. Arion, M. Galanski, B. K. Keppler, *Dalton Trans.* 2011, 40, 8187–8192.
- 12) G. Alves, L. Morel, M. El-Ghozzi, D. Avignant, B. Legeret, L. Nauton, F. Cisnetti, A. Gautier, *Chem. Commun.* 2011, 47, 7830–7832.
- 13) L. A. Onambele, D. Koth, J. A. Czaplowska, U. S. Schubert, H. Görls, S. Yano, M. Obata, M. Gottschaldt, A. Prokop, *Chem. Eur. J.* 2010, 16, 14498–14505.
- 14) K. Zelenka, L. Borsig, R. Alberto, *Bioconjugate Chem.* 2011, 22, 958–967.