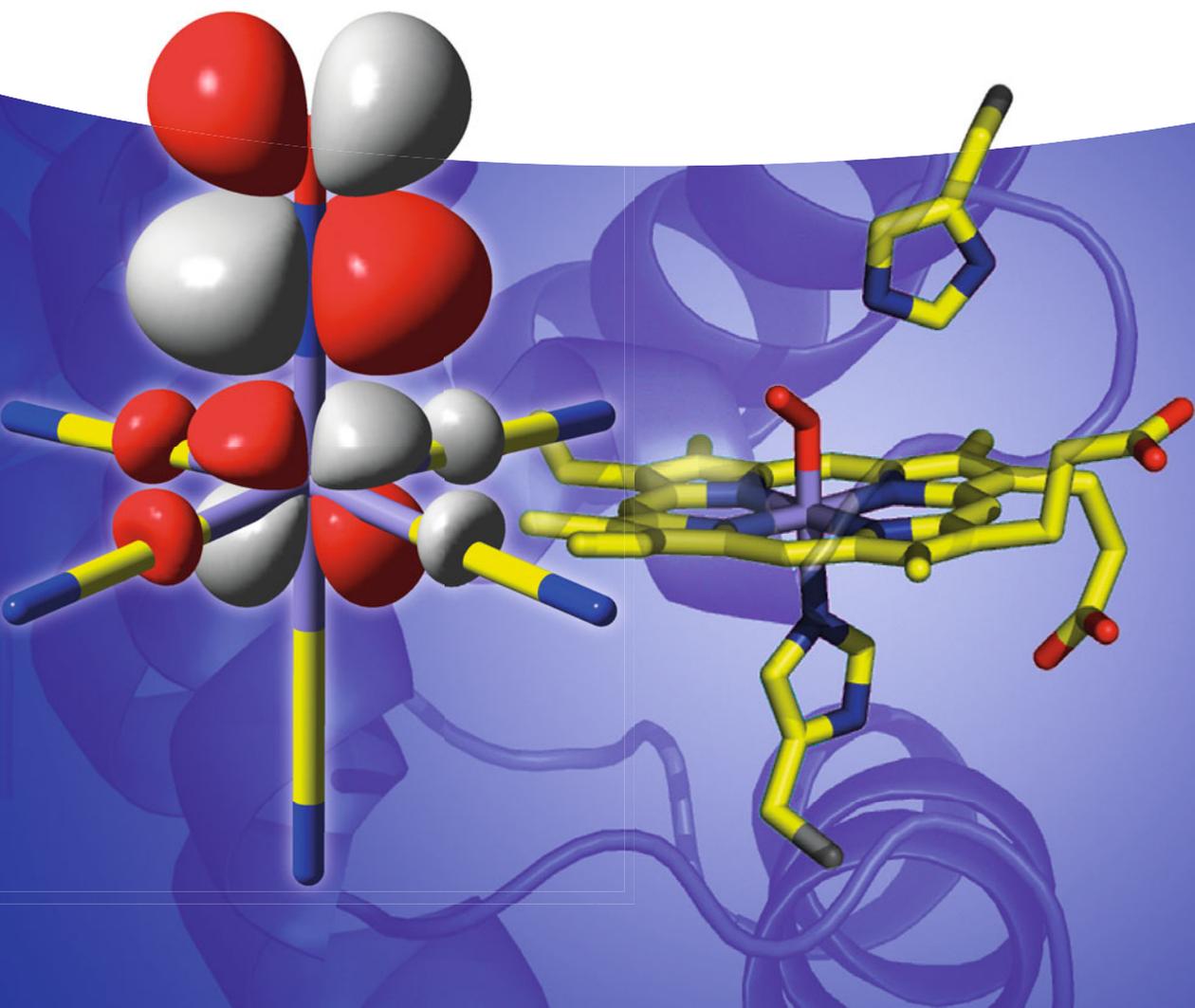


Sonja Herres-Pawlis und Peter Klüfers

Bioanorganische Chemie

Metalloproteine, Methoden und Modelle



*Sonja Herres-Pawlis und
Peter Klüfers*

Bioanorganische Chemie

Sonja Herres-Pawlis und Peter Klüfers

Bioanorganische Chemie

Metalloproteine, Methoden und Konzepte

WILEY-VCH
Verlag GmbH & Co. KGaA

Autoren

Sonja Herres-Pawlis

RWTH Aachen
Institut für Anorganische Chemie
Lehrstuhl für Bioanorganische Chemie
Landoltweg 1
52074 Aachen
Deutschland

Peter Klüfers

LMU München
Lehrstuhl für Bioanorganische Chemie
und Koordinationschemie
Butenandtstr. 5–13, Haus D
81377 München
Deutschland

Titelbild

Metalloproteine erschließen sich durch koordinationschemische Konzepte: Orbitalbetrachtungen wie im oktaedrischen Lowspin-Komplex $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{2-}$, dessen Natriumsalz ein Wirkstoff der WHO-essential-medicines-Liste ist, erhellen auch die O_2 -Bindung in Myoglobin.

■ Alle Bücher von Wiley-VCH werden sorgfältig erarbeitet. Dennoch übernehmen Autoren, Herausgeber und Verlag in keinem Fall, einschließlich des vorliegenden Werkes, für die Richtigkeit von Angaben, Hinweisen und Ratschlägen sowie für eventuelle Druckfehler irgendeine Haftung.

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

©2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Boschstr. 12, 69469 Weinheim, Germany

Alle Rechte, insbesondere die der Übersetzung in andere Sprachen, vorbehalten. Kein Teil dieses Buches darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form – durch Photokopie, Mikroverfilmung oder irgendein anderes Verfahren – reproduziert oder in eine von Maschinen, insbesondere von Datenverarbeitungsmaschinen, verwendbare Sprache übertragen oder übersetzt werden. Die Wiedergabe von Warenbezeichnungen, Handelsnamen oder sonstigen Kennzeichen in diesem Buch berechtigt nicht zu der Annahme, dass diese von jedermann frei benutzt werden dürfen. Vielmehr kann es sich auch dann um eingetragene Warenzeichen oder sonstige gesetzlich geschützte Kennzeichen handeln, wenn sie nicht eigens als solche markiert sind.

Print ISBN 978-3-527-33615-9

ePDF ISBN 978-3-527-67549-4

ePub ISBN 978-3-527-67548-7

Mobi ISBN 978-3-527-67547-0

Umschlaggestaltung Grafik-Design Schulz, Fußgönheim, Deutschland

Satz le-tex publishing services GmbH, Leipzig, Deutschland

Gedruckt auf säurefreiem Papier.

Inhaltsverzeichnis

Vorwort *XIII*

Teil I Die Koordinationschemie von Metalloenzymzentren 1

- 1 Säure-Base-Katalyse bei physiologischem pH-Wert: Zink(II) in Carboanhydrase und hydrolytischen Zinkenzymen 3**
 - 1.1 Carboanhydrasen 4
 - 1.1.1 Molekülbau von humaner Carboanhydrase II (hCA II) 4
 - 1.1.2 CA-Katalysezyklus 6
 - 1.1.3 Cadmium als Zentralmetall in einer ζ-CA 7
 - 1.2 Alkoholdehydrogenase 8
 - 1.3 Hydrolytische Zinkenzyme, Klasse-II-Aldolase 8
 - 1.4 Nicht katalytische Zinkzentren 9
 - 1.5 Literatur 11

- 2 Funktion und Inhibition katalytischer Zentren: Urease und Ureasehemmstoffe 15**
 - 2.1 Harnstoff im Stickstoffstoffwechsel 15
 - 2.2 Molekülbau von Urease 16
 - 2.3 Ureasekatalysezyklus 17
 - 2.4 Ureasehemmung durch Diamidophosphat 18
 - 2.5 Ureasebiosynthese: Nickeleinbau durch UreE 19
 - 2.6 Elementaranalyse an kristalliner Urease: Sumners Irrtum 20
 - 2.7 Literatur 22

- 3 Superoxidreduktion in Anaerobiern: Rubredoxin (Rd) und Superoxidreduktasen (SORs) 25**
 - 3.1 O_2^- -Reduktion 25
 - 3.2 Rubredoxin (Rd) 26
 - 3.2.1 Aufbau von Rubredoxin 26
 - 3.2.2 Das elektrochemische Potenzial von Rubredoxin: Thermodynamik der e^- -Übertragung 27

- 3.3 Desulforedoxin (Dx) 29
- 3.4 Reorganisationsenergie einkerniger Highspin-Eisenzentren:
Kinetik der e^- -Übertragung 30
- 3.5 Superoxidreduktasen (SORs) 31
 - 3.5.1 Molekülbau von SORs 31
 - 3.5.2 SOR-Katalysezyklus 32
- 3.6 Literatur 33

- 4 Anionische Liganden senken das elektrochemische Potenzial:
[2Fe-2S]-Ferredoxine und Rieske-Zentren 35**
 - 4.1 Zweikernige Eisen-Schwefel-Proteine 35
 - 4.2 [2Fe-2S]-Ferredoxin 35
 - 4.3 Rieske-Zentren 36
 - 4.4 Oxidationsstufen und Redoxpotenziale 37
 - 4.5 Biosynthese von Fe-S-Clustern 38
 - 4.6 Literatur 39

- 5 [4Fe-4S]-Cluster: Ein „altes“ Zentrum mit vielen Funktionen 41**
 - 5.1 Ein Blick in die Evolution 42
 - 5.2 [4Fe-4S]-Ferredoxine und HP-Proteine 42
 - 5.2.1 [4Fe-4S]-Cluster als $1e^-$ -Überträger 42
 - 5.2.2 Molekülbau von [4Fe-4S]-Ferredoxinen 43
 - 5.2.3 2[4Fe-4S]-Cluster 43
 - 5.3 [3Fe-4S]-Cluster 43
 - 5.4 [4Fe-3S]-Cluster 44
 - 5.5 Aconitase 45
 - 5.5.1 Molekülbau von Aconitase 46
 - 5.5.2 Aconitasekatalysezyklus 47
 - 5.6 IspG und IspH 48
 - 5.7 Radikal-SAM-Enzyme 49
 - 5.7.1 Molekülbau von Radikal-SAM-Enzymen 49
 - 5.7.2 Bildung von 5'-Adenosylradikalen 51
 - 5.7.3 Eisen-Schwefel-Cluster als Schwefelquellen 51
 - 5.8 Literatur 52

- 6 Katalyse einer Redoxreaktion: Mangan- und Eisensuperoxiddismutase
(MnSOD, FeSOD) 55**
 - 6.1 O_2^- -Disproportionierung 55
 - 6.2 Molekülbau von Fe-, Mn- und Fe/Mn-SODs 56
 - 6.3 Mn/Fe-SOD-Katalysezyklus 57
 - 6.4 Weitere SODs 59
 - 6.5 Literatur 59

- 7 Mononukleare Nichthäm-Eisen-Enzyme 61**
 - 7.1 Isopenicillin-N-Synthase 63

7.2	Naphthalin-1,2-Dioxygenase, eine Rieske-Dioxygenase	65
7.3	Phenylalaninhydroxylase (PAH)	66
7.3.1	Monooxygenierung von Phenylalanin	67
7.3.2	Aufbau von PAH	68
7.3.3	O ₂ -Aktivierung und Regulierung	69
7.3.4	Bio- <i>Anorganisches</i> : Die Elektronenstruktur eines Highspin-Fe ^{IV} =O-Zentrums	69
7.3.5	Reaktionen der transienten Fe ^{IV} =O-Spezies	72
7.4	Literatur	73
8	O-Atom-Transfer: Der Molybdopterin-Kofaktor	75
8.1	Einkernige Molybdän-Enzyme	75
8.2	Sulfitoxidase	76
8.2.1	Katalyse	77
8.3	MoCu-CO-Dehydrogenase	80
8.4	Literatur	81
9	Ein Strukturelement – viele Funktionen: Oxidodieisenzentren	83
9.1	Hämerythrin (Hr)	84
9.1.1	Molekülbau von Hämerythrin	84
9.1.2	Sauerstofftransport in Hr	84
9.2	Lösliche Methanmonooxygenase (sMMO)	85
9.2.1	Methanotrophe Bakterien	85
9.2.2	Die Hydroxylasekomponente (sMMOH) der löslichen Methanmonooxygenase	86
9.2.3	sMMO-Katalyse	87
9.3	Ribonukleotidreduktase	88
9.4	Flavodieisenenzyme	89
10	Bioliganden und Bindungsmodelle	93
10.1	Histidin	94
10.2	Aspartat und Glutamat	95
10.3	Cysteinat	95
10.4	Tyrosinat	96
10.5	Methionin	96
10.6	Porphyrinliganden	96
10.7	Literatur	98
11	High- und Lowspin-Eisen: Myoglobin und Hämoglobin	101
11.1	O ₂ -Transport	101
11.2	deoxyMb	102
11.3	oxyMb	103
11.4	MbCO	104
11.5	¹ Fe ^{II} - ¹ O ₂ , ² Fe ^{III} - ² O ₂ ^{•-} oder ³ Fe ^{II} - ³ O ₂ ?	106
11.6	metMb	109

- 11.7 Dynamik der Be- und Entladung von Mb 110
- 11.8 Literatur 110

- 12 Häm-NO-Komplexe: P450_{nor}, Nitrophorine, MbNO, lösliche Guanylatcyclase (sGC) 113**
- 12.1 Cytochrom P450_{nor}, eine fungale NO-Reduktase 116
- 12.2 Die Fe-NO-Bindung in Häm- $\{FeNO\}^6$ -Zentren 117
- 12.3 Nitrophorine 119
- 12.4 NO-beladenes Mb, ein $\{FeNO\}^7$ -Zentrum 120
- 12.5 Die Fe-NO-Bindung in Häm- $\{FeNO\}^7$ -Zentren 120
- 12.6 Lösliche Guanylatcyclase (sGC) 121
- 12.7 Literatur 122

- 13 Redoxkatalyse mit Hämzentren: Cytochrom c, Katalase, Cytochrom P450 125**
- 13.1 Cytochrom c 125
- 13.2 Häm-Katalase 126
- 13.3 Cytochrom P450 127
- 13.4 NO-Synthasen 130
- 13.5 Literatur 131

- 14 Redoxchemie bei hohem Potenzial: blaue Kupferproteine und Cu_A-Zentren 133**
- 14.1 Blaue Kupferzentren 136
- 14.2 Plastocyanin 136
 - 14.2.1 Molekülbau von Plastocyanin 136
 - 14.2.2 Das Modell vom entatischen Zustand 137
 - 14.2.3 Der elektronische Grundzustand des Plastocyaninzentrum 137
 - 14.2.4 Die Bedeutung kovalenter Bindungen in Kupferzentren 139
- 14.3 Cu_A-Zentren 140

- 15 Aktivierung von O₂-Spezies in Kupfer-Redox-Zentren: O₂-Transport, Oxygenase-, Oxidase- und SOD-Aktivität 143**
- 15.1 Hämocyanin (Hc) 143
 - 15.1.1 Molekülbau von Hämocyanin 143
 - 15.1.2 TS-3-Cu^{II}(His)₃ – ein starkes Oxidationsmittel 144
- 15.2 Tyrosinase 146
 - 15.2.1 Molekülbau von Tyrosinase 146
 - 15.2.2 Oxidationszustände und Reaktionsschritte 147
- 15.3 Partikuläre Methanmonooxygenase (pMMO) 148
- 15.4 CuZnSOD 149
 - 15.4.1 Der Molekülbau von CuZnSOD 149
 - 15.4.2 Katalysezyklus 150
- 15.5 Mononukleare Cu-Monooxygenasen 151
- 15.6 Kupfer(III) in der Biochemie? 152
- 15.7 Literatur 153

- 16 Proteinogene Radikale als Liganden: Galactose-Oxidase (GO) und Cytochrom-c-Oxidase (CcO) 155**
 - 16.1 Galactose-Oxidase 155
 - 16.1.1 Molekülbau von GO 156
 - 16.1.2 Katalyse 157
 - 16.2 Cytochrom-c-Oxidase (CcO) 158
 - 16.2.1 Struktur des Häm-a₃-Cu_B-Zentrums in Cytochrom-c-Oxidase 159
 - 16.2.2 Katalysezyklus 160
 - 16.3 Literatur 161

- 17 Vierelektronen-Katalyse, zweiter Teil: Der O₂-freisetzende Komplex in Photosystem II 163**
 - 17.1 Die fünf Zustände 163
 - 17.2 Die Struktur des Photosystems II 164
 - 17.3 Oxidationszustände des OEC und Katalysezyklus 166
 - 17.4 Synthetische Katalysatoren für die Wasseroxidation 168
 - 17.4.1 Redoxkatalyse mit Manganoxiden 169
 - 17.5 Literatur 169

- 18 Hydrogenasen 171**
 - 18.1 H₂-Aktivierung 171
 - 18.2 [NiFe]-Hydrogenasen 172
 - 18.2.1 Katalysezyklus 173
 - 18.2.2 Der μ -Hydrido-Zustand 174
 - 18.2.3 Die Biosynthese des aktiven Zentrums 174
 - 18.3 [FeFe]-Hydrogenase 175
 - 18.4 [Fe]-Hydrogenase (Hmd) 177
 - 18.5 Literatur 178

- 19 Nitrogenase 181**
 - 19.1 N₂-Reduktion 181
 - 19.2 Molekülbau von Nitrogenase 182
 - 19.3 Katalysezyklus 183
 - 19.4 Biosynthese von P- und M-Cluster 184
 - 19.5 Literatur 185

- 20 Organometallchemie in Organismen I: cobalaminabhängige Methioninsynthase 187**
 - 20.1 Vitamin-B₁₂-Derivate 187
 - 20.2 Methioninsynthase 188
 - 20.2.1 Methioninsynthase: Molekülbau und Oxidationsstufen 188
 - 20.2.2 Katalysezyklus 189
 - 20.3 Literatur 191

21	Organometallchemie in Organismen II: CO-Dehydrogenase/Acetyl-CoA-Synthase	193
21.1	CO ₂ -Reduktion: anaerobe CO-Dehydrogenasen und bifunktionelle CODH/ACSs	193
21.2	Der C-Cluster in NiCODHs	194
21.3	Der A-Cluster in NiCODHs	196
21.3.1	Die Struktur des A-Clusters in CODH/ACS	196
21.3.2	A-Cluster-Katalyse	197
21.4	Literatur	197
22	Ein technisch genutztes Metallenzym: Xylose-Isomerase („Glucose-Isomerase“)	201
22.1	Xylose-Isomerase	201
22.1.1	Molekülbau von Xylose-Isomerase	202
22.1.2	Katalyse	204
22.2	Literatur	205
23	Eisenstoffwechsel	207
23.1	Metallstoffwechsel	207
23.2	Transferrin	210
23.3	Bakterielle Siderophore	212
24	Koordinationschemische „Steckbriefe“ einiger Zentralmetalle	215
25	Elektrochemische Potenziale von Sauerstoffspezies bei pH 7	219
Teil II Der Blick aufs Metall:		
Grundlegende und spezielle Methoden		
26	Strukturanalyse von Proteinen	223
26.1	Kristallisation der Proteine	223
26.2	Röntgenbeugung	224
26.3	Röntgenstrukturanalyse	227
26.3.1	Methode des isomorphen Ersatzes	228
26.3.2	MAD-Methode (<i>Multiwavelength Anomalous Dispersion</i>)	229
26.3.3	Methode des molekularen Ersatzes (MR)	230
26.4	Die Strukturverfeinerung	230
26.5	Literatur	232
27	UV/Vis-, Fluoreszenz- und CD-Spektroskopie	233
27.1	Allgemeine Grundlagen der UV/Vis-Spektroskopie	233

- 27.2 Technisches 238
- 27.3 Allgemeine Grundlagen der Fluoreszenzspektroskopie 239
- 27.4 Technisches 242
- 27.5 Fluoreszenzlöschung 243
- 27.6 Förster-Energie-Transfer 244
- 27.7 Allgemeine Grundlagen der CD-Spektroskopie 245
- 27.8 Zusammenfassung 248
- 27.9 Literatur 248

- 28 Elektrochemie 249**
- 28.1 Allgemeine Grundlagen 249
- 28.2 Cyclovoltammetrie 250
- 28.3 Einfluss der Diffusion 253
- 28.4 Reversible Systeme 254
- 28.5 Quasireversible und irreversible Systeme 256
- 28.6 Wichtige Kenngrößen 256
- 28.7 Technische Details 257
- 28.8 Pulsvoltammetrie 259
- 28.9 Differenzielle Pulsvoltammetrie 260
- 28.10 Square Wave Voltammetrie 261
- 28.11 Theorie des Elektronentransfers 262
- 28.12 Zusammenfassung 265
- 28.13 Literatur 265

- 29 Theoretische Methoden 267**
- 29.1 Allgemeine Grundlagen 267
- 29.2 Dichtefunktionaltheorie 270
- 29.3 Beschreibung des Lösungsmittels 274
- 29.4 Optimierung der Geometrie 276
- 29.5 Berechnung thermodynamischer und optischer Eigenschaften 278
- 29.5.1 Frequenzen, Energien 278
- 29.5.2 UV/Vis-Spektren 280
- 29.5.3 NMR- und EPR-Spektren 281
- 29.5.4 Molekülorbitale und Ladungsverteilungen 282
- 29.6 Zusammenfassung 284
- 29.7 Literatur 284

- 30 Resonanz-Raman-Spektroskopie 285**
- 30.1 Der Raman-Effekt 285
- 30.2 Resonanz-Raman-Spektroskopie 287
- 30.3 Technisches 289
- 30.4 Anwendung 291
- 30.5 Zusammenfassung 292
- 30.6 Literatur 292

31	Röntgenabsorptionsspektroskopie	293
31.1	Allgemeine Grundlagen	293
31.2	Technisches	295
31.3	Auswertung	296
31.4	Anwendung	298
31.5	Zusammenfassung	300
31.6	Literatur	300
32	Mößbauer-Spektroskopie	301
32.1	Allgemeine Grundlagen	301
32.2	Technisches	302
32.3	Mößbauer-Spektren und ihre Parameter	303
32.4	Anwendung: Rieske-Proteine	305
32.5	Zusammenfassung	306
32.6	Literatur	306
33	Elektronenspinresonanzspektroskopie	307
33.1	Allgemeine Grundlagen	307
33.2	Technisches	309
33.3	Spin-Bahn-Kopplung	310
33.4	Hyperfeinkopplung	311
33.5	Systeme mit einem Spin $> 1/2$	313
33.6	Anwendung I: Blaue Kupferproteine	314
33.7	Anwendung II: Eisen-Porphyrin-Systeme	315
33.8	Moderne Entwicklungen	316
33.9	Zusammenfassung	317
33.10	Literatur	318
34	Magnetische Messungen mit SQUID	319
34.1	Allgemeine Grundlagen	319
34.2	Technisches	321
34.3	Anwendung	322
34.4	Zusammenfassung	322
34.5	Literatur	323
	Sachverzeichnis	325

Vorwort

Dieses Buch geht auf Vorlesungen zurück, die wir in den vergangenen Jahren an der LMU München gelesen haben, und zwar auf die Vorlesung *Bioanorganische Chemie* des Bachelor-Studiengangs *Chemie und Biochemie* und auf die Spezialvorlesung des Chemie-Masterstudiengangs *Spektroskopische Methoden der Bioanorganischen Chemie*.

Teil I: Die Koordinationschemie von Metalloenzymzentren

Der erste Teil dieses Buches entspricht in seinem didaktischen Ziel in etwa einer zweistündigen Vorlesung „Bioanorganische Chemie“, die im Curriculum der LMU München für das sechste Semester des Bachelorstudienganges vorgesehen ist. Das Hauptziel besteht darin, die koordinationschemischen Regeln, welche die Studierenden in einer ebenfalls zweistündigen Vorlesung im vierten Fachsemester kennenlernen, in den Strukturen und Reaktionen der aktiven Zentren von Metalloproteinen wiederzufinden. Die Beschränkung der Bioanorganischen Chemie auf Metalloproteine ergab sich im Laufe der Jahre als geeignetes didaktisches Hilfsmittel, um das genannte Hauptziel zu erreichen. (Therapeutika wie Cisplatin werden an der LMU im Rahmen der einführenden koordinationschemischen Vorlesung behandelt, nicht in der Bioanorganischen Chemie.) Diese Einteilung wurde beibehalten, der Stoff wurde lediglich so vermehrt, dass ein „rundes“ Bild dieses interessanten und sich schnell entwickelnden Faches entsteht. Würde man jetzt umgekehrt den ersten Teil des Buches als Vorlesung halten, so wäre diese näherungsweise vierstündig.

Die Gliederung zeichnet nicht, wie in Biochemie-Lehrbüchern sinnvollerweise üblich, Stoffwechsel- oder Signaltransduktionswege nach. Die Abfolge der behandelten Enzymzentren richtet sich vielmehr nach der koordinationschemischen Komplexität. Auf die einfache Säure-Base-Katalyse (Zinkenzyme, Nicht-Redox-Nickelenzyme) folgt daher die Redoxchemie an Highspin-Zentren (Eisen-Schwefel-Enzyme) und Reaktionen mit Sauerstoffspezies ohne Spinwechsel am Zentralmetall (Mangan-SOD, Nichthäm-Eisenenzyme, Molybdopterin, Oxodieisenzentren), dann folgen die Koordination und die Redoxkatalyse an Lowspin-Zentren oder unter Wechsel des Gesamtspins (Hämenzyme), um schließlich

mit den Kupferenzymen aktive Zentren zu behandeln, bei denen die Modulation der Orbitalenergien des Zentralmetalls reaktionssteuernd ist. (Bei den Redoxenzymen geht die so gewählte Abfolge mit einem Ansteigen des elektrochemischen Potentials einher.) Es folgen größere, eigenständige Themen, die viel Aufmerksamkeit auf sich gezogen haben, zum Teil seit Jahrzehnten: Photosystem II, Hydrogenasen, Nitrogenase. Am Schluss kommen dann mit Cobalamin und CO-Dehydrogenase/Acetyl-CoA-Synthase organometallchemische Aspekte hinzu, ferner wird mit Xylose-Isomerase auf großtechnische Aspekte eingegangen. (In diesem Abschnitt und auch im Text wird der Begriff *Enzym* auch für Elektronen- und O₂-Transportproteine verwendet, also nicht nur für Enzyme im Sinn der *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*, IUBMB, die eine EC-Nummer tragen.)

Das Lernziel des ersten Teils lässt sich konkreter darin sehen, einen sinnvollen Zusammenhang zwischen den koordinationschemischen Charakteristika eines Zentralmetalls und seinem Verhalten im aktiven Zentrum eines Enzyms herzustellen. Um eine Hilfestellung bei der Einschätzung zu geben, wie sich ein Zentralmetall außerhalb einer Proteinumgebung, also unter „Reagenzglasbedingungen“ verhält, sind in Kapitel 24 „koordinationschemische Steckbriefe“ für jedes Zentrum dieses Textes zusammengestellt.

Der didaktische Bezug zur Koordinationschemie wird weiter vertieft, indem spezielle Themen – meist „Handwerkszeug“ oder Konzeptionelles – in eigenen Abschnitten dargestellt werden, die mit „Bio-Anorganisches“ eingeleitet werden. Hier finden die Leserin und der Leser Lehrinhalte dargestellt, die Studierende nach unserer Erfahrung gerne im Zusammenhang vermittelt bekommen.

Teil II: Der Blick aufs Metall: Grundlegende und spezielle Methoden

Der zweite Teil dieses Buches basiert auf der einstündigen Vorlesung „Spektroskopische Methoden in der Bioanorganischen Chemie“, die von SHP als Wahlvorlesung an der LMU München in den Masterstudiengängen Chemie und Biochemie angeboten wurde. Das Hauptziel besteht darin, die Grundlagen, Möglichkeiten und potentiellen Anwendungsfälle der wichtigsten Methoden für die bioanorganische Chemie für Studierende ab dem 5. Semester ohne spezielle analytische Vorbildung zusammenzufassen. Die Auswahl der Methoden bildet viele wichtige Techniken ab, wobei die Auswahl in künftigen Auflagen ergänzt werden wird. Die bioanorganische Chemie ist ein sehr dynamisches Feld und neue Methoden ermöglichen immer wieder neue Erkenntnisse zur elektronischen Struktur und Funktion von Enzymzentren. In allen methodischen Kapiteln ist weiterführende Literatur zu Spezialwerken angegeben. Da diese Werke häufig nicht für Einsteiger verfasst sind, sollen die Kapitel in Teil II einen verständlichen Zugang für Bachelorstudierende bieten. Nach dem Lesen der Kapitel soll der Leser in der Lage sein, eine potentielle (bioanorganische) Anwendung zu erkennen aber auch die Grenzen der jeweiligen Methode zu erfassen.

Die Kapitel sind so gestaltet, dass sie einzeln gelesen werden können und nicht als ganzer Block verstanden werden müssen. Sie dienen auch als methodische Erläuterung zu den spezielleren Ausführungen in Teil I. Für das Verständnis der Anwendungsfälle in Teil II sind Hinweise auf die jeweiligen Kapitel in Teil I gegeben. Die Abfolge der Kapitel in Teil II verläuft von den allgemeineren Methoden zu den spezielleren. Wir starten daher Teil II mit der weit verbreiteten Strukturanalyse von Proteinen, über die UV/Vis-, Fluoreszenz- und CD-Spektroskopie zur Elektrochemie und den theoretischen Methoden. Diese Methoden sind den meisten Studierenden bereits aus früheren Vorlesungen vertraut und werden hier noch einmal aufgefrischt bzw. vertieft. Anschließend folgen die Methoden, die deutlich spezifischere Einblicke auf die Oxidationsstufe und Elektronenkonfiguration des Metalls, ausgewählte Metall-Ligand-Schwingungen und auch die koordinative Metall-Umgebung in Lösung und nicht-kristallinen Phasen ermöglichen (Resonanz-Raman-Spektroskopie, Röntgenabsorptionsspektroskopie, Mößbauer-Spektroskopie, Elektronenspinresonanzspektroskopie und SQUID-Magnetometrie).

Das Lernziel ist das bessere Verständnis der Originalliteratur, die ja meist schon vor dem Bachelorabschluss gelesen werden sollte, und ein Abbau der Hürde zum Selbststudium und Verständnis der Methoden. Letztendlich sollen die Leser und Leserinnen nach Lektüre des Buches in die Lage versetzt werden, selbst zu erkennen, welche Methode bei einem gegebenen bioanorganischen Problem anwendbar ist.

Für die Unterstützung bei der Erstellung der zahlreichen Graphiken in Teil II ist SHP Herrn Dr. Alexander Hoffmann zu größtem Dank verpflichtet. Des Weiteren möchte SHP sich auch bei Herrn Dr. Gerhard Herres, Herrn PD Dr. Alexander Pawlis und Herrn Dr. Benjamin Dicke für die Hilfe bei einigen Bildern bedanken. Für die zahlreichen Diskussionen und das Korrekturlesen vieler Kapitel dankt SHP Herrn Prof. Dr. Michael Rübhausen, Frau Prof. Dr. Birgit Weber und Herr Prof. Dr. Biprajit Sankar sowie dem Arbeitskreis Herres-Pawlis sehr herzlich.

Abschließend möchten wir uns auch beim Verlag Wiley-VCH und speziell bei Frau Moosdorf und ihrem Team für die Betreuung dieses Buchprojekts bedanken.

Die bioanorganische Chemie und ihre Methoden sind ein sehr vitales Feld, daher freuen wir uns sehr über Anregungen, Hinweise und Ergänzungen der interessierten Leser und Leserinnen (Hinweise zu Teil I bitte an PK, zu Teil II an SHP). Wir wünschen Ihnen viel Freude beim Lesen!

Technisches

Werden quantenchemische Rechnungen herangezogen, um z. B. Orbitalwechselwirkungen zu veranschaulichen, wird das theoretische Niveau in Kurzform vermerkt. Es bedeutet:

xDFT1: Rechnung mit Orca, BP86/def2-TZVP, van-der-Waals-Korrektur nach Grimme (*keyword* D3), COSMO mit den Standardparametern für Wasser; x = u: unrestricted, x = r: restricted, x = bs: broken-symmetry; Orbitalbilder mit Gabedit.

Die Abbildungen von Proteinen und deren aktiven Zentren wurden mit Pymol auf der Grundlage von Strukturanalysen angefertigt, die in der Protein-Datenbank (PDB) hinterlegt sind. Über die Datenbankeinträge hinaus enthält die PDB nützliche Informationen methodischer Art. So werden viele Einzelheiten (was ist die bei jeder Struktur genannte „Auflösung“, etc.?) anschaulich bei den Educational Resources behandelt (die Auflösung unter *resolution*).

Zur Notation von Konzentrationsangaben: IUPACs *Green Book* lässt für die molare Konzentration zwei gleichbedeutende Notierungen zu, zum Beispiel $c(\text{H}_3\text{O}^+) = [\text{H}_3\text{O}^+] = 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. In diesem Text wird [A] als $c(\text{A})/c^\ominus(\text{A})$ benutzt, so dass zum Beispiel gilt: $\text{pH} = -\lg[\text{H}_3\text{O}^+]$. Löslichkeitsprodukte $[\text{A}][\text{B}]$ sind analog definiert und daher als bloße Zahl angegeben.

Aachen und München, Februar 2016

*Sonja Herres-Pawlis und
Peter Klüfers*

Teil I

Die Koordinationschemie von Metalloenzymzentren

1

Säure-Base-Katalyse bei physiologischem pH-Wert: Zink(II) in Carboanhydrase und hydrolytischen Zinkenzymen

Die schwache Brønsted-Säure Wasser wird deutlich saurer, wenn sie an die Lewis-Säure Zn^{2+} koordiniert. Die konjugierte Base OH^- steht im aktiven Zentrum des Enzyms in hoher Konzentration als zinkgebundenes Nukleophil zur Verfügung. Im aktiven Zentrum des Enzyms findet so Säure-Base-Katalyse bei konstantem pH-Wert statt.

Zinkenzyme

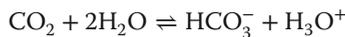
Für den Menschen sind nur wenige Übergangsmetalle essenziell. Wird die bloße Menge an Metall betrachtet, so finden sich im Grammbereich lediglich Eisen mit $\approx 3\text{--}5\text{ g}$ und Zink mit 2 g , im 100-mg-Bereich Kupfer. Cobalt, Mangan und Molybdän treten hinter diese drei wichtigsten Elemente zurück – vor allem, wenn die Zahl an Enzymen betrachtet wird, die das jeweilige Metall enthalten. Gerade bei Zink zeigt sich dabei der Zusammenhang zwischen den verfügbaren Detektionsmethoden und dem Erkennen eines Proteins als Zinkenzym. Als diamagnetisches, farbloses d^{10} -Ion ohne Redoxchemie fallen nämlich einige Detektionsmöglichkeiten aus. So bleiben, von der Röntgenstrukturanalyse an Einkristallen abgesehen, die Atomabsorptionsspektroskopie und – als Methode zur Detektion nicht zu fest gebundenen Zinks – die Fluoreszenzspektroskopie an Zinkchelaten, die ihre fluoreszierenden Eigenschaften nur im zinkgebundenen Zustand zeigen, nicht für den freien Ligand. Ein Motiv für die intensive Suche nach weiteren Zinkproteinen ist ein genetischer Befund. Abhängig von den angewandten Kriterien zeigt die Sequenz der menschlichen DNA an, dass 3–10 % des Genoms Zinkproteine codieren. Für den oberen Wert hieße dies, dass der Mensch ca. 3000 Zinkenzyme ausbilden könnte, von denen bislang nur ca. 200 bekannt sind.

1.1

Carboanhydrasen

Carboanhydrasen sind im Tier- und Pflanzenreich weit verbreitet. Eine Carboanhydrase (CA) war das erste der heute bekannten Enzyme, die als Zinkenzyme erkannt wurden. Genetisch werden verschiedene CA-Familien unterschieden (α -, β -, γ -, δ - und ζ -CAs). Im Menschen kommen α -CAs vor, die ihrerseits wieder in derzeit 15 verschiedene Formen („Isozyme“) zerfallen. Die Formenvielfalt spiegelt wider, dass CAs zahlreiche Aufgaben haben, so sind sie auch beim ständigen Umbau des Skeletts beteiligt (biologischer Apatit enthält Carbonat). Da sie außerdem bei vielen Krankheitsbildern eine Rolle spielen, sind CAs Ziel der Wirkstoffentwicklung.

Die von CA katalysierte Reaktion mutet fast primitiv an, da „nur“ eine Gleichgewichtseinstellung zwischen Lösung und Gasraum vorbereitet wird – so katalysiert bei uns Menschen Carboanhydrase II die Reaktion zwischen dem Hydrogencarbonat des Blutplasmas und dem Kohlendioxid in den Lungenbläschen:



Dass dieser einfache Vorgang kinetisch gehemmt ist und der Katalyse bedarf, erkennt man spätestens dann, wenn man im Biergarten vor einer frisch gezapften Maß sitzt. Auch nach längerer Zeit „bitzelt“ ein Schluck auf der Zunge. Es wird also noch Kohlensäure freigesetzt, die (Gott sei Dank) eben nicht in den ersten Sekunden nach dem Zapfen die wässrige Phase verlassen hat, um so das thermodynamische Gleichgewicht einzustellen – wirksames Veratmen von CO_2 ist unkatalysiert also offensichtlich nicht möglich. (Auch das Prickeln auf der Zunge wird übrigens durch eine dort lokalisierte Carboanhydrase IV bewirkt [10].)

1.1.1

Molekülbau von humaner Carboanhydrase II (hCA II)

Die meisten CAs bestehen aus einem einzelnen Proteinstrang von ca. 260 Aminosäuren. Es sind mehr als 400 Strukturanalysen an CAs und CA-Hemmstoff-Komplexen in der PDB hinterlegt (abzufragen unter *carbonic anhydrase*). Die durch β -Faltblatt- und ungeordnete Abschnitte charakterisierte Molekülstruktur von humaner Carboanhydrase II ist in Abb. 1.1 gezeigt.

Im aktiven Zentrum binden drei Histidinreste ein vierfach koordiniertes Zinkion (Abb. 1.2). Die vierte Koordinationsstelle wird von einem Aqua/Hydroxido-Liganden belegt. Unter den Aminosäureseitenketten in der näheren Umgebung des aktiven Zentrums wird der Histidin-64-Rest in der Rolle eines Protonenüberträgers



Abb. 1.1 Humane Carboanhydras II in 1,56 Å Auflösung (PDB-Eintrag 2VVA). Eine mit 0,9 Å hochaufgelöste Struktur wird in 3KS3 beschrieben.

gesehen. Es liegen Strukturanalysen vor, die sowohl CO_2 -beladene hCA II zeigen, als auch dasselbe Enzym in der Hydrogencarbonat-form. Beide Zustände sind durch Wasserstoffbrückenbindungen charakterisiert, in die der Aqua/Hydroxido-Ligand, zwei Wassermoleküle im typischen 3-Å-Abstand und die Hydroxygruppe einer Threoninseitenkette eingebunden sind. In der CO_2 -beladenen Form ist das Kohlendioxidmolekül über weitere Wasserstoffbrückenbindungen für den Angriff eines OH^- -Nucleophils räumlich korrekt positioniert (in zinkfreier CA führt die Beladung mit CO_2 zu derselben räumlichen Anordnung des Substrats). Abbildung 1.2 zeigt das Ergebnis der Strukturanalyse; zur besseren Übersicht ist der über eine „In“- und eine „Out“-Konformation fehlgeordnete His64-Protonenüberträger nicht dargestellt (His64 liegt links vom aktiven Zentrum). Das Wassermolekül oberhalb des Aqualiganden („*deep water*“) nimmt in der substrat- und produktfreien Form des Enzyms ungefähr den Platz des oberen O-Atoms des CO_2 -Moleküls ein. Bei der Bindung des Substrats wird dieses Wassermolekül aus seiner Ruhelage gedrängt.

Die in Abb. 1.3 gezeigte Struktur mit der hydrogencarbonatbeladenen Form suggeriert einen einfachen Ablauf der Katalyse. Das korrekt positionierte Elektrophil CO_2 und der Aqua/Hydroxido-Ligand scheinen ohne nennenswerte Bewegung der Umgebung einen HCO_3^- -Liganden gebildet zu haben. Es sollte jedoch beachtet werden, dass das Proton des Hydroxidoliganden (das in der Röntgenstrukturanalyse nicht sichtbar ist) im Produktkomplex nicht am zinkgebundenen O-Atom gebunden ist. Der im folgenden gezeigte Katalysezyklus berücksichtigt dies.

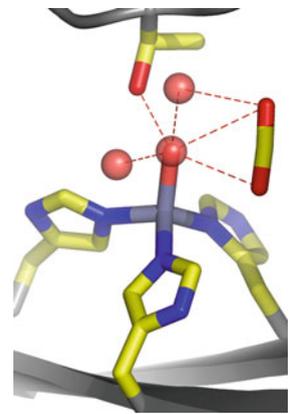


Abb. 1.2 Das aktive Zentrum der in Abb. 1.1 dargestellten CO_2 -beladenen hCA II.

1.1.2

CA-Katalysezyklus

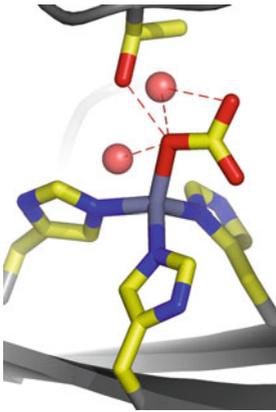


Abb. 1.3 Das aktive Zentrum von hydrogencarbonatbeladener hCA II in 1,66 Å Auflösung (PDB-Eintrag 2VVV).

Der Zyklus (Abb. 1.4) ist wie üblich als Umwandlung von CO_2 in Hydrogencarbonat dargestellt, wie er bei der CO_2 -Aufnahme durch photosynthetisierende grüne Pflanzen abläuft. Man beachte, dass er im Gegenuhrzeigersinn abläuft, wenn CO_2 ausgeschieden wird. Der Zyklus beginnt mit dem Enzym in der Ruheform, bei der wegen des $\text{p}K_a$ -Wertes des Aqualiganden von ca. 7 dieser vor allem in der Hydroxidform vorliegt (pH-Wert des Blutplasmas: 7,4). Das vom Aqualiganden abgespaltene Proton wird über Wasserstoffbrückenbindungen letztlich der His64-Seitenkette zugeführt. Da es im weiteren Verlauf der Katalyse auf umgekehrtem Weg wieder in den Kreislauf zurückfließt, dient His64 als Protonenüberträger („*proton shuttle*“). Man beachte, dass eine wichtige Einzelheit einer wirksamen Katalyse darin besteht, dass alle während der Reaktion bewegten Fragmente einen definierten Bindungspartner vorfinden. Es ist also nicht nebensächlich, dass das Proton nicht in die Umgebung entlassen wird und dieser bei Bedarf wieder entzogen wird.

Der Hydroxidoligand ist das eigentliche Agens, das nun das Elektrophil CO_2 angreift. Im nächsten Schritt entsteht ein Hydrogencarbonatoligand. Die blau eingezeichneten Pfeile entsprechen den Vorstellungen, die in der Literatur als „Lindskog-Mechanismus“ bezeichnet werden. Dieser ist in den letzten Jahren bei computer-

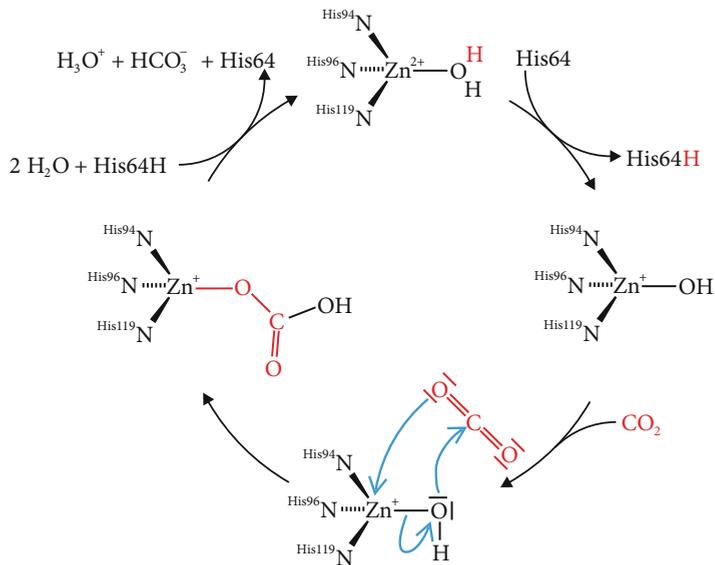


Abb. 1.4 Katalysezyklus für das Carboanhydrasezentrum.

chemischen Rechnungen gegenüber einem konkurrierenden, hier nicht diskutierten „Lipscomb-Mechanismus“ wahrscheinlicher geworden. Die Formulierung der Kohlensäure im letzten Reaktionsschritt als Hydrogencarbonat spiegelt deren Säurestärke ($pK_a = 6,5$) wider.

Was ist nun der „Trick“ der Natur, ein Zinkzentrum mit CA-Aktivität auszustatten? Eine Prise Zinksulfat führt schließlich nicht dazu, dass aus kohlensäurehaltigen Lösungen sofort CO_2 entweicht – und es ist auch nicht zu erwarten: der pK_a -Wert des Aqua-Zink-Komplexes, der sich beim Lösen eines Zinksalzes bildet, liegt bei 9,0 (Tab. 24.8). Am Neutralpunkt und darunter liegt also nur wenig der konjugierten Base des Aquaions vor, also nur wenig zinkgebundenes Hydroxid. Die gegenüber dem hydratisierten Ion höhere Acidität der aktiven Zentren der CAs ist mit deren kleinerer Koordinationszahl im Einklang, und zwar im Sinne einer geringeren Kompensation der Lewis-Acidität eines freien Zn^{2+} -Ions durch weniger Liganden. Diese Auffassung wird durch experimentelle (Punktmutationen) und computerchemische Arbeiten unterstützt, die den Verlust der CA-Aktivität beim Austausch des neutralen N-Donorliganden Histidin gegen den anionischen Carboxylat-O-Donor Aspartat zeigen. Mit dem Anstieg des pK_a -Wertes nimmt die Konzentration an Hydroxidnukleophil beim physiologischen pH-Wert ab und damit die CA-Aktivität [5].

1.1.3

Cadmium als Zentralmetall in einer ζ -CA

Das $\text{Zn}(\text{His})_3$ -Muster der humanen CAs ist keine notwendige Voraussetzung für eine aktive CA, nicht einmal das Zinkatom ist für die Funktion unersetzbar. So enthalten Kieselalgen eine sogenannte „kambialistische“ Carboanhydrase vom ζ -CA-Typ, deren Funktion nicht von einem einzigen Zentralmetall abhängt. Das aktive Zentrum ist ein $\text{M}(\text{Cys})_2(\text{His})$ -Fragment, in dem M sowohl Zink als auch Cadmium sein kann. Für beide Fälle liegen Strukturanalysen vor. Abbildung 1.5 zeigt das aktive Zentrum einer CA aus der Diatomee *Thalassiosira weissflogii* mit einem fünffach koordinierten Cadmiumzentralatom (mit dem kleineren Zinkatom zeigt die Analyse ein vierfach koordiniertes $\text{Zn}(\text{Cys})_2(\text{His})(\text{H}_2\text{O})$ -Zentrum mit dem zweiten Wassermolekül in Wasserstoffbrückenbindung zum Aqualigand). Gegenüber den meisten anderen CAs sind im üblichen $\text{Zn}(\text{His})_3$ -Muster zwei Histidin-Neutralliganden durch Cysteinatanionen ersetzt.

Die CA-Aktivität dieses aktiven Zentrums verschiebt den Fokus der oben vorgestellten Interpretation, dass die Acidität des Aqualiganden entscheidend sei. Amata *et al.* [7] betrachten die Acidi-

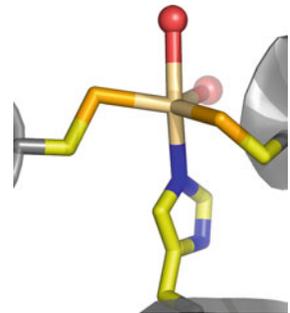


Abb. 1.5 Das aktive Zentrum einer Cadmium-CA (PDB-Eintrag 3BOB, 1,45 Å Auflösung).

tät des metallgebundenen Wassermoleküls nicht als entscheidende Größe, sondern fragen nach der Nukleophilie des Hydroxidoliganden, wenn dieser erst einmal entstanden ist. Hier wäre dann natürlich in umgekehrter Weise zu schließen: Ein weicher, anionischer Thiolatliganden dämpft die Lewis-Acidität des Zentralmetallatoms und erhöht damit die Beladung des Hydroxidoliganden.

Es wird deutlich, dass im funktionsfähigen Enzym gegenläufige Einflüsse ausbalanciert sind. Einheitlich bewertet wird die Bedeutung einer für das jeweilige Zentralmetall eher kleinen Koordinationszahl und deren Variation im Katalysezyklus. Der in Abb. 1.4 gezeigte Reaktionsablauf beinhaltet für das mit blauen Pfeilen angedeutete Intermediat eine fünffache Koordination des Zentralmetallatoms. Dieser Schritt errechnet sich für Zink und Cadmium als Übergangszustand, der beim größeren Cadmiumzentralmetall eine geringere Barriere darstellt [7]. Die aus Rechnungen an ζ -CA gewonnenen mechanistischen Aussagen sind nicht im Detail auf die verbreiteteren α -CAs zu übertragen, da nicht nur der Weg des HCO_3^- -Protons durch unterschiedliche Wasserstoffbrückenbindungssysteme bestimmt ist, sondern auch die steuernden Parameter selbst, die Acidität des Aqualiganden und die Nukleophilie des Hydroxidoliganden zu Beginn der Kaskade von den umgebenden Wasserstoffbrückenbindungsdonoren und -akzeptoren beeinflusst wird.

1.2

Alkoholdehydrogenase

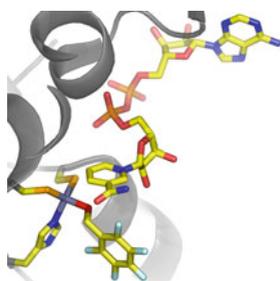


Abb. 1.6 Das aktive Zentrum von Pferdeler-Alkoholdehydrogenase mit Pentafluorbenzylalkohol und NAD (PDB-Eintrag 4NFH, 1,20 Å Auflösung).

Das $\text{Zn}(\text{Cys})_2(\text{His})$ -Motiv der ζ -CA kommt, ebenso wie andere Muster mit drei Liganden aus der Gruppe Histidin, Aspartat/Glutamat und Cysteinat, auch bei der Alkoholdehydrogenase vor. Die katalysierte Reaktion ist hier die Hydridübertragung vom Kohlenstoffatom einer $-\text{CH}_2\text{OH}$ -Funktion auf NAD^+ , wobei der Alkohol zum Aldehyd oxidiert wird (Abb. 1.6).

1.3

Hydrolytische Zinkenzyme, Klasse-II-Aldolase

Viele andere Zinkenzyme katalysieren die Hydrolyse polarer Bindungen. So enthalten Proteasen und Esterasen oft Zink in ihrem aktiven Zentrum. Das Reaktionsprinzip ist das gleiche wie bei CA. Das eigentliche Agens ist ein Hydroxidoligand, der als Nukleophil das Kohlenstoffatom polarer C–N- oder C–O-Bindungen angreift (Abb. 1.7).

Zn(His)₃-Zentren haben weitere Reaktionsmöglichkeiten. Ein für die Medizin wichtiges Zielenzym ist Klasse-II-Fructose-1,6-bisphosphat-Aldolase. Fructose-1,6-bisphosphat-Aldolasen spielen eine Rolle in wichtigen Biosynthesewegen: in der Glykolyse, der Gluconeogenese und im Calvin-Zyklus. Während die auch vom Menschen verwendete Klasse-I-Aldolase kein Metalloenzym ist, enthält das aktive Zentrum von Klasse-II-Aldolase ein Zn(His)₃-Motiv. Klasse-II-Aldolase, die in kritischen pathogenen Keimen wie den Tuberkulosebakterien (*Mycobacterium tuberculosis*) vorkommt, wird aufgrund dieses Unterschieds zum möglichen Ziel von Antibiotika [6]. Die katalysierte Reaktion ist im Gegensatz zu den hydrolytischen Enzymen nicht die Spaltung einer polaren Bindung durch ein Nukleophil, sondern eine C–C-Bindungsspaltung, bei der die C₆-Kette von Fructose-1,6-bisphosphat in Dihydroxyacetonphosphat und Glycerinaldehyd-3-phosphat, also in zwei C₃-Bruchstücke gespalten wird. Bei der Gluconeogenese findet die Reaktion in umgekehrter Richtung statt.

Abbildung 1.7 zeigt das aktive Zentrum einer Klasse-II-Aldolase aus der Gattung *Mycobacterium*. Das Zentrum ist mit Fructose-1,6-bisphosphat beladen, das bereits einen ersten Schritt zur Spaltung erfahren hat. In einer wässrigen Lösung liegt Fructose-1,6-bisphosphat nämlich nur zu einem Anteil von ca. 1 % in der offenkettigen Form vor, die es im Enzym einnimmt, die Hauptmenge entfällt auf α- (16 %) und β-Fructofuranose-1,6-bisphosphat (82 %). Die an C3 und C4, zwischen denen die Bindung gespalten werden wird, gebundenen O-Atome koordinieren an das Zinkatom.

Klasse-II-Aldolase ist ein weiteres Beispiel für biochemische Säure-Base-Katalyse. Anders als die CAs, die das OH⁻-Nukleophil durch Wasserdeprotonierung bereitstellen, bindet hier ein komplexeres Substrat mit Hydroxyfunktionen an das Zentralmetall. Die Acidität der OH-Funktionen wird, wie beim Aqualigand der CAs, erhöht und die konjugierte Base wird verfügbar. Bei Pegan *et al.* [3] wird die Deprotonierung von OH-4 formuliert, das O4-Alkoxid bildet dann eine Ketofunktion mit C4 unter Bruch der C3–C4-Bindung.

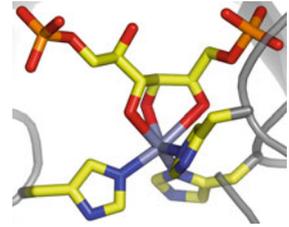


Abb. 1.7 Das aktive Zentrum von substratbeladener Klasse-II-Fructose-1,6-bisphosphat-Aldolase von *M. tuberculosis* (PDB-Eintrag 3ELF, 1.31 Å Auflösung). Das rechte C-Atom des Fructosegerüsts ist C1, das linke C6; die Ketofunktion mit C2 ist das anomere Zentrum der Ketose.

1.4

Nicht katalytische Zinkzentren

Katalytisch aktiven Zinkzentren ist eine kleine Koordinationszahl bezüglich der proteinogenen Liganden gemeinsam. So erlauben die dreifach koordinierten Zn(His)₃- und Zn(Cys)₂(His)-Zentren entweder die Bindung eines reaktiven Hydroxidoliganden oder eines Substrats wie Fructose-1,6-bisphosphat, das unmittelbar an das

Zentralmetallatom eines $\text{Zn}(\text{His})_3$ -Zentrums koordiniert. Dieser Aspekt wird von katalytisch inaktiven Zinkproteinen unterstrichen, in denen das Zentralmetall tetraedrisch von vier proteinogenen Liganden koordiniert ist, in denen also keine freie Koordinationsstelle oder kein leicht substituierbarer Ligand eine Substratbindung ermöglicht.

Diese Situation liegt in Zinkfingerdomänen vor, in denen ein Zinkatom in eine $(\text{His})_2(\text{Cys})_2$ -Umgebung eingebunden ist (Abb. 1.8). Die strukturelle Ähnlichkeit mit der Zinkform einer ζ -CA ist offensichtlich: Bei beiden ist ein $\text{Zn}(\text{His})(\text{Cys})_2$ -Fragment durch einen vierten Liganden ergänzt. Ist dies ein Histidinligand wie bei der Zinkfingerdomäne, entsteht ein katalytisch inaktives Zentrum, ist dies ein Aqualigand wie bei der ζ -CA, steht ein reaktives OH^- -Nukleophil zur Verfügung. Zinkfingerdomänen haben Bedeutung in Transkriptionsfaktoren, das sind Proteine, die in Wechselwirkung mit Nukleinsäuren treten. Die Zinkatome tragen hier zum Aufbau von Strukturelementen bei, die wirksam an Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Protein und DNA/RNA teilnehmen können.

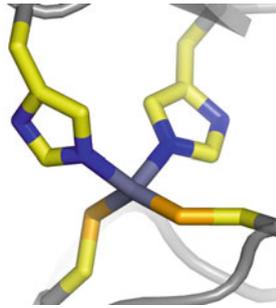


Abb. 1.8 Die typische $\text{Zn}(\text{His})_2(\text{Cys})_2$ -Baueinheit einer Zinkfingerdomäne (PDB-Eintrag 4LJO, 1,56 Å Auflösung).

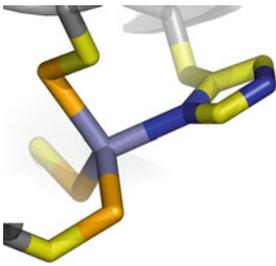


Abb. 1.9 Die $\text{Zn}(\text{Cys})_3(\text{His})$ -Baueinheit einer C1-Domäne (PDB-Eintrag 4FKD, 1,63 Å Auflösung).

Weitere nicht katalytische Zinkzentren, die C1-Domänen, zeigen dasselbe Grundprinzip (Abb. 1.9). Mit zwei $\text{Zn}(\text{Cys})_3(\text{His})$ -Zentren pro Domäne weisen diese Proteinabschnitte keine freie Koordinationsstelle oder einen leicht substituierbaren Liganden auf – und tatsächlich findet die Substratbindung entfernt von den Zinkzentralatomen statt.

Eine weitere Gruppe nicht katalytischer Zinkzentren spiegelt in besonders instruktiver Weise koordinationschemische Regeln wider. Abbildung 1.10 zeigt drei Zinkzentren in einem zinkspezifischen Metallsensorprotein, mit dem *Streptomyces coelicolor* seinen Zinkstoffwechsel reguliert. In [8] wird gezeigt, dass die Detektion freien Zinks in der Zelle durch die beiden rechts im Bild gezeigten – hier beladenen – Bindetaschen erfolgt, während die links dargestellt $\text{Zn}(\text{S}_{\text{Cys}})_4$ -Einheit mit einem ständig gebundenen Zinkatom nur strukturelle Aufgaben hat – im Einklang mit der hohen Stabilität eines Tetrathiolatokomplexes, der nur eine besonders geringe Gleichgewichtskonzentration an freiem Zink zulässt. Die beiden übrigen Zentren, $\text{Zn}(\text{O}_{\text{Asp}})(\text{S}_{\text{Cys}})(\text{N}_{\text{His}})_2$ und $\text{Zn}(\text{O}_{\text{Asp}})(\text{N}_{\text{His}})_3$, sind etwas weniger stabil; entsprechend den kleinen zu detektierenden Zinkkonzentrationen stellen sie aber immer noch Komplexe mit beachtlicher Stabilitätskonstante dar, die sich ab einer Konzentration von etwas mehr als $10^{-16} \text{ mol L}^{-1} \text{ Zn}^{2+}$ mit dem Metall beladen.

1.5

Literatur

Eine Übersicht über die CA-Klassen und die therapeutische Bedeutung von CA-Hemmern finden Sie bei Alterio *et al.* [4]. Der Einfluss einer starken Wasserstoffbrückenbindung vom Typ Zn–(H)O...HOH auf den pK_a -Wert des zinkgebundenen Aqualiganden und auf den Protonenfluss wird bei Avvaru *et al.* [11] anhand der hochaufgelösten Strukturanalyse 3KS3 diskutiert. Der Einfluss unterschiedlicher Liganden auf die Acidität des Aqualiganden wird in [5] untersucht. Die Abhängigkeit der Reaktivität des aktiven Zentrums vom Metall (Zn oder Cd) und vom Austausch His/Cys wird bei Amata *et al.* [7] berechnet. Maret [2] gibt einen allgemeinen Überblick über die Bedeutung von Zink für den menschlichen Organismus; über die unmittelbar als Zinkenzyme bekannten Proteine hinaus wird aus der Sequenz des humanen Genoms auf ca. 3000 Zinkenzyme geschlossen. In dieser Arbeit wird ein weiterer Aspekt angesprochen, nämlich dass Zinksensorproteine nicht nur als Regulatoren im Zinkstoffwechsel Bedeutung haben, sondern dass Zinkionen auch in der Signaltransduktion eine Rolle spielen. Dołęga [9] gibt einen Überblick über Alkoholdehydrogenase, Pegan *et al.* [3] formulieren einen Katalysezyklus für Klasse-II-Fructose-

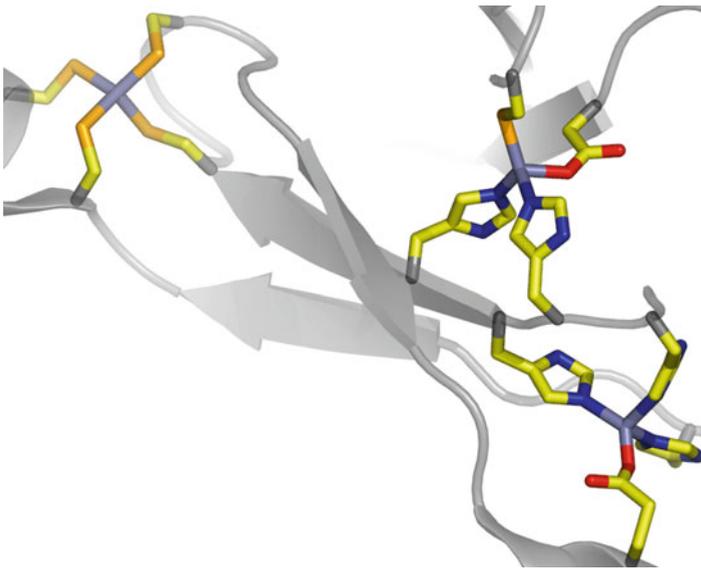


Abb. 1.10 Drei Bindungsmodi in Zinkzentren eines Zinksensorproteins von *S. coelicolor* in 2,4 Å Auflösung (PDB-Eintrag: 3MWM) Nur die beiden Zink-

atome rechts verlassen den Sensor bei Zinkmangel, die $Zn(S_{Cys})_4$ -Einheit links bleibt immer intakt.

1,6-bisphosphat-Aldolase, deren Hemmung [6] gewidmet ist. Das und Rahman [1] geben eine Übersicht über C1-Domänen.

- 1 Das, J. und Rahman, G.M. (2014) C1 domains: Structure and ligand-binding properties. *Chem. Rev.*, **114**, 12108–12131, doi:10.1021/cr300481j.
- 2 Maret, W. (2013) Zinc biochemistry: From a single zinc enzyme to a key element of life. *Adv. Nutr. Int. Rev. J.*, **4**, 82–91, doi:10.3945/an.112.003038.
- 3 Pegan, S.D. *et al.* (2013) Active site loop dynamics of a class IIa fructose 1,6-bisphosphate aldolase from *Mycobacterium tuberculosis*. *Biochemistry*, **52**, 912–925, doi:10.1021/bi300928u.
- 4 Alterio, V. *et al.* (2012) Multiple binding modes of inhibitors to carbonic anhydrases: How to design specific drugs targeting 15 different isoforms? *Chem. Rev.*, **112**, 4421–4468, doi:10.1021/cr200176r.
- 5 Jiao, D. und Rempe, S.B. (2012) Combined density functional theory (DFT) and continuum calculations of pK_a in carbonic anhydrase. *Biochemistry*, **51**, 5979–5989, doi:10.1021/bi201771q.
- 6 Labbé, G. *et al.* (2012) Development of metal-chelating inhibitors for the Class II fructose 1,6-bisphosphate (FBP) aldolase. *J. Inorg. Biochem.*, **112**, 49–58, doi:10.1016/j.jinorgbio.2012.02.032.
- 7 Amata, O., Marino, T., Russo, N. und Toscano, M. (2011) Catalytic activity of a ζ -class zinc and cadmium containing carbonic anhydrase. Compared work mechanisms. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **13**, 3468–3477, doi:10.1039/C0CP01053G.
- 8 Shin, J.-H. *et al.* (2011) Graded expression of zinc-responsive genes through two regulatory zinc-binding sites in *Zur*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 5045–5050, doi:10.1073/pnas.1017744108.
- 9 Dofęga, A. (2010) Alcohol dehydrogenase and its simple inorganic models. *Coord. Chem. Rev.*, **254**, 916–937, doi:10.1016/j.ccr.2009.12.039.
- 10 Dunkel, A. und Hofmann, T. (2010) Carboanhydrase IV vermittelt das Prickeln der Kohlensäure in Getränken. *Angew. Chem.*, **122**, 3037–3039, doi:10.1002/ange.200906978.
- 11 Avvaru, B.S. *et al.* (2010) A short, strong hydrogen bond in the active site of human carbonic anhydrase II. *Biochemistry*, **49**, 249–251, doi:10.1021/bi902007b.

weiter geht's mit ...

... Nickelproteinen. Wenn die IUPAC in IR-3.5 ihres *Red Book* formuliert „..., the elements of groups 3–12 are the d-block elements. These elements are also commonly referred to as the transition elements, though the elements of group 12 are not always included“, deutet sie an, dass eine vollständig gefüllte d-Unterschale in der wichtigsten Oxidationsstufe nicht zu einem richtigen Übergangsmetall passt. Ein Vergleich der koordinationschemischen Steckbriefe von Highspin-Nickel (Tab. 24.7) und Zink (Tab. 24.8) zeigt eine erste Konsequenz: Die recht hohe Ligandenfeldstabilisierungsenergie (LFSE) der Nickelkomplexe wird in voller Höhe nur bei oktaedrischer Koordination wirksam – die