

Allosterische Kontrolle von Katalyse- und Rezeptoreigenschaften mehrkerniger Metallkomplexe

INAUGURAL-DISSERTATION

zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Naturwissenschaftlich-Mathematischen Gesamtfakultät
der
Ruprecht-Karls-Universität
Heidelberg

vorgelegt von
Diplom-Chemiker Markus Hoppe
aus Düsseldorf

2003

Kurzfassung Deutsch:

Enzymkatalyse wird in der Natur oftmals durch allosterische Regulation kontrolliert. Bei synthetischen Katalysatoren ist diese Regulation noch nicht näher untersucht worden. Im Rahmen der Arbeit wurden drei- und vierkernige Metallkomplexe verschiedener Liganden ($L^1 - L^3$) als Modellsysteme für allosterische Metalloenzyme untersucht. Die Metallkomplexe sind aus einer allosterischen Untereinheit und einer katalytischen Untereinheit aufgebaut. Ein mononuklearer Co(III)-Komplex des Liganden L^3 konnte isoliert und kristallographisch charakterisiert werden. Dadurch konnte ein Einblick in die Rolle des allosterischen Metalls bei der Präorganisation der funktionellen Untereinheiten gewonnen werden.

Die Komplexe $[(L^3-3H)Co]Cu_3$ und $[(L^3-2H)Cu]Cu_3$ wurden in Lösung hergestellt. Sie unterscheiden sich durch das allosterische Metallion (Cu^{II} bzw. Co^{III}), enthalten aber die gleichen funktionellen Metallionen (Cu^{II}).

Das allosterische Metall kontrolliert die katalytische Aktivität: während $[(L^3-2H)Cu]Cu_3$ ein effizienter Katalysator für die Spaltung des Phosphodiesters 2-Hydroxypropyl-*p*-Nitrophenylphosphat (HPNP) ist, ist $[(L^3-3H)Co]Cu_3$ praktisch inaktiv. $[(L^3-3H)Co]Cu_3$ ist ein selektiver allosterischer Rezeptor für Aminosäuren.

Kurzfassung Englisch:

Enzymatic catalysis in nature is often controlled by allosteric regulation. With synthetic catalysts this regulation has been investigated just recently. In this work tri- and tetranuclear metal complexes of different ligands ($L^1 - L^3$) were investigated as model systems for allosteric metalloenzymes. The metal complexes are build up of an allosteric subunit and a functional subunit. A mononuclear Co(III)-complex of Ligand L^3 was isolated and crystallographically characterized. This gave insight to the role of the allosteric metal ion regarding preorganization of the functional subunits.

Complexes $[(L^3-3H)Co]Cu_3$ and $[(L^3-2H)Cu]Cu_3$ have been produced in solution. They differ by the allosteric metal ion (Cu^{II} and Co^{III}), but contain the same functional metal ion (Cu^{II}).

The allosteric metal controls the catalytic activity: while $[(L^3-2H)Cu]Cu_3$ is an efficient catalyst for the cleavage of the phosphodiester 2-Hydroxypropyl-*p*-nitrophenylphosphate (HPNP), $[(L^3-3H)Co]Cu_3$ is nearly inactive. $[(L^3-3H)Co]Cu_3$ is a selective allosteric receptor for certain aminoacids.

Allosterische Kontrolle von Katalyse- und Rezeptoreigenschaften mehrkerniger Metallkomplexe

Gutachter: Prof. Dr. Roland Krämer
Prof. Dr. Gerald Linti

Tag der mündlichen Prüfung: 12.12.2003

Meinem Bruder Frank, der durch einen tragischen Unfall viel zu früh sterben musste – ich
weiß, du wirst immer bei mir sein

Meiner Mutter, die jetzt aller Kraft bedarf, die ich ihr zu geben im Stande bin

Steh nicht weinend an meinem Grab,
ich bin nicht dort unten, ich schlafe nicht.

Ich bin tausend Winde, die weh'n,
ich bin das Glitzern der Sonne im Schnee,
ich bin das Sonnenlicht auf reifem Korn,
ich bin der sanfte Regen im Herbst.

Wenn du erwachst in der Morgenfrühe
Bin ich das schnelle Aufsteigen der Vögel
im kreisenden Flug.
Ich bin das sanfte Sternenlicht in der Nacht.

Steh nicht weinend an meinem Grab,
ich bin nicht dort unten, ich schlafe nicht.

Native Indian

Menschen, die wir lieben,
bleiben für immer.
Denn sie hinterlassen Spuren
In unseren Herzen.
Es wird immer etwas
in unserem Herzen zurückbleiben:

Etwas von ihren Träumen,
etwas von ihren Hoffnungen,
etwas von ihrem Leben,
alles von ihrer Liebe!

unbekannt

Die experimentellen Untersuchungen zu der vorliegenden Arbeit wurden in der Zeit von Juli 2000 bis Mai 2003 am Anorganisch-Chemischen Institut der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg durchgeführt.

Herrn PROF. DR. ROLAND KRÄMER, unter dessen Leitung diese Arbeit angefertigt wurde, danke ich herzlich für zahlreiche Anregungen, Diskussionen, sein stetes Interesse an meiner Arbeit und die materielle Unterstützung.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Metallionen in vivo	1
1.2 Die Rolle von Metallen in Enzymen: ausgewählte Beispiele	2
1.2.1 Strukturelle Rolle von Metallionen in Proteinen	2
1.2.2 Funktionelle Metallionen in Proteinen	3
1.2.3 Urease	3
1.2.4 Cu, Zn-Superoxiddismutase – ein Typ-2-Kupferprotein	4
1.3 Allosterische Metalloenzyme	5
1.3.1 Regulationsmechanismen	5
1.3.2 Inhibierung von Enzymen	5
1.3.2.1 Kompetitive Hemmung/Verdrängungshemmung	6
1.3.2.2 Nicht-kompetitive Hemmung	7
1.3.3 Allosterie	7
1.3.4 Alkalische Phosphatase	8
1.4 Design eines niedermolekularen Modells für die allosterische Regulation von Enzymen	9
1.5 Templatreaktionen	11
2. Zielsetzung	13
3. Synthese der Ligandsysteme	14
3.1 Synthese des Liganden Bis-N,N'-[4-(N-benzylformamid)-pyrimidin-6-carbonyl]1,3-diaminopropan (L¹) und verwandter Verbindungen	14
3.1.1 Synthese der Zwischenverbindung Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure	15
3.1.1.1 Synthese von 4,6-Dimethylpyrimidin	15
3.1.1.2 Synthese von Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure	16
3.1.2 Aktivierung der Carbonsäuregruppen von Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure und anschließende Amidkopplung	17
3.1.2.1 Aktivierung mit <i>p</i> -Nitrophenol	17
3.1.2.2 Umsetzung des <i>p</i> -Nitrophenylesters mit Monoaminen und Diaminen	17
3.1.2.3 Synthese von Monoamiden der Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure	18

mit Hilfe von 1,1'-Carbonyldiimidazol (CDI) als Kopplungsreagenz	
3.1.2.4 Kopplung des Monoamids mit einem Diamin zum Liganden	19
3.1.3 Weitere Diversifizierung des Ligandensystems	20
3.2 Synthese des Liganden L³	21
3.2.1 Allgemeines	21
3.2.2 Synthese der einzelnen Vorstufen	22
3.2.2.1 Synthese von 2-Aminomethyl-2-methylpropan-1,3-diamin (TAME)	22
3.2.2.1.1 Veresterung von 2-Hydroxymethyl-2-methylpropan-1,3-diol	23
3.2.2.1.2 Umsetzung des Benzolsulfonsäureesters mit Kaliumphthalimid	23
3.2.2.1.3 Spaltung des Phthalimids zum Triamin	24
3.2.2.2 Synthese der 6-Pyridin-2-yl-pyrimidin-4-carbonsäure	24
3.2.2.2.1 Synthese von 1-Methyl-3-(2-pyridyl)-propan-1,3-dion	25
3.2.2.2.2 Synthese von 4-Methyl-6-pyridin-2-yl-pyrimidin	25
3.2.2.2.3 Oxidation zur 6-Pyridin-2-yl-pyrimidin-4-carbonsäure	25
3.2.3 Umsetzung der Vorstufen zu Tris-N-(4-(2-pyridyl)-pyrimidin- 6-carbonyl)-2-amino-methylethan (L ³)	25
3.2.4 Kristallstruktur des Liganden L ³	26
4. Synthese und Struktur der Metallkomplexe von L¹	30
4.1 Allgemeine Überlegungen	30
4.2 Kupfer-Komplexe von L¹	31
4.2.1 UV/Vis-Titrationen	31
4.2.1.1 Titrationen mit Cu(NO ₃) ₂	31
4.2.1.2 Titration unter Zusatz von Natriumdimethylphosphat (DMP)/Perchlorat (ClO ₄ ⁻)	32
4.2.2 Massenspektrometrische Untersuchungen	34
4.3 Co(II)- und Ni(II)-Komplexe von L¹	35
4.3.1 UV/Vis-Spektren	35
4.3.2 Massenspektrometrische Untersuchungen	36
4.3.3 Untersuchungen zum Metallaustausch des strukturellen Metalls	37

gegen Cu(II)	
5. Synthese und Struktur von Metallkomplexen von L³	39
5.1 Cu-Komplexe mit strukturellen und funktionellen Metallionen	39
5.1.1 Allgemeines	39
5.1.2 UV/Vis-spektroskopische Untersuchungen	41
5.2 Ni-Komplexe von L³	43
5.2.1 UV/Vis-spektroskopische Untersuchungen	43
5.2.2 Massenspektrometrische Untersuchungen/ IR-Spektrum	44
5.2.3 Untersuchungen zum Metallaustausch an Komplexen (Ni/Cu) von L ³	44
5.3 Komplexe von L³ mit Co(III) als strukturellem Metallion	45
5.3.1 UV/Vis-spektroskopische Untersuchungen	45
5.3.2 Isolierung und Kristallstruktur von [(L ³ -3H)Co]	45
5.3.3 Cyclovoltogramm von [(L ³ -3H)Co]	49
5.4 [(L³-3H)Co] mit verschiedenen funktionellen Metallen	50
5.4.1 Spektrophotometrische Titration mit Cu(I)	50
5.4.2 Spektrophotometrische Titration mit Pd(II)	51
5.4.3 Komplexbildung von [(L ³ -3H)Co] mit Cu(II)	52
5.4.3.1 UV/Vis-spektroskopische Untersuchungen mit verschiedenen Kupfersalzen	52
5.4.3.2 Trikupferkomplexe von [(L ³ -3H)Co]	54
5.4.3.2.1 Vorversuche	54
5.4.3.2.2 UV/Vis-spektroskopische Titration von Aminosäuren zu einer [(L ³ -3H)CoCu ₃] ⁶⁺ -Lösung	54
5.4.3.2.3 Titrationsen von [(L ³ -3H)Co] mit Cu-Komplexen von Lysin	60
5.4.3.2.4 Titrationsen von [(L ³ -3H)Co] und Aminosäuren mit Cu(NO ₃) ₂	62
5.4.3.3 Charakterisierung von [(L ³ -3H)CoLys ₂ Cu ₃] ⁴⁺	65
5.4.3.3.1 Electrospray-Ionisation-Massenspektrometrie (ESI-MS)	65
5.4.3.3.2 Elektronenspinresonanz ESR-Spektrum von [(L ³ -3H)CoCu ₂] ⁴⁺	66
5.4.3.3.3 Elektronenspinresonanz ESR-Spektrum von [(L ³ -3H)CoLys ₂ Cu ₃] ⁴⁺	67

6. Funktionelle Untersuchungen	68
6.1 Allgemeines zur Hydrolyse von aktivierten Phosphodiestern	68
6.1.1 2-Hydroxypropyl- <i>p</i> -Nitrophenylphosphat (HPNP) als Substrat	68
6.1.2 Kinetische Analyse der Hydrolysereaktion	70
6.2 Hydrolyse von HPNP unter Verwendung der Metallkomplexe von L¹ und L³	71
6.2.1. Kinetische Analyse der Hydrolysereaktion von HPNP unter Verwendung von [(L ¹ -2H)Cu ₃] ⁴⁺	71
6.2.2. Kinetische Analyse der Hydrolysereaktion von HPNP unter Verwendung von [(L ³ -2H)Cu ₄] ⁶⁺	72
6.2.2.1 Abhängigkeit der Spaltungsgeschwindigkeit von der eingesetzten Kupfermenge	72
6.2.2.2 Abhängigkeit der Hydrolysegeschwindigkeit vom pH-Wert	73
6.2.2.3 Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Substratkonzentration (Michaelis-Menten-Kinetik)	74
6.2.2.4 Turnovermessungen	78
6.2.2.5 Kompetitive Anionenbindung durch Komplexe von L ³	78
6.2.2.6 Allosterische Regulation	82
6.2.2.7 Vergleich von [(L ³ -2H)Cu ₄] mit [(L ⁴ -2H)Cu ₃]	83
6.3 Reduktion von [(L³-3H)CoCu₃]⁶⁺ durch organische Substrate	83
6.4 Versuche zu Templatreaktionen an [(L³-3H)CoCu₃]⁶⁺	86
7. Zusammenfassung	88
8. Experimenteller Teil	91
8.1 Spektroskopie und Analytik	91
8.2 Umgang mit feuchtigkeitsempfindlichen Substanzen	93
8.3 Chemikalien	93
8.4 Arbeitsvorschriften	93
8.4.1 Synthese der Liganden L ¹ , L ² und ihrer Vorstufen	93
8.4.1.1 Darstellung von 4,6-Dimethylpyrimidin	93
8.4.1.2 Darstellung von Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure	94
8.4.1.3 Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure-bis-(4-nitrophenyl)ester	95
8.4.1.4 Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure-bis-benzylamid	95
8.4.1.5 6-Benzylcarbamoyl-pyrimidin-4-carbonsäure	96

8.4.1.6 Bis-N-[4-(N-benzylformamid)-pyrimidin-6-carbonyl]-1,3-diaminopropan (L^1)	97
8.4.1.7 Bis-N-[4-(N-benzylformamid)-pyrimidin-6-carbonyl]-1,3-diamino-2,2-dimethylpropan (L^2)	98
8.4.2 Synthese von L^3 und dessen Vorstufen	99
8.4.2.1 Synthese des 2-Aminomethyl-2-methylpropan-1,3-diamin (TAME)	99
8.4.2.1.1 Synthese von 1,3-Bis-benzolsulfonyloxy-2-benzolsulfonyloxymethyl-2-methylpropan	99
8.4.2.1.2 Synthese von 2-Methyl-1,3-diphtalimidomethyl-2-phthalimidomethyl-propan	100
8.4.2.1.3 Synthese von 2-Aminomethyl-2-methylpropan-1,3-diamin	100
8.4.2.2 Synthese von L^3	101
8.4.2.2.1 Synthese von 1-Pyridin-2-yl-butan-1,3-dion	101
8.4.2.2.2 Synthese von 4-Methyl-6-pyridin-2-yl-pyrimidin in Anlehnung an Lafferty/Case	102
8.4.2.2.3 Synthese von 6-Pyridin-2-yl-pyrimidin-4-carbonsäure	103
8.4.2.2.4 Synthese von Tris-N-(4(2-pyridyl)-pyrimidin-6-carbonyl)-2-amino-methylethan (L^3)	104
8.4.3. Darstellung von $[(L^3-3H)Co]$	105
8.4.4 Synthese von 2-Hydroxypropyl- <i>p</i> -nitrophenylphosphat (HPNP)	105
8.5 Herstellung der Lösungen für UV/Vis-spektroskopische, massenspektrometrische und reaktionskinetische Untersuchungen	106
8.5.1 UV/VIS-spektroskopische Untersuchungen	106
8.5.1.1 Stammlösungen der Liganden L^1 - L^3	106
8.5.1.2 Stammlösungen der Metallsalze	106
8.5.1.3 Titrations von $[(L^3-3H)Co]$ mit Metallsalzen	107
8.5.1.4 Titrations von Metallkomplexen von L^3 mit Aminosäuren	107
8.5.1.5 Titration einer Lösung von $[(L^3-3H)Co]$ und verschiedenen Äquivalenten Aminosäure mit einer $Cu(NO_3)_2$ -Lösung	107
8.5.2 Präparation der Lösungen für MALDI- und ESI-MS	108
8.5.3. Katalytische Phosphodiester-spaltung	108
8.5.3.1 Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Cu-Konzentration	108

8.5.3.2	Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit vom pH-Wert	108
8.5.3.3	Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Substrat-konzentration (Michaelis-Menten-Kinetik)	109
8.5.3.4	Kompetitive Anionenbindung durch Kupfer(II)-Komplexe von L^3	110
A.	Anhang	111
A.1	Strukturparameter für $C_{35}H_{30}N_{12}O_3 (L^3) * H_2O$	111
A.2	Strukturparameter für $[(L^3-3H)Co]* 1.5 C_6H_5NO_2$	115
	Literaturverzeichnis	121
	Danksagung	125

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.1:	Substrataktivierung durch Zink	2
Abb. 1.2:	Metallinduzierte Senkung des pK_s -Wertes von Wasser	2
Abb. 1.3:	Struktur und Lage eines Zinkfingers an der DNA	3
Abb. 1.4:	Schematische Darstellung der von Urease katalysierten Hydrolyse des Harnstoffs	4
Abb. 1.5:	Hemmung des Enzyms durch einen dem Substrat strukturell ähnlichen Hemmstoff	6
Abb. 1.6:	Michaelis-Menten-Kenngrößen	6
Abb. 1.7:	Reaktionsinhibierung durch Konformationsänderung eines allosterisch regulierbaren Enzyms	8
Abb. 1.8:	Übergangszustand der Phosphorsäuremonoester-Hydrolyse durch die alkalische Phosphatase	9
Abb. 1.9:	Beispiel eines niedermolekularen Modells zur allosterischen Regulierung: $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$	10
Abb. 1.10:	Niedermolekulares Modell zur allosterischen Regulation mit zusätzlichen Amidfunktionen	11
Abb. 2.1:	Typen allosterischer Katalysatoren, die im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert werden sollten	13
Abb. 3.1:	Syntheschema des Liganden L^1 und verwandter Systeme	14
Abb. 3.2:	Amidkopplung der Pyrimidin-4,6-dicarbonensäure mit Hilfe von CDI	18
Abb. 3.3:	Schematische Darstellung des Liganden L^3	21
Abb. 3.4:	Syntheschema zur Herstellung des Liganden L^3	22
Abb. 3.5:	Syntheschema zur Darstellung von 1,1,1-Tris(aminomethyl)ethan	23
Abb. 3.6:	Syntheschema zur Herstellung der Zwischenverbindung 6-Pyridin-2-yl-pyrimidin-4-carbonsäure	24
Abb. 3.7:	Kristallstruktur und Nummerierungsschema des Liganden L^3	27
Abb. 4.1:	Spektrophotometrische Titration von L^1 ($1 \cdot 10^{-4}$ M) mit $Cu(NO_3)_2$ in DMSO	31
Abb. 4.2:	Spektrophotometrische Titration von L^1 ($1 \cdot 10^{-4}$ M) mit $Cu(NO_3)_2$	32

	in CHCl ₃ :MeOH 1:9	
Abb. 4.3:	Spektrophotometrische Titration von L ¹ (1*10 ⁻⁴ M) mit Cu(NO ₃) ₂ in CHCl ₃ :MeOH 1:9 mit 5 eq ClO ₄ ⁻ bzw. 5 eq DMP	33
Abb. 4.4:	Spektrophotometrische Titration von L ¹ (1*10 ⁻⁴ M) mit Co(NO ₃) ₂ bzw. Ni(NO ₃) ₂ in CHCl ₃ :MeOH 1:9	35
Abb 4.5:	Spektrophotometrische Titration von [(L ¹ - 2H)Co] bzw. [(L ¹ - 2H)Ni] mit Cu(NO ₃) ₂ in CHCl ₃ :MeOH 1:9 mit 5 eq DMP bzw. 5 eq ClO ₄	37
Abb. 5.1:	Spekrophotometrische Titration einer Lösung von L ³ und 3 eq Cu(II) mit Natriummethanolat als Base, Methanol:Chloroform 9:1	39
Abb. 5.2:	Schematische Darstellung der Liganden L ³ (links) und L ⁴ (rechts)	40
Abb. 5.3:	Spektrophotometrische Titration von L ³ (1*10 ⁻⁴ M) mit Cu(NO ₃) ₂ in DMSO	41
Abb. 5.4:	Spektrophotometrische Titration von L ³ (1*10 ⁻⁴ M) mit Cu(NO ₃) ₂ in CH ₂ Cl ₂ :CH ₃ CN 1:1	42
Abb. 5.5:	Spektrophotometrische Titration von L ³ (1*10 ⁻⁴ M) mit Ni(NO ₃) ₂ in CH ₂ Cl ₂ :CH ₃ CN 1:1	43
Abb. 5.6:	Kristallstruktur und Nummerierungsschema des Komplexes [(L ³ -3H)Co ⁹]	47
Abb. 5.7:	Cyclovoltogramm von [(L ³ -3H)Co] in DMF gegen verschiedene Referenzelektroden,	50
Abb. 5.8:	Spektrophotometrische Titration von [(L ³ -3H)Co] (1*10 ⁻⁴ M) mit Cu(I) in CHCl ₃ :MeOH 1:9	51
Abb. 5.9:	Spektrophotometrische Titration von [(L ³ -3H)Co] (1*10 ⁻⁴ M) mit Pd(OAC) ₂	52
Abb. 5.10:	Spektrophotometrische Titration von [(L ³ -3H)Co] (1*10 ⁻⁴ M) mit Cu(II)-Salzen in MeOH:CHCl ₃ 9:1	53
Abb. 5.11:	Spektrophotometrischen Titration von [(L ³ -3H)Co] (1*10 ⁻⁴ M) + 4 eq Cu(II) mit Aminosäuren in MeOH	56
Abb. 5.12:	schematische Darstellung der Koordination des Alanins am Cu(II) im [(L ³ -3H)CoCu ₃] ⁶⁺	56
Abb. 5.13:	Spektrophotometrische Titration von [(L ³ -3H)Co] (1*10 ⁻⁴ M) und 4 eq Cu(II) mit Aminosäuren in MeOH	57
Abb. 5.14:	Spektrophotometrische Titration von [(L ³ -3H)Co] (1*10 ⁻⁴ M) und	58

	4 eq Cu(II) mit Lysin in MeOH	
Abb. 5.15:	schematische Darstellung der verbrückenden Koordination von 2 Äquivalenten Lysin an $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$.	59
Abb. 5.16:	Spektrophotometrische Titration von $[(L^3-3H)Co]$ ($1 \cdot 10^{-4}$ M) und 3 eq Cu(II) mit Lysin in MeOH	59
Abb. 5.17:	Spektrophotometrische Titration von $[(L^3-3H)Co]$ ($1 \cdot 10^{-4}$ M) und 3 eq Cu(II) mit Alanin in MeOH	60
Abb. 5.18:	Spektrophotometrische Titration von $[(L^3-3H)Co]$ ($1 \cdot 10^{-4}$ M) mit Lysin:Cu-Komplexen unterschiedlichen Kupfergehaltes in MeOH:CHCl ₃ 9:1	61
Abb. 5.19:	Schematische Gegenüberstellung der intramolekularen Verbrückung von drei Kupferzentren mit zwei eq Lysin im Gegensatz zur Koordination von 3 eq Lysin	61
Abb. 5.20:	Spektrophotometrische Titration von $[(L^3-3H)Co]$ ($1 \cdot 10^{-4}$ M) und Alanin mit Cu(NO ₃) ₂ in MeOH:CHCl ₃ 9:1	62
Abb. 5.21:	Spektrophotometrische Titration von $[(L^3-3H)Co]$ ($1 \cdot 10^{-4}$ M) und Lysin mit Cu(NO ₃) ₂ in MeOH:CHCl ₃ 9:1	64
Abb. 5.22:	ESR-Spektrum von $[(L^3-3H)CoCu_2]^{4+}$ in gefrorenem DMSO	66
Abb. 5.23:	ESR-Spektrum in gefrorenem DMSO von $[(L^3-3H)CoLys_2Cu_3]^{4+}$	67
Abb. 6.1:	Darstellung von HPNP	69
Abb. 6.2:	Spaltung von HPNP	69
Abb. 6.3 :	pH-abhängiges Gleichgewicht zwischen NP und Npat	70
Abb. 6.4:	Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten k_{obs} bei der Hydrolyse von HPNP in Abhängigkeit von der zugesetzten Menge an Cu(II)	72
Abb. 6.5:	pH-Abhängigkeit der HPNP-Umesterung durch $[(L^3-2H)Cu_4]^{6+}$	74
Abb. 6.6:	Geschwindigkeit (dc/dt) der HPNP-Umesterung durch 10^{-4} M $[(L^3-2H)Cu_4]^{6+}$ bei unterschiedlicher Substratkonzentration.	75
Abb. 6.7:	Lineweaver-Burk-Darstellung der katalytischen HPNP-Umesterung durch $[(L^3-2H)Cu_4]^{6+}$. Abhängigkeit von $(dc/dt)^{-1}$ von $[HPNP]^{-1}$	77
Abb. 6.8:	Relative Geschwindigkeiten (v_{rel}) der Umesterung von HPNP durch 10^{-4} M $[(L^3-2H)Cu_4]^{6+}$ in Anwesenheit inhibierender Anionen in verschiedener Konzentration	79

Abb. 6.9:	Relative Geschwindigkeiten (v_{rel}) der Umesterung von HPNP durch 10^{-4} M $[(L^3-2H)Cu_4]^{6+}$ in Anwesenheit schwach inhibierender Anionen in verschiedener Konzentration	80
Abb. 6.10:	Spektrophotometrische Titration von $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$ in Abhängigkeit von der Zugabe von organischen Substraten	84
Abb. 6.11:	Spektrophotometrische Titration von $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$ in Abhängigkeit von der Zugabe von Hydrochinon und verschiedenen Mengen Base	85
Abb. 7.1:	Dargestellte Liganden	89
Abb. 7.2:	Kristallstruktur von $[(L^3-3H)Co] \cdot 1.5 C_6H_5NO_2$	89
Abb. 7.3:	Spaltung von HPNP	90

Tabellenverzeichnis

Tab. 3.1:	Kristalldaten und Details der Strukturlösung und Strukturverfeinerung von L^3	27
Tab. 5.1:	Kristalldaten und Details der Strukturlösung und Strukturverfeinerung von $[(L^3-3H)Co]$	46
Tab. 5.2:	Zusammenstellung von verschiedenen Aminosäuren und ihrem Einfluss auf die Stabilität von $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$	55
Tab. 5.3:	Titrationen von $[(L^3-3H)Co]$ und verschiedenen Äquivalenten Aminosäure mit $Cu(NO_3)_2$	62
Tab. 5.4:	Intensitäten der Peaks von $[(L^3-3H)CoCu_x]$ und seinen Komplexen mit 2 eq Lysin	65
Tab. 6.1:	Vergleich der Werte für K_{HPNP} und k_{cat} für die katalytische Umesterung von HPNP durch den Katalysator $[(L^3-2H)Cu_4]^{6+}$ und $[(L^4-2H)Cu_3]^{4+}$	77
Tab. 6.2:	Anionenbindungskonstanten K für den $(L^3-2H)Cu_4$ -Komplex und Cu^{2+}	81
Tab. A.1.1:	Atomkoordinaten ($\times 10^4$) und äquivalente isotrope Temperaturfaktoren [$\text{\AA}^2 \times 10^3$] mit Standardabweichung für Ligand L^3	111
Tab. A.1.2:	Bindungsabstände [\AA] mit Standardabweichung für Ligand L^3	111

Tab. A.1.3:	Bindungswinkel [°] mit Standardabweichung für Ligand L^3	112
Tab. A.1.4:	Anisotrope Temperaturfaktoren [\AA^2] mit Standardabweichung für Ligand L^3	113
Tab. A.1.5:	Koordinaten der Wasserstoffatome ($\times 10^4$) und anisotropen Temperaturfaktoren ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) für Ligand L^3	113
Tab. A.1.6:	Torsionswinkel [°] für den Liganden L^3	114
Tab. A.1.7:	Bindungsabstände und –winkel [\AA and °] der Wasserstoffbrückenbindungen für Ligand L^3	115
Tab. A.2.1:	Atomkoordinaten ($\times 10^4$) und äquivalente isotrope Temperaturfaktoren [$\text{\AA}^2 \times 10^3$] mit Standardabweichung für Komplex $[(L^3-3H)Co]$.	115
Tab. A.2.2:	Bindungsabstände [\AA] mit Standardabweichung für den Komplex $[(L^3-3H)Co]$.	116
Tab. A.2.3:	Bindungswinkel [°] mit Standardabweichung für den Komplex $[(L^3-3H)Co]$	116
Tab. A.2.4:	Anisotrope Temperaturfaktoren [\AA^2] mit Standardabweichung für Komplex $[(L^3-3H)Co]$	118
Tab. A.2.5:	Koordinaten der Wasserstoffatome ($\times 10^4$) und anisotropen Temperaturfaktoren ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) für Komplex $[(L^3-3H)Co]$	118
Tab. A.2.6:	Torsionswinkel [°] für $[(L^3-3H)Co]$	119

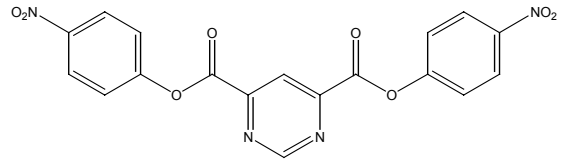
Abkürzungsverzeichnis

9-NA	9-Nitroanthracen, Matrix für MALDI-MS
abs.	absolut
ATP	Adenosintriphosphat
CDI	1,1'-Carbonyldiimidazol
CI	Chemical Ionisation, Ionisationsmethode in der MS
DHB	3,5-Dihydroxybenzoesäure, Matrix für MALDI-MS
DC	Dünnschichtchromatographie
DIT	Dithranol, Matrix für MALDI-MS
DMF	Dimethylformamid
DMP	Natriumdimethylphosphat
DMSO	Dimethylsulfoxid
EI	Electron Ionisation, Ionisationsmethode in der MS
ESI	Electrospray Ionisation, Ionisationsmethode in der MS
FAB	Fast-atom Bombardment, Ionisationsmethode in der MS
HEPES	Puffer, N-(2-Hydroxyethyl)piperazin-N'-ethansulfonsäure-natriumsalz
HPNP	2-Hydroxypropyl- <i>p</i> -nitrophenylphosphat
HV	Hochvakuum
IR	Infrarot (Wellenlängenbereich)
LDI	Laser desorption/ionization, Ionisationsmethode in der MS
MALDI	Matrix-assisted laser desorption/ionization, Ionisationsmethode in der MS
MES	Puffer, 2-(N-Morpholino)ethansulfonsäure-natriumsalz
M _f	funktionelles Metallion
MOPS	Puffer, 3-(N-Morpholino)propansulfonsäure-natriumsalz
MS	Massenspektrometrie
M _s	strukturelles Metallion
NBA	3-Nitrobenzylalkohol, Matrix für FAB-MS
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
<i>p</i> -NP	<i>p</i> -Nitrophenol
<i>p</i> -NPat	<i>p</i> -Nitrophenolat
R _f	Ratio of Fronts
RNA	Ribonucleinsäure

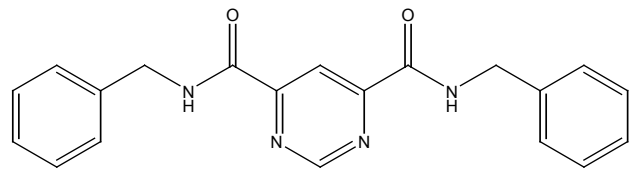
SA	Sinapinsäure, Matrix für MALDI-MS
TAME	2-Aminomethyl-2-methylpropan-1,3-diamin
TEA	Triethylamin
THF	Tetrahydrofuran
UV/VIS	Ultraviolett/visible (Wellenlängenbereich)

Dargestellte Substanzen

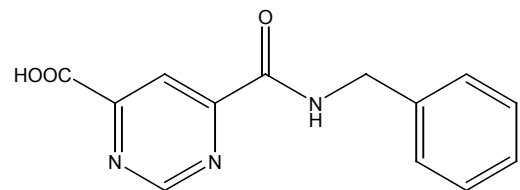
Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure-bis-(4-nitrophenyl)ester



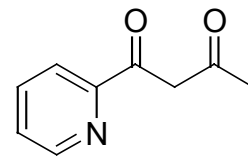
Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure-bis-benzylamid



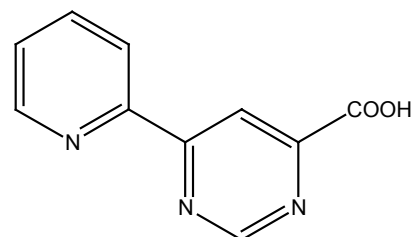
6-Benzylcarbamoyl-pyrimidin-4-carbonsäure



1-Pyridin-2-yl-butan-1,3-dion

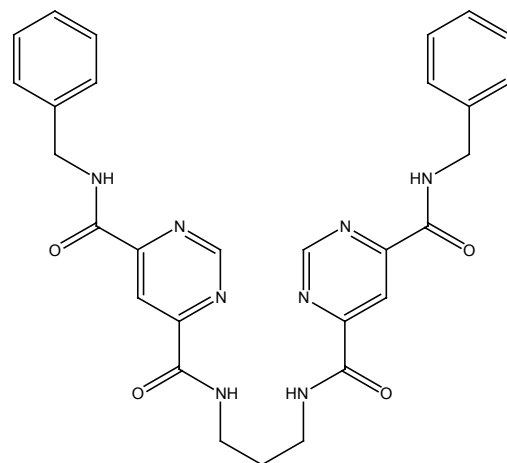


6-Pyridin-2-yl-pyrimidin-4-carbonsäure

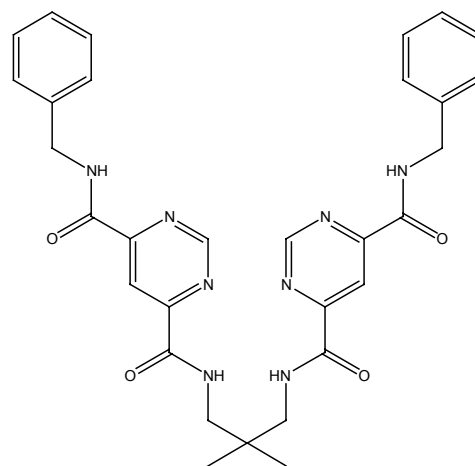


dargestellte Liganden

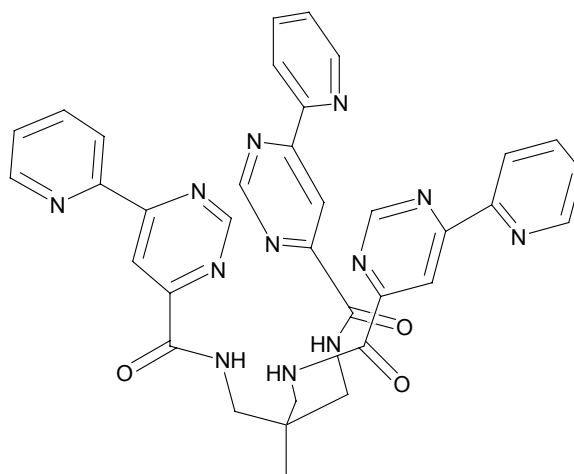
Bis-N[4-(N-benzylformamid)-pyrimidin-6-carbonyl]-
1,3-diaminopropan
(L¹)

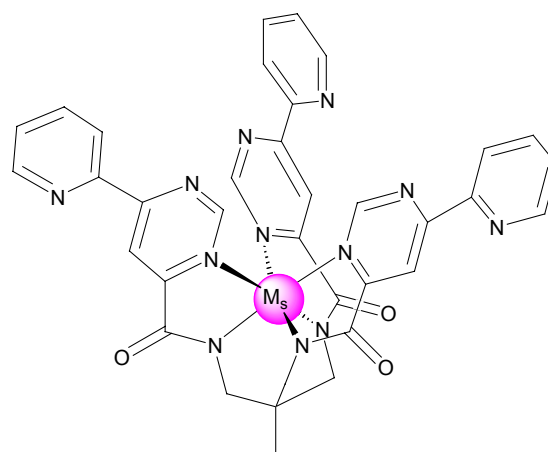
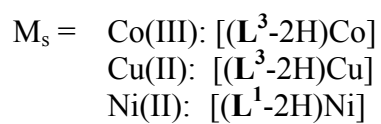
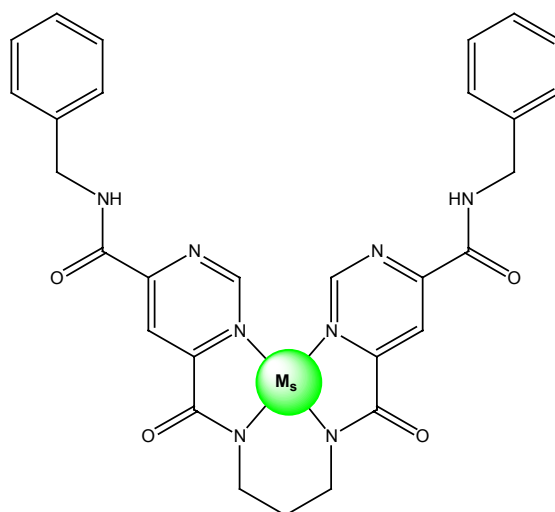
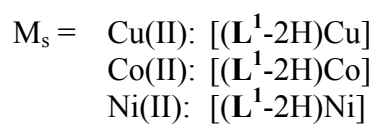
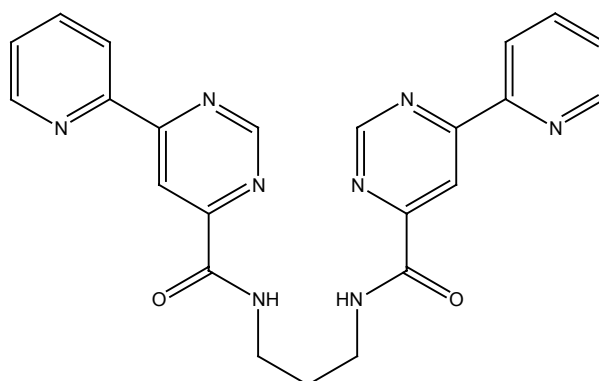
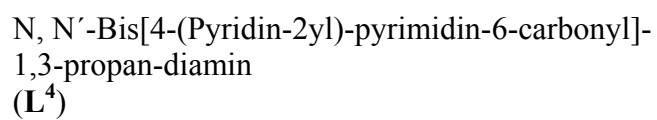


Bis-N[4-(N-benzylformamid)-pyrimidin-6-carbonyl]-
1,3-diamino-2,2-dimethylpropan
(L²)



Tris-N-(4-(2-pyridyl)-pyrimidin-6-carbonyl)-2-
amino-methylethan
(L³)



Metallkomplexe:**Referenzligand :**

1. Einleitung

1.1 Metallionen *in vivo*

Metalle sind für den lebenden Organismus von großer Bedeutung, um Stoffwechselprozesse aufrecht zu erhalten. Dabei unterscheidet man die Mengenelemente wie Natrium, Kalium oder Calcium von den Spurenelementen.

Die Funktion der Mengenelemente besteht unter anderem in der Bildung anorganischer Strukturen wie den Knochen, oder sie dienen als Elektrolyte und sind an Signalübertragungen beteiligt.

Unter Spurenelementen, die nur 0.1% des Körpergewichtes ausmachen, versteht man z. B. Eisen, Zink, Kupfer, Kobalt oder Mangan, die im Körper nicht in freier Form, sondern koordiniert vorliegen. In Enzymen übernehmen sie sowohl funktionelle als auch strukturelle Aufgaben.

Metalloenzyme bestehen aus einem langkettigen Polypeptid, dem Apoenzym, und einem oder mehreren fest gebundenen Metallionen. Die Gestalt des Enzyms hängt von der Primärstruktur (der Aminosäuresequenz), der Sekundärstruktur (α -Helix oder β -Faltblatt), der Tertiärstruktur (der räumlichen Anordnung der Polypeptidkette) und u. U. auch von der Quartärstruktur bei Enzymen aus mehreren Polypeptidketten ab.

Die strukturellen Metalle sind mitverantwortlich für die Gesamtstruktur des Enzyms.^[1-5]

Fast ein Drittel der bekannten Enzyme benötigt für ihre katalytische Aktivität Metallionen. Diese sind vorwiegend auf drei Arten am katalytischen Prozess beteiligt:

- Sie binden Substrate, damit diese für die Reaktion in einer günstigen Konformation vorliegen.
- Sie dienen durch reversible Änderung der Oxidationsstufe als Elektronendonatoren oder -akzeptoren.
- Sie stabilisieren durch elektrostatischen Ausgleich negative Ladungen und sorgen für Abschirmung derselben.^[6]

So kann z. B. Zn^{2+} bei Hydrolysereaktionen die Reaktanden orientieren und aktivieren.^[2,3,7,8]

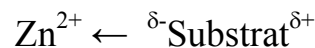


Abb. 1.1 Substrataktivierung durch Zink

Durch Änderung der Oxidationsstufe kann die Koordinationssphäre des Metalls geändert werden. Ein Beispiel hierfür ist das Eisen im Hämoglobin.^[2]

Für andere Reaktionen ist die Lewis-Acidität von großer Bedeutung. So reagieren einige Metallionen bei neutralem pH sauer und können den pK_s -Wert von Wasser von 14 auf ca. 6 senken.^[2] Dadurch können bei pH 7 Hydroxid-Ionen als Nucleophile für enzymatische Reaktion vorliegen.

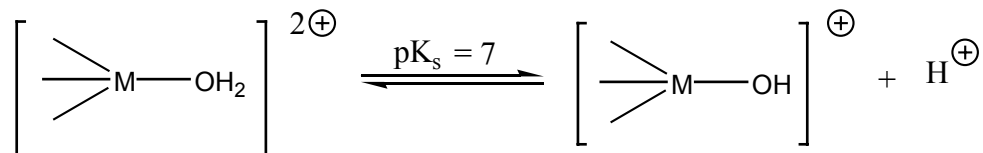


Abb. 1.2: Metallinduzierte Senkung des pK_s -Wertes von Wasser

Metalloenzyme sind also hochfunktionelle Biokatalysatoren, die viele lebensnotwendige Reaktionen unter physiologischen Bedingungen überhaupt erst ermöglichen und während der Evolution eine außergewöhnlich hohe Selektivität und Ökonomie erreicht haben.

1.2 Die Rolle von Metallen in Enzymen: ausgewählte Beispiele

1.2.1 Strukturelle Rolle von Metallionen in Proteinen

Ein klassisches Beispiel für die strukturelle Aufgabe eines Metallionens bieten die sogenannten Zinkfinger (siehe Abb. 1.3). Diese Ausstülpungen an Proteinketten sind wesentliche Strukturmerkmale der Transkriptionsfaktoren, die bei der Proteinbiosynthese zur Umschreibung der DNA in RNA benötigt werden. Ihre Aufgabe ist die für die RNA-Polymerase selbst nicht mögliche Erkennung von Sequenzen, die den Beginn der Transkription auf der DNA markieren.^[2,3,9]

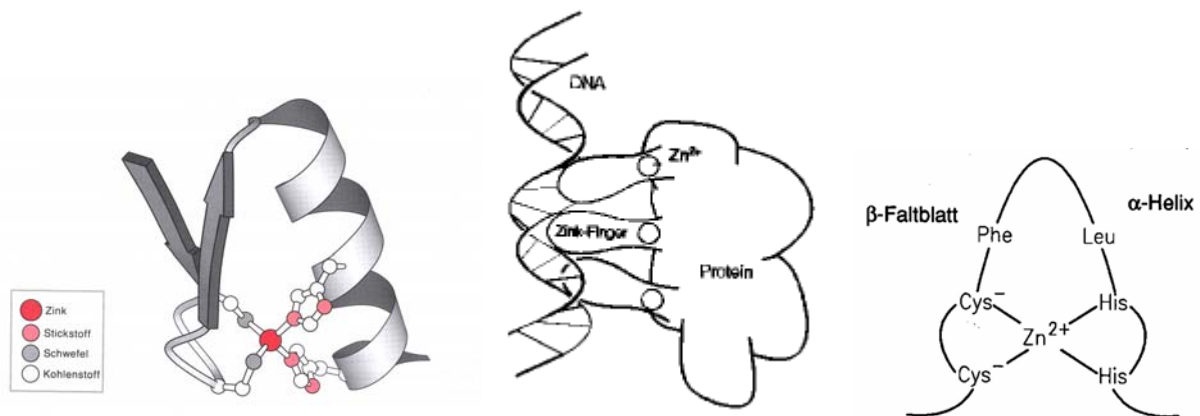


Abb. 1.3: Struktur und Lage eines Zinkfingers an der DNA ^[2,3]

Da die Koordinationssphäre des Zinks durch Cystein- und Histidin-Reste des Proteins abgesättigt ist und dem damit bedingten Fehlen von freien Koordinationsstellen für die Bindung von Substraten können funktionelle Aufgaben des Metalls ausgeschlossen werden. Zink eignet sich für strukturelle Aufgaben in besonderem Maße, da es im Gegensatz zu anderen Metallen keine Neigung zu Redoxaktivität zeigt. Andere Metalle können unter physiologischen Bedingungen ihre Oxidationsstufe ändern oder Radikale erzeugen.

1.2.2 Funktionelle Metallionen in Proteinen

Von speziellem Interesse im Zusammenhang mit der Zielsetzung dieser Arbeit sind Enzyme mit homo- bzw. heterodinuclearem Zentrum ^[2,3,10]. Die darin enthaltenen Metallionen haben dabei funktionelle Aufgaben. Ohne sie sind die entsprechenden Enzyme inaktiv oder nur schwach aktiv. Dazu zählen z.B. die Urease ^[10,11], die Methan-Monooxygenase ^[3,10], die Violette Saure Phosphatase ^[12], die Alkalische Phosphatase (siehe Kapitel 1.3.4) und die Superoxid-Dismutase. ^[2,3]

1.2.3 Urease

Bei dem Enzym Urease dient Nickel als funktionelles Metall. Es findet sich in Bakterien (z.B. *Heliobacter pylori* und *Klebsiella aerogenes*), Pilzen und verschiedenen Pflanzen.

Das Holoenzym der aus Schwertbohnen gewonnenen Urease besteht aus sechs Untereinheiten mit Molekülmassen von je 91 kDa. Das aktive Zentrum beinhaltet zwei Nickelatome in einem Abstand von 3.5 Å, die über eine Carbamatgruppe verbunden sind. Diese entsteht durch

Reaktion von Lysin und Kohlendioxid. ^[33,34] Das Enzym katalysiert die Hydrolyse von Harnstoff, wobei CO_2 und NH_3 entstehen.

Das eine Nickelion des aktiven Zentrums koordiniert drei Liganden (zwei His-Reste und ein Carbamat) und geht eine schwache Bindung mit einem vierten Liganden (dem Substrat Harnstoff) ein. Hierbei handelt es sich um eine pseudotetraedrische Anordnung der Liganden. Das andere Nickelion ist von fünf Liganden umgeben (zwei His-Reste, ein Carbamat, ein Asp-Rest und Wasser). ^[34]

Dabei orientiert und aktiviert ein Ni-Ion den Harnstoff, das andere koordiniert das Nucleophil Wasser.

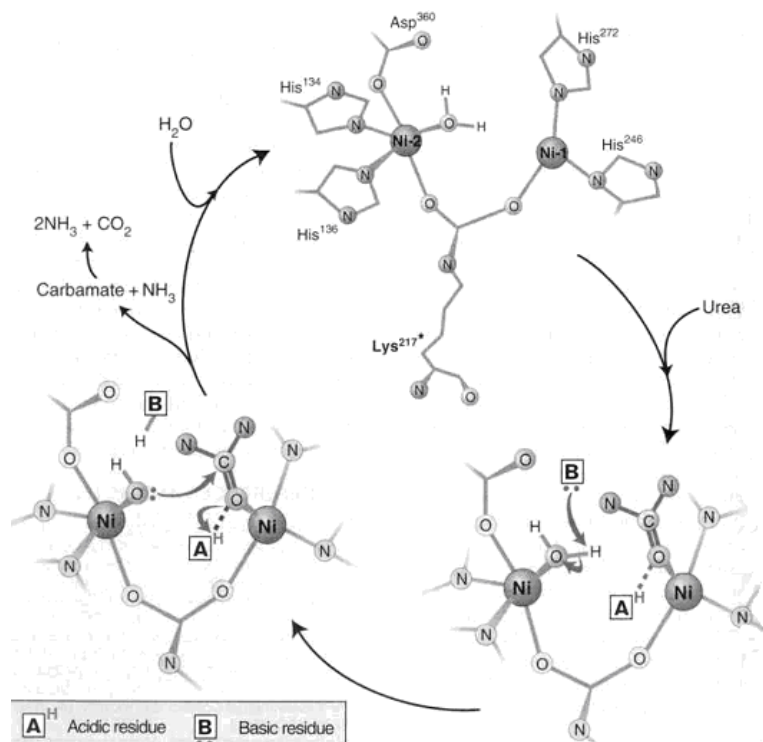


Abb. 1.4: Schematische Darstellung der von Urease katalysierten Hydrolyse des Harnstoffs ^[33]

Hierdurch wird die Hydrolyse des Harnstoffes um den Faktor 10^{14} beschleunigt.

1.2.4 Cu, Zn-Superoxiddismutase – ein Typ-2-Kupferprotein

Die Cu,Zn-Superoxiddismutase (SOD), die in den 60er Jahren aus Rindererythrocyten erstmals isoliert werden konnte, ist ein heterodinukleares Enzym. Seine Aufgabe besteht darin, Superoxid in Wasserstoffperoxid zu überführen, welches dann seinerseits durch die Katalase zum unschädlichen Wasser umgesetzt wird ^[1-5,20].



In einem sog. β -Fass – einer Struktur aus antiparallelen β -Faltblattketten, befindet sich das aktive Zentrum. In diesem sind die beiden Metallionen umgeben von drei Histidin-Stickstoffen (Cu) bzw. von zwei Histidinen und einem Asparagincarboxylat (Zn). Die beiden Ionen haben einen mit 5.94 Å relativ großen Abstand zueinander. Dieser resultiert aus einer Verbrückung über einen Imidazolrest des Histidin⁶³. Während die Koordinationssphäre des Zink wie gewöhnlich tetraedrisch ist, ist die Kupferumgebung quadratisch planar, wobei ein weiteres Wassermolekül weiter entfernt apikal koordiniert wird. Aufgrund fehlender Wechselwirkungen mit anderen im Enzym vorhandenen Kupferatomen und des normalen spektroskopischen Verhaltens spricht man hier von einem Typ-2-Kupferzentrum.

Diese Art Enzym katalysiert Oxidationen, sowohl mit als auch ohne Einbau eines oder beider Sauerstoffatome von O_2 oder H_2O_2 in ein Substratmolekül (Oxidasen bzw. Monooxygenasen/Dioxygenasen). Weitere typische Beispiele für solche Enzyme sind die Galactose-Oxidase und die Dopamin- β -Monooxygenase.

1.3 Allosterische Metalloenzyme

1.3.1 Regulationsmechanismen

Im biochemischen Zusammenspiel verschiedenster Stoffwechselprozesse spielen selbstverständlich auch Regulationsmechanismen eine große Rolle. Da die Abhängigkeiten insgesamt sehr komplex sind, soll durch diese Ausführungen nur ein grundlegender, Erklärungsansatz zu den Abläufen bei der Regulation der Enzymkatalyse geleistet werden.^[1-6] Oft geschieht die Regulation der Enzymaktivität durch Drittsubstanzen. Diese können sowohl aktivierend als auch deaktivierend (inhibierend) wirken.

1.3.2 Inhibierung von Enzymen

Bei der Inhibierung von Enzymen unterscheidet man zwischen zwei wichtigen Formen: kompetitive und nicht-kompetitive Hemmung. Außerdem können Substrathemmung und die unspezifische irreversible Hemmung, die durch Denaturierung des Proteingerüsts entsteht, bei Enzymen eine große Rolle spielen.^[1-6, 35]

1.3.2.1 Kompetitive Hemmung/Verdrängungshemmung

Bei der kompetitiven Hemmung sind Hemmstoffe dem Substrat chemisch ähnlich. Sie werden jedoch nicht umgesetzt, besetzen aber das aktive Zentrum des Enzyms, sodass das eigentliche Substrat nicht an das Enzym binden kann.

Das Hemmstoffmolekül konkurriert mit dem Substrat um den Platz am aktiven Zentrum. Im Bild des Schlüssel-Schloss-Modells stellt der Hemmstoff eine gut angepasste Kopie des Schlüssels dar ^[36]. Durch das Verdrängen des Substrates durch den Hemmstoff ergibt sich eine niedrigere Enzym-Substrat-Komplexkonzentration, die eine niedrigere Reaktionsrate bedingt.

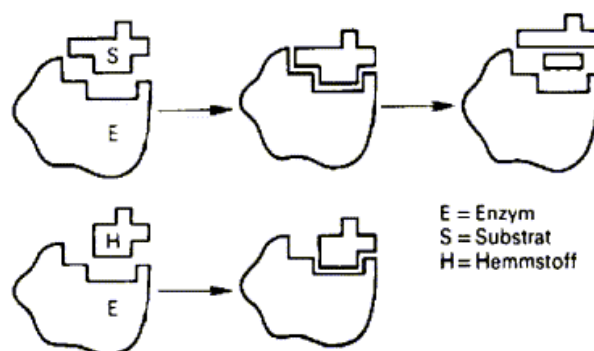


Abb. 1.5: Hemmung des Enzyms durch einen dem Substrat strukturell ähnlichen Hemmstoff.

Von den Kenngrößen der von Michaelis und Menten beschriebenen Enzymkinetik ändert sich daher nur die Bindungskonstante des Substrates an den Biokatalysator (K_M) um die vom Inhibitor abhängige Gleichgewichtskonstante (K_i), nicht jedoch die eigentliche Spaltungsgeschwindigkeit des Enzym-Substrat-Komplexes (v_{\max} bzw. k_{cat}) ^[1-6,35,37] (siehe auch Abb. 1.6.). Nähere Erläuterungen zur Berechnung von K_M , k_{cat} und v_{\max} finden sich in Kapitel 6.2.2.3 und 6.2.2.5). Erhöht man die Substratkonzentration, so kann der Hemmstoff verdrängt werden. Bei genügend hoher Substratkonzentration kann so trotz Anwesenheit des Inhibitors die maximale Reaktionsgeschwindigkeit v_{\max} erreicht werden.

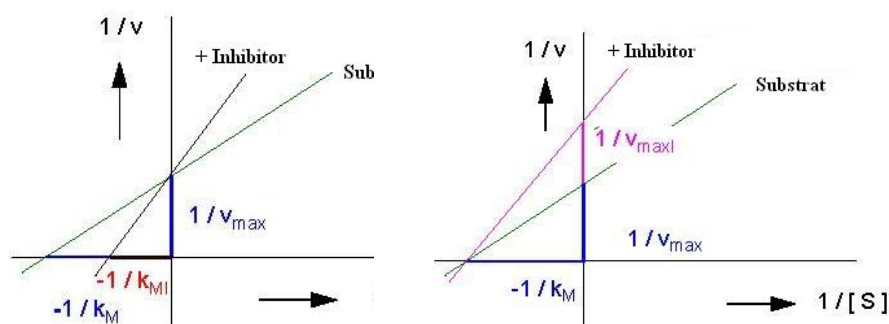


Abb. 1.6: Michaelis-Menten-Kenngrößen, links: kompetitive Hemmung, rechts: nicht-kompetitive Hemmung ^[35]

1.3.2.2 Nicht-kompetitive Hemmung

In diesem Fall tritt die Störung der Enzymfunktion durch die Bindung eines Inhibitors außerhalb des aktiven Zentrums ein. Dabei ändert sich die Affinität zum Substrat nicht, K_M bleibt also konstant, jedoch ist die Reaktion des Substrates nicht mehr so schnell - also sinkt v_{\max} (siehe auch Abb. 1.6).

Klassisches Beispiel für die nicht-kompetitive Hemmung ist zum einen die Hemmung vieler Enzyme durch Schwermetalle, wie Kupfer und Quecksilber. Sie koordinieren vorzugsweise schwefelhaltige Aminosäuren und lagern sich auch an Disulfidbrücken an. Ein anderes Beispiel ist die Koordination von Fluorid oder Cyanid an die Schwermetalle der Enzyme. ^[1-6,35,37]

1.3.3 Allosterie

Allosterie ist ein weiterer wichtiger Mechanismus zur Steuerung der katalytischen Aktivität eines Enzyms. Man versteht darunter die reversible Veränderung der Konformation des aktiven Zentrums in einem Enzym durch eine weitere Substanz. Diese Drittsubstanz wird als Effektor oder Modulator bezeichnet. Handelt es sich beim Modulator und dem Substrat um denselben Liganden, so wird dies als homotroper Effekt bezeichnet, handelt es sich dagegen um unterschiedliche Liganden, so spricht man von einem heterotropen Effekt.

Häufig handelt es sich bei den Effektoren um Zwischen- und Endprodukte der Stoffwechselkette (z. B. Cytidintriphosphat (CTP) bzw. ATP bei der Aspartat-Carbamoyl-Transferase).

Die allosterische Regulation kann eine positive Wirkung erzielen und zu einer Geschwindigkeitserhöhung beitragen. Sie kann aber genauso negativ sein und die Reaktion hindern bzw. stoppen. Daher dienen häufig auch Produkte als Modulatoren (Produkthemmung).^[6]

Die allosterische Regulierung kann auch durch Austausch der Metallionen im allosterischen Zentrum erfolgen. ^[1-6,35,37-39]

Im Allgemeinen entstehen allosterische Effekte aus Wechselwirkungen zwischen den Untereinheiten oligomerer Proteine oder durch die Veränderung der Tertiärstruktur.^[6]



Abb. 1.7: Reaktionsinhibierung durch Konformationsänderung eines allosterisch regulierbaren Enzyms ^[35]

1.3.4 Alkalische Phosphatase

Ein Beispiel für ein allosterisch reguliertes Enzym mit zwei funktionellen Metallionen und einem strukturellen Metallion ist die Alkalische Phosphatase ^[10,13]. Deren Eigenschaften sollten in dieser Arbeit nachgeahmt werden. Bei ähnlichen Enzymen mit drei Zink-Ionen, wie der Nuclease P1 und der Phospholipase C, ist die Aufgabenverteilung nicht genau bekannt ^[14,10]. Die Alkalische Phosphatase, die u.a. in *E. coli* vorkommt, besitzt ein strukturelles Magnesium-Ion und zwei funktionelle Zink-Ionen. Sie katalysiert die Hydrolyse von Phosphorsäuremonoestern in leicht alkalischer Umgebung (pH 8). Man geht davon aus, dass die Phosphatase an der Mineralisation und Demineralisation der Knochen in Osteoblasten beteiligt ist. Das aktive Zentrum ist vergleichsweise klein. Dadurch werden Substrate recht unspezifisch gebunden und es resultiert eine große Bandbreite von möglichen Substraten. Die die Hydrolyse katalysierenden Zink-Ionen liegen an der Proteinoberfläche etwa 4 Å voneinander entfernt. Das strukturelle Magnesium-Ion, welches sich in einer Entfernung von etwa 5 Å bzw. 7 Å zu den Zink-Ionen befindet, ist für die korrekte Faltung des Proteinmoleküls essentiell.

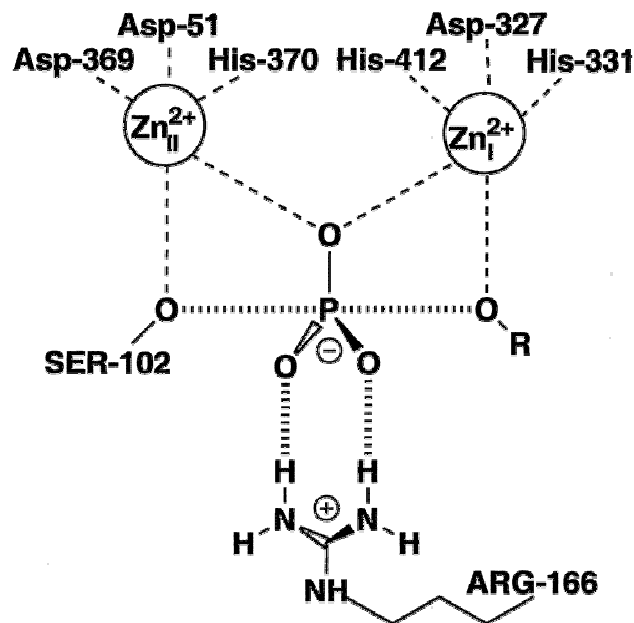


Abb. 1.8: Übergangszustand der Phosphorsäuremonoester-Hydrolyse durch die alkalische Phosphatase ^[3,90]

Die Hydrolyse der Phosphorsäuremonoester geschieht über den in Abb. 1.8. gezeigten Übergangszustand, an dem beide Zink-Ionen und ein nahegelegenes Serin-Alkoholat-Nucleophil teilnehmen ^[13,15,16]. Durch den im Enzym vorhandenen Argininrest wird der Phosphorsäureester für die Reaktion optimal positioniert und gleichzeitig aktiviert.

Versuche, in denen die Zink-Ionen aus dem Enzym entfernt und durch andere Metall-Ionen ersetzt wurden, ergaben, dass nur mit Zink-, Kobalt- und wahrscheinlich Quecksilber-Ionen hohe katalytische Aktivität erreicht werden kann. ^[17,18,19]

1.4 Design eines niedermolekularen Modells für die allosterische Regulation von Enzymen

Wie bereits erläutert, können Metallionen dazu dienen, eine allosterische Regulierung der katalytischen Aktivität zu erreichen. Dieses Prinzip kann von Enzymen auf niedermolekulare Metallkomplexe übertragen werden.

Als allosterisch regulierbares Enzymmodell diente in dieser Arbeit ein Ligand mit Bindungsstellen für ein strukturelles und drei funktionelle Metallionen.

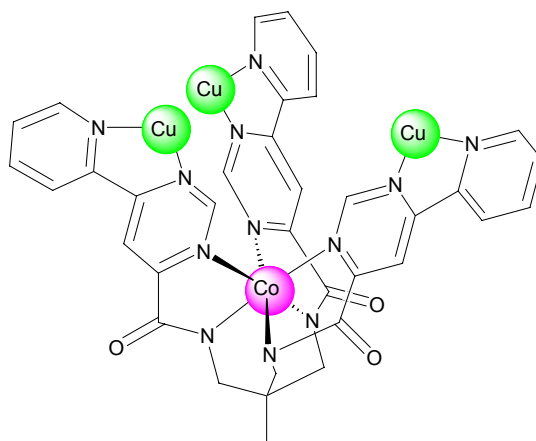


Abb. 1.9: Beispiel eines niedermolekularen Modells zur allosterischen Regulierung: $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$

In vorherigen Arbeiten mit ähnlichen Liganden, z.B. L^4 , die jedoch nur 2 Arme anstatt der in Abb. 1.9 gezeigten drei aufwiesen, konnte gezeigt werden, dass sowohl strukturgebende als auch funktionelle Metallionen koordiniert werden können. Auch der Effekt der allosterischen Regulierung konnte bereits an diesen Systemen nachgewiesen werden ^[51].

Bei Einsatz unterschiedlicher struktureller Metalle M_s (in Abb. 1.9 rosa) verändert sich auch die Distanz der daraufhin gebundenen funktionellen Metalle M_f (in Abb. 1.9 grün). Das strukturelle Metall fungiert damit als allosterischer Regulator. Mit Austausch des strukturellen Metalls kommt es zu einer Veränderung der Konformation des Liganden. Dadurch ändert sich der Entfernung der funktionellen Metalle und diese können so eine für eine Reaktion optimale Position relativ zueinander einnehmen.

Die funktionellen Metalle hingegen verändern das Molekülgerüst des Katalysators nicht, sondern dienen als Koordinationsstellen für die Substrate oder aktivieren die Edukte, sodass eine Reaktion erst möglich wird.

Die funktionellen Metalle sollen - ähnlich wie bei der Urease - durch Koordination der Substrate eine Reaktion durch einen nucleophilen Angriff katalysieren. Hierfür müssen die Substrate gebunden werden und deren funktionellen Gruppen in räumliche Nähe zueinander gebracht werden. Eine weitere Funktion besteht in der Koordination eines Nucleophils, dass so ebenfalls nahe zum Substrat gebracht wird.

Durch das dritte funktionelle Metall kann noch zusätzlich eine lewissaure Aktivierung erfolgen. Auch bei Peptidasen und Esterasen kann durch Koordination an ein Zink-Ion eine

Aktivierung erfolgen, so dass ein nukleophiler Angriff schneller und besser erfolgen kann. Hierbei wird der Kohlenstoff des Carbonsäureesters bzw. des Carboxamids durch den Elektronenzug des Zinks am doppelt gebundenen Sauerstoff positiviert.^[2]

Ein zweiter (2-dimensionaler) Ligandentyp wurde derartig designed, dass als zweizählige Koordinationsstelle für die funktionellen Metallionen eine Pyrimidinyl-carbonsäureamid-Einheit vorhanden ist.

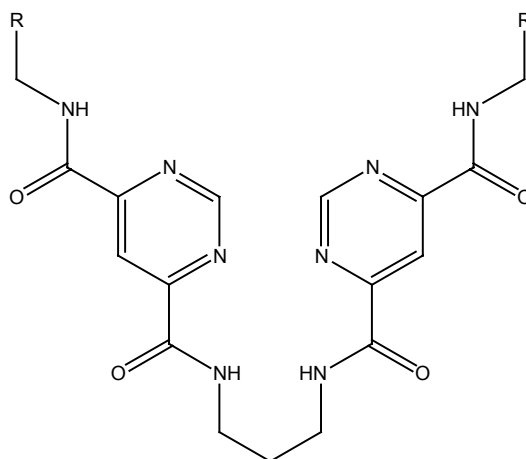


Abb. 1.10: Niedermolekulares Modell zur allosterischen Regulation mit zusätzlichen Amidfunktionen

Der Vorteil dieses Ligandentyps besteht in der universell einsetzbaren Methode der Amidkopplung, so dass potenziell eine Ligandenbibliothek zugänglich ist.

1.5 Templatreaktionen

Templatreaktionen haben den Vorteil, dass selbst bei einer niedrigen Konzentration zwei oder mehr Substrate miteinander reagieren. Die Substrate werden an das Templat gebunden, womit die Wahrscheinlichkeit steigt, dass bei niedrigen Konzentrationen die beiden Reaktanden zusammengeführt werden.

Die Gesamtkonzentration des Substrats in Lösung steigt nicht durch ein Templat, aber durch die Koordination der Substrate an das Templat wird an dieser Stelle der Lösung die Konzentration erhöht. Man spricht daher von einer lokalen Konzentrationserhöhung.

Weiterhin werden die Substrate mit ihren reaktiven Gruppen durch die Bindung an das Templat in eine relative räumliche Nähe gebracht, so dass eine Reaktion dadurch begünstigt wird.

Durch Bindung von verschiedenen Substraten an die freien Koordinationsstellen der Metallkomplexe, die in dieser Arbeit dargestellt wurden, sind die o.g. Voraussetzungen für eine Templatsynthese gegeben. Eine dazu durchgeführte Reaktion besteht in der Kondensation zweier Aminosäuren zu einem Peptid. Nähere Erläuterungen finden sich in Kap. 6.4.

2. Zielsetzung

In der Natur ist die Aktivität vieler Enzyme durch allosterische Regulationsmechanismen steuerbar. Dies stellt einen wichtigen Kontrollmechanismus dar.

Im Labor hingegen wurden die ersten allosterisch regulierbaren Modellverbindungen für Enzyme erst vor kurzem von der Arbeitsgruppe Krämer vorgestellt. An diesen niedermolekularen Modellverbindungen können allosterische Regulationsmechanismen näher untersucht werden.

Die bislang dargestellten Liganden sind jedoch nur schwer und in kleinen Mengen zu synthetisieren.

Daher lassen sich für folgende Arbeit zwei Ziele formulieren:

- 1) Es sollten neue, allosterisch regulierbare Metallkomplekxkatalysatoren (s. Abb. 2.1 rechts) synthetisiert werden, in denen zwei „funktionelle“ Metallionen bei der Katalyse zusammenwirken. Dafür sollte ein Syntheseweg gefunden werden, der die Darstellung der Liganden in größeren Mengen erlaubt. Zudem sollte die Synthese so gestaltet sein, dass das Ligandengerüst leicht diversifiziert werden kann.
- 2) Es sollte ein Ligand mit Koordinationsstellen für drei funktionelle und einem strukturellen Metall dargestellt werden, an dem das Zusammenwirken dreier Metallionen bei der Katalyse untersucht werden soll (s. Abb. 2.1 links).

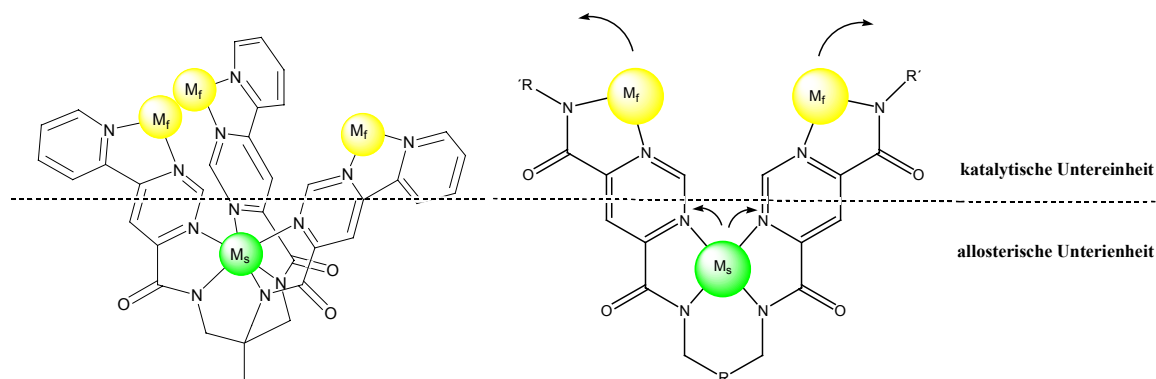


Abb. 2.1: Typen allosterischer Katalysatoren, die im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert werden sollten. M_S = strukturelles (allosterisches) Metallion, M_F = funktionelles (katalytisches) Metallion

3. Synthese der Ligandsysteme

3.1 Synthese des Liganden Bis-N,N'-[4-(N-benzylformamid)-pyrimidin-6-carbonyl]-1,3-diaminopropan (L^1) und verwandter Verbindungen

Der in Abb. 3.1 dargestellte Ligandentyp dient als niedermolekulare Modellverbindung für allosterisch regulierbare Enzyme. Er besitzt Bindungsstellen für ein strukturelles und zwei funktionelle Metallionen. Der Ligand sollte in einer Reaktionsfolge dargestellt werden, die es ermöglicht, die verwendeten Amine bzw. Diamine zu variieren und somit die Synthese zu generalisieren. Damit ist dann ein Aufbau einer kleinen Ligandenbibliothek möglich.

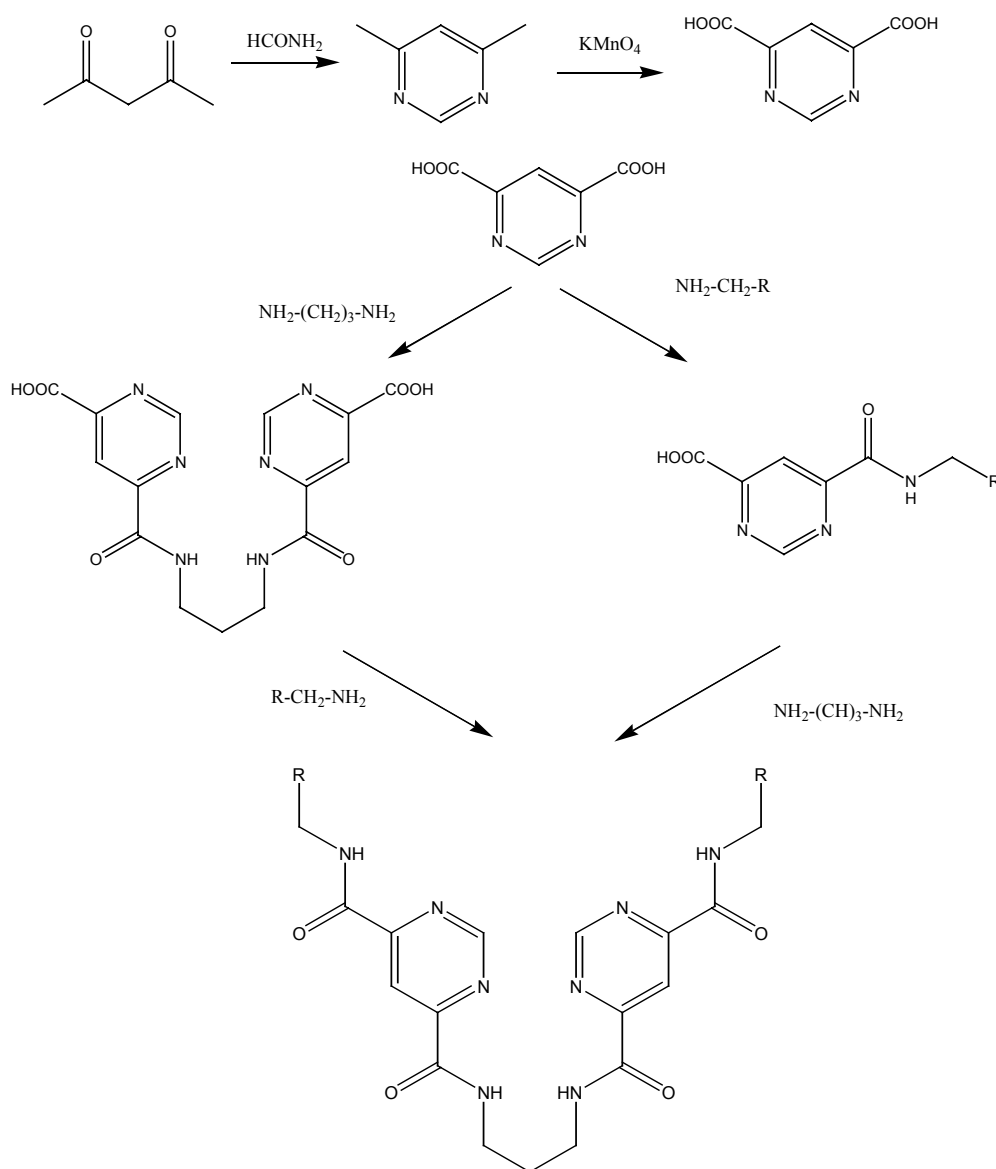


Abb. 3.1: Syntheschema des Liganden L^1 und verwandter Systeme

Zur Synthese des gewünschten Zielmoleküls stehen mehrere Wege zur Verfügung. In allen Fällen wird von der symmetrischen Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure ausgegangen. Diese ist in einer literaturbekannten Synthese in zwei Reaktionsschritten erhältlich^[21,22].

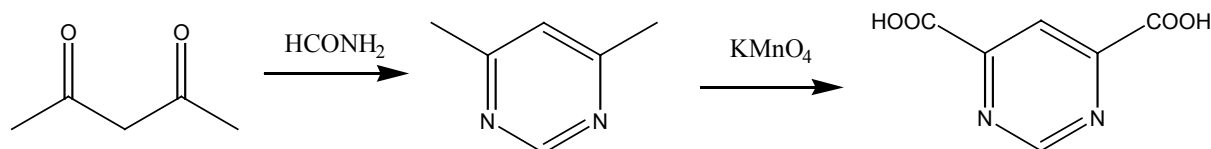
Um nun zum Zielmolekül zu gelangen, kann man die Pyrimidindicarbonsäure auf der einen Seite zuerst mit einem Monoamin umsetzen, wobei nur eine der beiden Carbonsäuregruppen amidiert werden soll. In einem zweiten Schritt erfolgt dann die Kopplung zweier solcher Einheiten zum Zielmolekül mittels Amidierung der zweiten freien Carbonsäuregruppe mit einem Diamin.

Auf der anderen Seite können zwei Moleküle der Dicarbonsäure sofort mit einem Diamin verknüpft und dann in einem zweiten Schritt die beiden verbliebenen Carbonsäuregruppen mit je einem Monoamin zum Zielmolekül umgesetzt werden.

In jedem Fall ist es jedoch notwendig, die Carbonsäuregruppen zu aktivieren, da sonst bei der Umsetzung mit Aminen lediglich eine Säure/Base-Reaktion stattfinden würde.

3.1.1 Synthese der Zwischenverbindung Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure

Die Synthese von Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure ist in der Literatur in einer zweistufigen Reaktion beschrieben^[21,22]. Dabei wird von Acetylaceton und Formamid ausgegangen.



3.1.1.1 Synthese von 4,6-Dimethylpyrimidin^[21]

Die Ausbeute des ersten Reaktionsschrittes, bei dem man das 4,6-Dimethylpyrimidin erhält, ist variabel und schwankt zwischen 20% und 60% (Mittel 40%). Dabei gestaltet sich die Aufreinigung mit Extraktionsschritten, Vakuumdestillation und anschließender Säulenchromatographie sehr aufwendig. Die Reaktion verläuft erst bei Temperaturen, bei denen sich das im 20-fachen Überschuss eingesetzte Formamid zersetzt (>190°C). Daher wird bei der Synthese lösungsmittelfrei gearbeitet und ein großer Formamidüberschuss verwendet.

Für die nachfolgende Oxidation mit Kaliumpermanganat ist es jedoch wichtig, das 4,6-Dimethylpyrimidin möglichst frei von Formamid zu erhalten, da dadurch sonst die Ausbeute des Oxidationsschrittes erheblich gesenkt wird (Oxidation des Formamids).

3.1.1.2 Synthese von Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure ^[22]

Bei der Oxidation des im vorhergehenden Schritt erhaltenen Dimethylpyrimidins wird Kaliumpermanganat in kleinen Portionen zur Lösung zugegeben. Dabei kann man den Fortschritt der Oxidation anhand des Verschwindens der violetten Farbe des Permanganats und der Entstehung von Braunstein verfolgen.

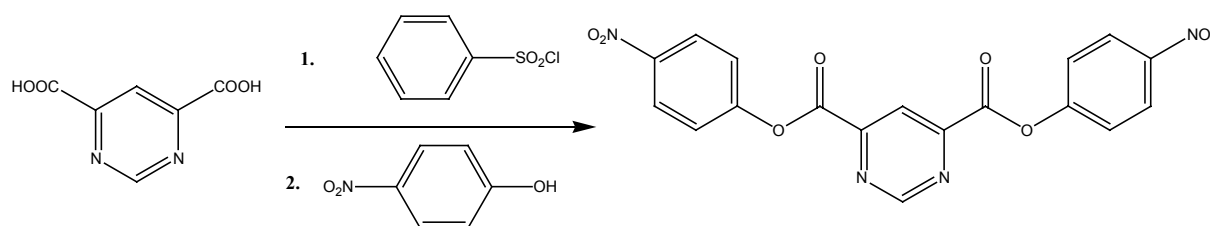
Entgegen den Literaturangaben ist es bei der Aufreinigung der entstandenen Pyrimidin-4,6-diacrbonsäure notwendig, das überschüssige Permanganat zu zerstören. Die in der Literatur beschriebene Aufreinigung geht davon aus, dass Braunstein abfiltriert wird. Die basische Lösung kann mit organischen Lösungsmitteln extrahiert werden. Die deprotonierte Dicarbonsäure bleibt dabei in der wässrigen Phase in Lösung. Beim anschließenden Ansäuern mit Salzsäure wird die Dicarbonsäure wieder protoniert und damit wasserunlöslich. Sie soll dann als weißer Niederschlag ausfallen. Leider wird jedoch bei dieser Prozedur durch die Extraktion mit organischen Lösungsmitteln das noch vorhandene Permanganat nicht abgetrennt. Dieses wird vielmehr bei Säurezugabe zu Braunstein reduziert, der das ebenfalls ausfallende Produkt verunreinigt. Auch ein Überschuss an Säure vermag den ausgefallenen Braunstein nicht wieder quantitativ zu lösen. Abhilfe wurde hier gefunden, indem nach vollendeter Reaktion noch soviel Dimethylpyrimidin tropfenweise zu der warmen Reaktionslösung zugegeben wurde, bis alles Permanganat reduziert war. Das danach in Lösung befindliche überschüssige Dimethylpyrimidin kann mittels Extraktion der basischen wässrigen Lösung mit Chloroform entfernt werden. Beim Ansäuern mit HCl fällt das grauweiße Produkt in ausreichender Reinheit aus. Dieses muss für die nachfolgenden Reaktionsschritte sorgfältig getrocknet werden, da es noch ein Kristallwasser enthält. Die Ausbeute dieser Reaktion beträgt 25 %.

3.1.2 Aktivierung der Carbonsäuregruppen von Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure und anschließende Amidkopplung

Da Carbonsäuren mit Aminen nur schwer zu Amiden reagieren, ist es notwendig, die Carbonsäuregruppe mit einem sogenannten Kopplungsreagenz zu aktivieren. Hierzu sind in der Literatur eine Reihe von Reagenzien beschrieben^[23-32], u.a. DCC und Siliciumtetrachlorid.

3.1.2.1 Aktivierung mit *p*-Nitrophenol

Um die Carbonsäuregruppen zu aktivieren und deren spätere Umsetzung UV/Vis-spektroskopisch verfolgen zu können, wurde die Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure mit *p*-Nitrophenol in einer Anlehnung an eine Synthese von Ljungqvist und Folkers^[37] zum entsprechenden Ester kondensiert. Der Fortschritt der weiteren Reaktion zu Amiden unter Abspaltung von *p*-Nitrophenolat kann durch Zunahme einer sichtbaren Bande UV/Vis-spektroskopisch verfolgt werden.



Zur Synthese wird die wasserfreie Dicarbonsäure mit Benzolsulfonsäurechlorid versetzt. Der entstandene Sulfonsäureester wird *in situ* mit *p*-Nitrophenol ohne vorherige Isolation zur Reaktion gebracht. Nach Zugabe von Wasser fällt das gewünschte Produkt in 60 %iger Ausbeute aus, wird abfiltriert und läßt sich durch einfaches Waschen mit Wasser reinigen.

3.1.2.2 Umsetzung des *p*-Nitrophenylesters mit Monoaminen und Diaminen

Bei der Umsetzung des synthetisierten Nitrophenylesters mit Diaminen ist die Gefahr der Polymerbildung gegeben. MALDI-massenspektrometrisch sind Polymere bis zu einem Polymerisationsgrad von 7 verknüpften Pyrimidineinheiten nachweisbar. Die Polymerisation ist auch nicht durch einen Überschuss an Nitrophenylester nennenswert in den Hintergrund zu

drängen. Das Reaktionsgemisch ist danach unter praktikablen Bedingungen nicht aufzureinigen.

Ähnliche Probleme treten bei der Umsetzung des Nitrophenylesters mit Monoaminen auf. Im Hinblick auf die später durchzuführende Kopplung zweier Einheiten zum kompletten Liganden soll zunächst nur eine der beiden Esterfunktionen zum Amid umgesetzt werden. Bei einem stöchiometrischen Mischungsverhältnis von Ester und Amin erhält man jedoch fast ausschließlich das Diamid, wobei 50% des eingesetzten Esters überhaupt nicht reagiert. Die stark bevorzugte Bildung des Diamids kann auch durch ein Eduktverhältnis Ester:Amin 10:1 nicht verhindert werden.

3.1.2.3 Synthese von Monoamiden der Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure mit Hilfe von 1,1'-Carbonyldiimidazol (CDI) als Kopplungsreagenz

Nachdem die Amidkopplung mit Hilfe der Nitrophenylester auf beiden denkbaren Synthesewegen (Kopplung zuerst mit Monoamin oder Diamin) zwar funktioniert, jedoch nicht zu den gewünschten Produkten gesteuert werden kann, wurde als weiteres Kopplungsreagenz das in der Peptidsynthese oft benutzte ^[36] 1,1'-Carbonyldiimidazol (CDI) für diese Reaktionen getestet.

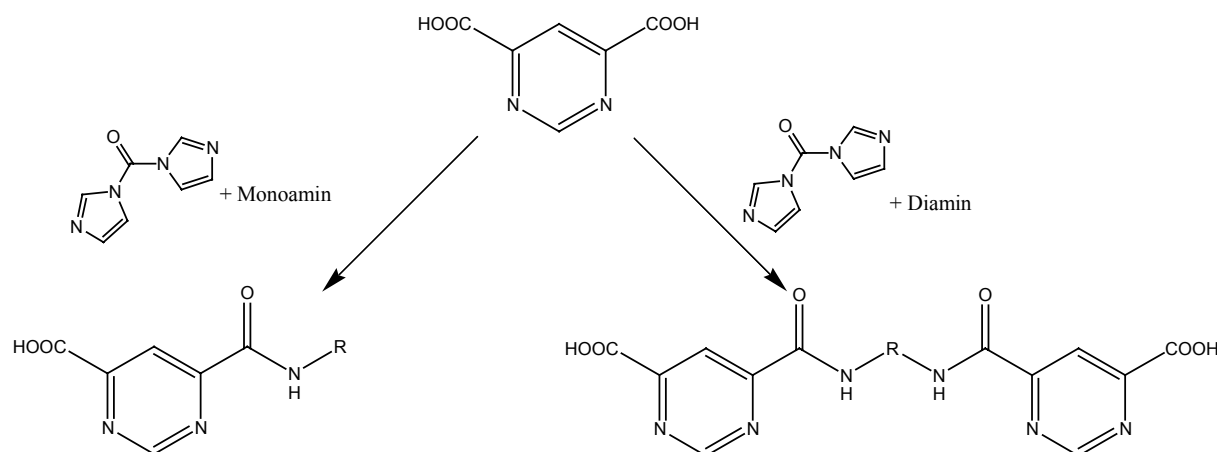


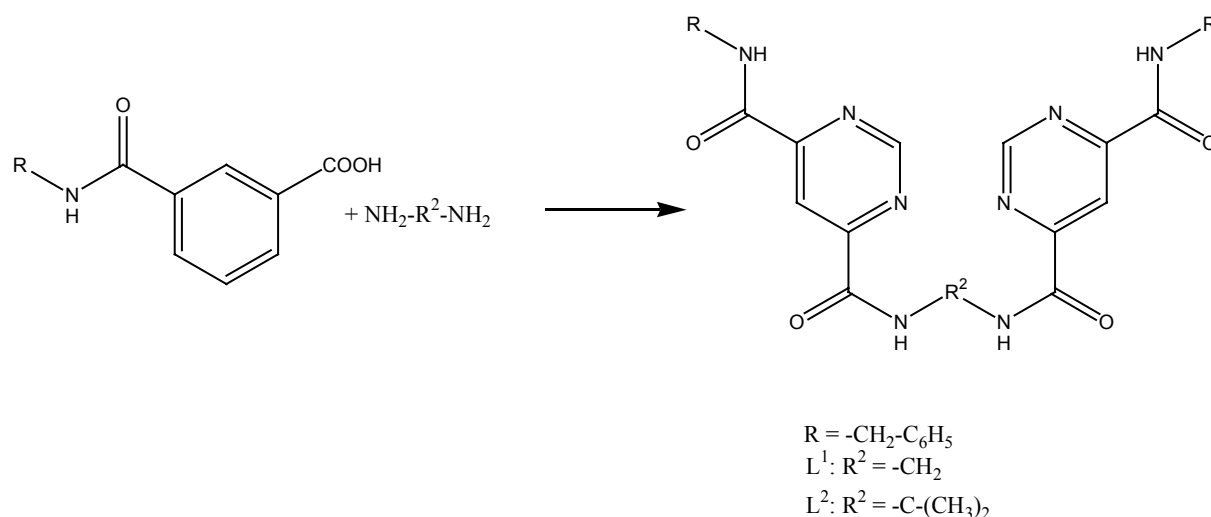
Abb. 3.2. Amidkopplung der Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure mit Hilfe von CDI

Dazu wurde die zuvor getrocknete Dicarbonsäure in einem DMF:THF 1:2-Gemisch mit einer stöchiometrischen Menge CDI unter Rückfluss erhitzt und dann *in situ* mit einem Amin umgesetzt. Auch hier kann zuerst Reaktion mit dem Monoamin oder dem Diamin erfolgen.

Bei der Kopplung mit Propylendiamin tritt erneut Polymerbildung ein. Diese ist jedoch nicht so ausgeprägt wie bei den Nitrophenylestern. Der Polymerisationsgrad beträgt maximal 5 Pyrimidineinheiten.

Auch die Kopplung mit Benzylamin führt bei stöchiometrischem Einsatz zu einem Gemisch aus Monoamid und Diamid. Beide entstehen in ungefähr gleichem molaren Verhältnis. Bei der Trennung des Monoamids vom Diamid macht man sich deren unterschiedliche Löslichkeiten in Wasser bei verschiedenen pH-Werten zunutze. Während sich das Monoamid aufgrund seiner noch vorhandenen Carbonsäuregruppe in alkalischer Lösung als Anion löst, kann auf der anderen Seite das Diamid unter diesen Bedingungen mit organischen Lösungsmitteln extrahiert werden. Durch Ansäuern der alkalischen Lösung wird das Monoamid in Wasser unlöslich und kann abfiltriert werden. Aufgrund der Entstehung des Diamids beträgt die Ausbeute an gewünschtem Monoamid im Falle der Kopplung mit Benzylamin nur 20%.

3.1.2.4 Kopplung des Monoamids mit einem Diamin zum Liganden (L^1 , L^2)



Nach der Darstellung des unsymmetrischen Monobenzylamids aus der symmetrischen Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure, war die Kopplung zweier Monoamid-Bausteine zum Liganden mittels Propylendiamin ohne Polymerbildung möglich. Nach Aktivierung der verbliebenen freien Carbonsäuregruppe mit CDI konnte die Amidierung unter denselben Bedingungen wie im ersten Schritt in guten Ausbeuten durchgeführt werden (60% bei L^1)

Da dem Design der Liganden mit Amidfunktionen die Idee zugrunde lag, durch die Amidkopplung schnell diverse verschiedene Liganden auf einem generalisierten Syntheseweg herstellen zu können, wurde die Kopplung des beschriebenen Monoamids auch mit 1,3-Diamino-2,2-dimethylpropan durchgeführt. Dabei zeigt sich, dass die Reaktion zwar im Prinzip möglich ist, die Ausbeute aber im Vergleich zu obiger Reaktion deutlich schlechter ist. Da sich zudem bei Untersuchungen an L^1 zeigte, dass dieser Ligandentypus nicht für die gewünschten Katalyseexperimente geeignet ist (s. Kap. 4 und 6.2.1), wurde auf die Darstellung in größerem Maßstab verzichtet..

3.1.3 Weitere Diversifizierung des Ligandensystems

Nach der erfolgreichen Synthese zweier Liganden mit unterschiedlicher Verbrückung der beiden Untereinheiten (Propylendiamin, Dimethyldiaminopropan) konnte UV/Vis-spektroskopisch gezeigt werden, dass diese Liganden unter den Bedingungen der katalytischen Phosphodiester-Spaltung (siehe Kap. 6.2) zwar ein strukturelles Metallion koordinieren, aber kein funktionelles. Dies ist aber eine unabdingbare Voraussetzung für katalytische Aktivität.

Daher sollte der Aufbau des Liganden derart abgeändert werden, dass die beiden Untereinheiten nicht mit einfachen Aminen gebildet werden, sondern mit Aminen, die noch eine zweite Donorgruppe beinhalten. Dabei können z.B. pyridinsubstituierte Amine oder mit zusätzlicher tertiärer Amingruppe benutzt werden. Durch die zusätzliche Donorgruppe sollte sich die Koordination von funktionellen Metallionen erheblich verbessern, um im Endeffekt auch Katalyse zu ermöglichen.

Die Umsetzung der Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure mit verschiedenen Aminen gelang unter den selben Bedingungen wie im Falle der Umsetzung mit Benzylamin. Die Synthese der Monoamide aus der Dicarbonsäure und C-Pyridin-2-yl-methylamin, N,N-Dimethyl-ethan-1,2-diamin, 2-Piperidin-1-yl-ethylamin und Pyridin-2-yl-amin konnte erfolgreich durchgeführt werden. Auf die Aufarbeitung bis zur analytischen Reinheit wurde allerdings verzichtet, da die Weiterreaktion zum entsprechenden Liganden scheiterte.

Bei der Reaktion der Diamine mit den Monoamiden und CDI als Kopplungsreagenz konnten massenspektrometrisch nur geringe Spuren des Produktes nachgewiesen werden. Sobald die Monoamide aus Aminen mit einer zusätzlichen Donorfunktion synthetisiert wurden, versagte der zuvor so erfolgreiche Syntheseweg der Verbrückung zweier Untereinheiten mit einem Diamin. Die Gründe hierfür sind noch ungeklärt.

In einer ganzen Reihe von Versuchen mit verschiedenen Kopplungsreagenzien ließ sich dieses Problem nicht zufriedenstellend lösen. So konnte zwar unter Verwendung von Benzolsulfonsäure, Siliciumtetrachlorid oder Triphenylphosphit als Kopplungsreagenzien der Produktanteil laut massenspektrometrischen Untersuchungen qualitativ etwas gesteigert werden, jedoch verliefen die Reaktionen immer unter Bildung von so vielen Nebenprodukten, dass eine Aufreinigung der erwünschten Liganden nicht gelang.

3.2 Synthese des Liganden L^3

3.2.1 Allgemeines

Die Idee, ein Ligandensystem zu entwickeln, das durch generalisierte Synthesemethoden leicht zu diversifizieren ist, wurde auch beim folgenden System L^3 beibehalten. Jedoch wurde die designierte Bindungsstelle für die funktionellen Metallionen gegenüber den in Kap. 3.1 beschriebenen Liganden L^1 und L^2 erheblich modifiziert.

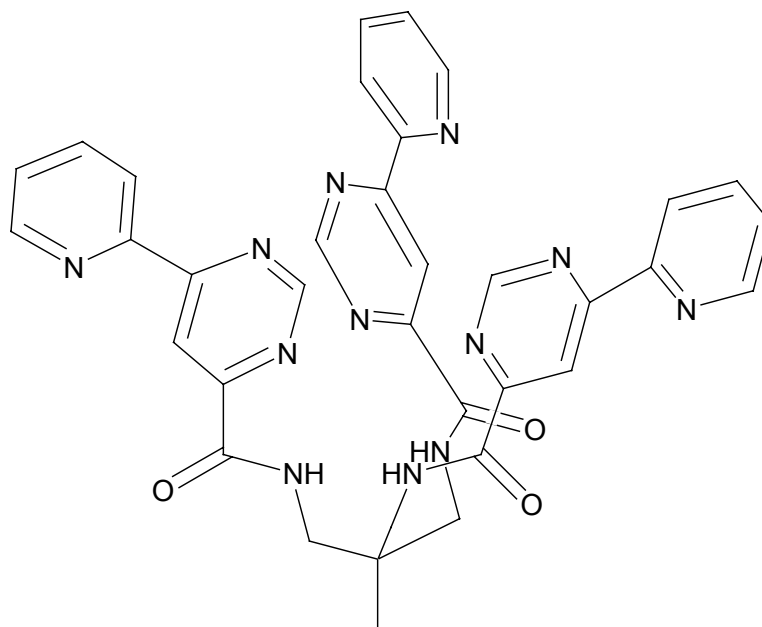


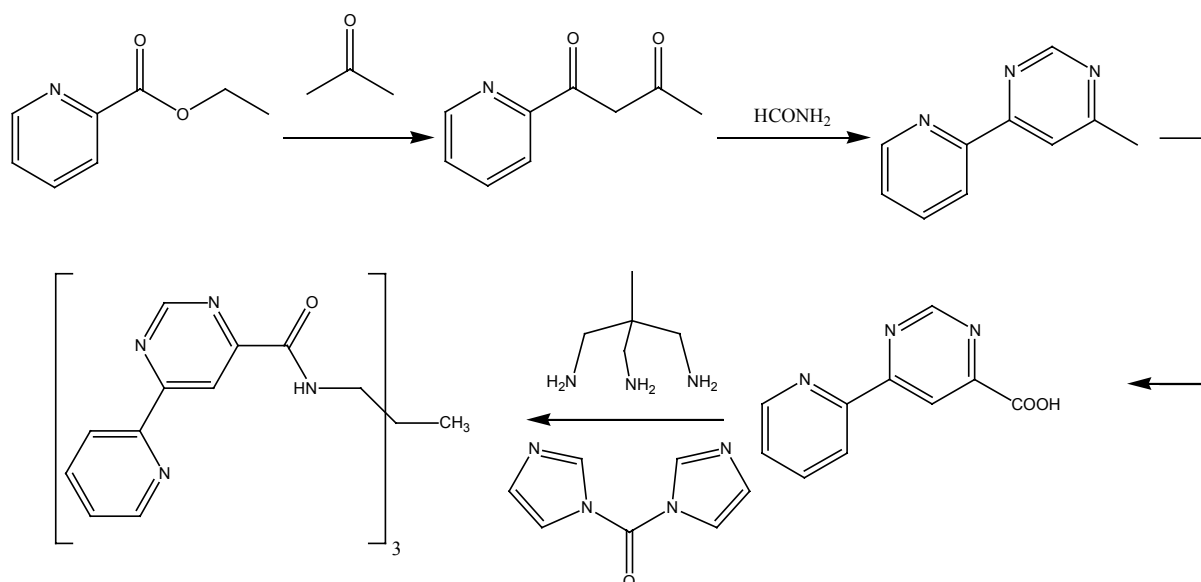
Abb. 3.3: Schematische Darstellung des Liganden L^3

Hier bilden nun nicht mehr ein Pyrimidinstickstoff-Atom und eine Amidfunktion die Koordinationsstelle, sondern die Amidfunktion wurde durch die N-Donorfunktion eines Pyridins ersetzt. Damit soll eine bessere Koordination der funktionellen Metallionen erreicht

werden, da zur Metallkoordination keine Deprotonierung mehr erfolgen muss, wie dies noch bei der Amidfunktion der Fall war. Daraus ergibt sich, dass die Komplexbildung mit den funktionellen Metallionen M_f ohne zusätzliche Baseneinwirkung erfolgen kann.

Nachdem im Arbeitskreis Krämer auf diese Art und Weise schon Liganden hergestellt worden sind, die zwei Koordinationsstellen für funktionelle Metalle aufweisen und annähernd planare Komplexe bilden ^[51,84,91,92], z.B. Ligand L^4 , wurde nun hier das Konzept auf die Synthese trichterförmiger Systeme ausgeweitet. Hierzu wurde die Verknüpfung der Pyridin-Pyrimidin-Untereinheiten nicht mit einem Diamin, sondern vielmehr mit einem Triamin durchgeführt.

Das einfachste dieser Triamine ist das 2-Aminomethyl-2-methylpropan-1,3-diamin (TAME). Hierbei sind die drei Amingruppen jeweils über eine Methylengruppe an ein zentrales C-Atom gebunden, sodass sich zwischen zwei Amingruppen eine dreiatomige Propylbrücke



ergibt.

Abb. 3.4: Syntheschema zur Herstellung des Liganden L^3

3.2.2 Synthese der einzelnen Vorstufen

3.2.2.1 Synthese von 2-Aminomethyl-2-methylpropan-1,3-diamin

(1,1,1-Tris(aminomethyl)ethan, TAME) ^[45]

Die literaturbekannte Synthese von TAME erfolgt in drei Stufen, ist jedoch sehr zeitaufwendig. Dabei kann man zwei verschiedene Synthesewege wählen. Bei beiden geht man vom käuflichen dreiwertigen Alkohol 2-Hydroxymethyl-2methyl-propan-1,3-diol aus. Zuerst wird dieser mit Benzolsulfonsäurechlorid zum entsprechenden Triester umgesetzt.

Dieses kann man danach entweder mit Kaliumphthalimid umsetzen und anschließend zum Amin spalten (Gabriel-Synthese) oder mit Natriumazid das Triazid darstellen und dann dieses zum Triamin umsetzen. Der letzte Weg birgt aber praktische Gefahren, da hier mit Verbindungen mit hohem Stickstoffgehalt gearbeitet wird, die zu unkontrollierbarer explosiver Zersetzung neigen. Deswegen wurde trotz der höheren Ausbeute und des geringeren synthetischen Aufwands dieser Methode der aufwendigere Weg über das Phthalimid gewählt.

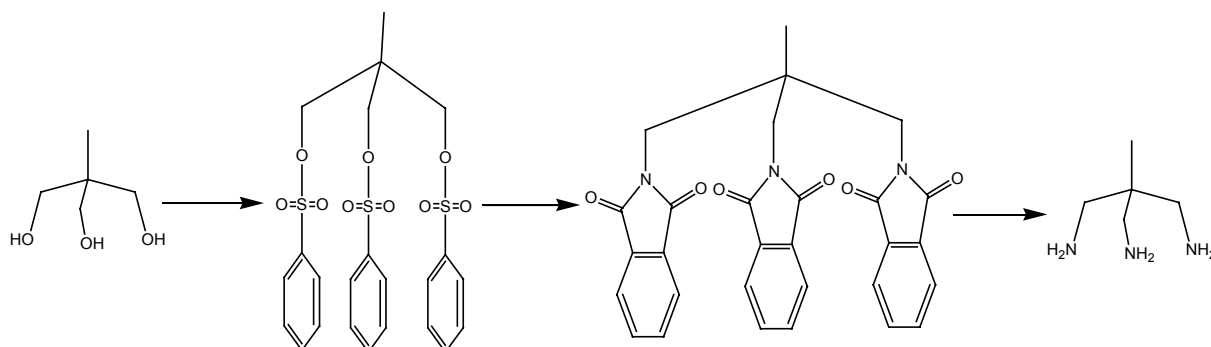


Abb. 3.5: Syntheschema zur Darstellung von 1,1,1-Tris(aminomethyl)ethan (TAME)

3.2.2.1.1 Veresterung von 2-Hydroxymethyl-2-methylpropan-1,3-diol

Im ersten Syntheseschritt wird das 2-Hydroxymethyl-2-methylpropan-1,3-diol nach einer Synthesevorschrift von E.B. Fleischer und P.A. Tasker^[43] mit Benzolsulfonsäurechlorid in Pyridin zum entsprechenden Ester umgesetzt. Nach der Zugabe von Wasser und Ansäuern mit Salzsäure fällt das Produkt in guten bis sehr guten Ausbeuten (87 %) aus und kann nach einmaligem Waschen und Trocknen ohne weitere Aufarbeitung im nächsten Reaktionsschritt eingesetzt werden. Die Synthese kann auch in größerem Maßstab (100 g Edukt) durchgeführt werden.

3.2.2.1.2 Umsetzung des Benzolsulfonsäureesters mit Kaliumphthalimid

Nach der Arbeitsvorschrift von R. J. Geue und G. H. Searle^[44] erfolgt die Reaktion des Sulfonsäureesters, ebenso wie die darauf folgende Stufe. Der Ester wird mit Kaliumphthalimid im DMF unter Rückfluss umgesetzt. Dabei fällt das Produkt beim Abkühlen aus der Reaktionslösung aus und kann so isoliert werden. Die Ausbeute bei diesem Schritt liegt nur bei ca. 30%. Dadurch besitzt diese Reaktionsfolge, im Gegensatz zur erwähnten Umsetzung mit Aziden, eine schlechte Gesamtausbeute.

3.2.2.1.3 Spaltung des Phthalimids zum Triamin

Der nun folgende dritte Schritt ist der präparativ bei weitem aufwendigste. Das Phthalimid wird im Autoklaven unter stark alkalischen Bedingungen bei hohen Temperaturen (200° C) und moderatem Druck (20 bar) zum freien Amin gespalten. Zur Aufreinigung des Reaktionsgemisches wird das Triamin mit Salzsäure ins Hydrochlorid überführt. Dieses kann mittels einer Kationentauschersäule in einer zeitaufwendigen Prozedur von den Nebenprodukten getrennt werden. Nach erfolgter Aufreinigung wird das Amin aus dem Hydrochlorid mit Natronlauge freigesetzt und kann dann mit Chloroform aus der wässrigen Lösung ausgeschüttelt und isoliert werden.

Die Ausbeute beträgt etwa 80 %.

3.2.2.2 Synthese der 6-Pyridin-2-yl-pyrimidin-4-carbonsäure

Die Carbonsäure-Untereinheiten sind in einer Synthese erhältlich, von denen die ersten beiden Stufen bereits hinreichend in der Literatur beschrieben sind.

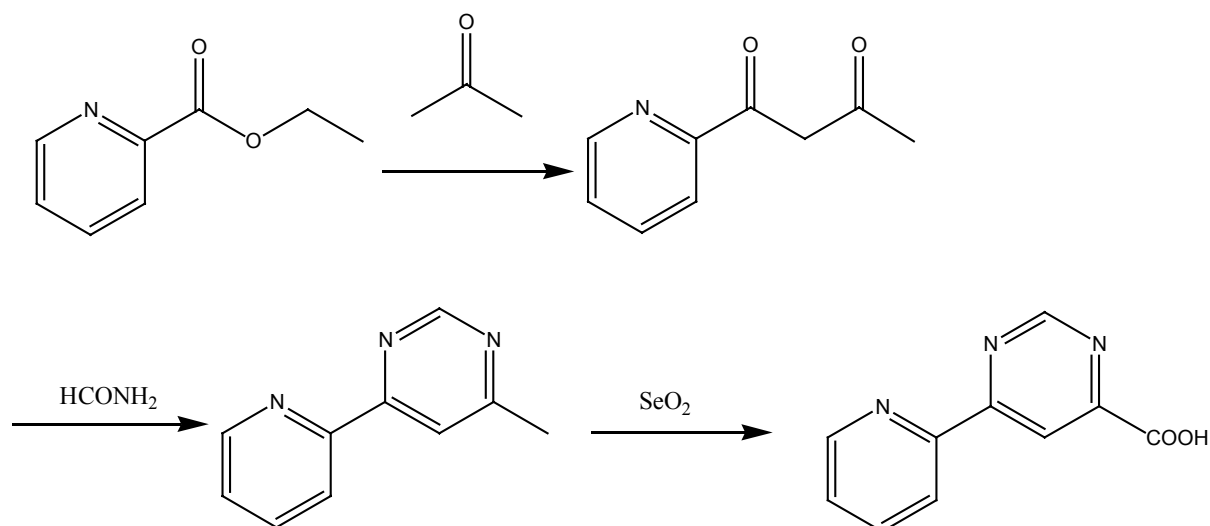


Abb. 3.6: Syntheschema zur Herstellung der Zwischenverbindung 6-Pyridin-2-yl-pyrimidin-4-carbonsäure

3.2.2.2.1 Synthese von 1-Methyl-3-(2-pyridyl)-propan-1,3-dion ^[46]

Aus Ethylpicolinat wird durch eine Claisen-Esterkondensation mit Aceton das 1-Methyl-3-(2-pyridyl)-propan-1,3-dion hergestellt. Diese Reaktion ist einfach und in verhältnismäßig großem Maßstab durchzuführen und ergibt nach Aufarbeitung und Vakuumdestillation das kristalline Produkt in 73 % Ausbeute.

3.2.2.2.2 Synthese von 4-Methyl-6-pyridin-2-yl-pyrimidin ^[47,48]

Diese Vorstufe der Pyridyl-pyrimidin-carbonsäure wird mit Formamid ohne weiteres Lösungsmittel in einer bereits von Lafferty und Case beschriebenen mehrfachen Kondensationsreaktion zum Pyridyl-pyrimidin umgesetzt (Bredreck-Synthese). Das Produkt kann durch die in der Literatur nicht beschriebene Vakuumdestillation und anschließende Säulenchromatographie gereinigt werden. Dadurch konnte die Ausbeute von 25 % in der Literatur auf 42 % gesteigert werden.

3.2.2.2.3 Oxidation zur 6-Pyridin-2-yl-pyrimidin-4-carbonsäure ^[49]

Das Produkt der vorangegangenen Synthese wird im letzten Schritt mit Selendioxid zur Carbonsäure oxidiert. Diese kann einfach von den organischen Rückständen abgetrennt werden, indem man sich die pH-Abhängigkeit der Löslichkeit zu Nutze macht. Im Basischen ist die Carbonsäure wasserlöslich und kann mit organischen Lösungsmitteln gewaschen werden, während sie beim Neutralisieren bzw. leichten Ansäuern wieder ausfällt. Die Ausbeute dieses Schrittes betrug 86 %.

3.2.3 Umsetzung der Vorstufen zu Tris-N-(4-(2-pyridyl)-pyrimidin-6-carbonyl)-2-amino-methylethan (L³)

Setzt man nun drei Äquivalente der Carbonsäure mit einem Äquivalent 2-Aminomethyl-2-methylpropan-1,3-diamin (TAME) und 1,1'-Carbonyldiimidazol als Kopplungsreagenz um,

so erhält man das entsprechende Triamid. Dieses löst sich in Chloroform und kann so von den im wässrigen basischen Medium löslichen Edukten abgetrennt werden. Bei der Synthese ist darauf zu achten, dass TAME in einem kleinen Unterschuss eingesetzt wird. Ansonsten muss mit der Bildung von Verbindungen gerechnet werden, bei denen nur ein oder zwei der Amingruppen mit der Carbonsäure reagiert haben. Dies hat ein Produktgemisch zur Folge, dass nur schwer zu trennen ist, während die freie Carbonsäure aufgrund der Löslichkeit in Wasser gut abtrennbar ist.

Die Aufreinigung des nach der Extraktion erhaltenen Liganden L^3 erfolgt mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit Chloroform:Methanol steigenden Methanolgehalts.

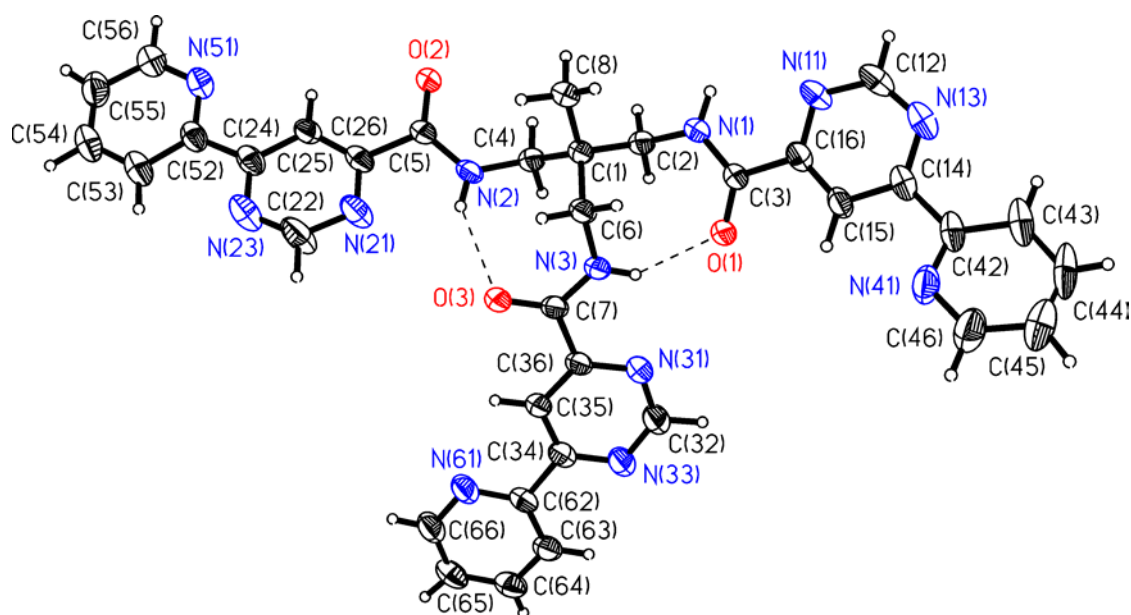
Von dem so dargestellten Liganden L^3 konnten durch langsames Einengen einer Chloroformlösung vermessbare Einkristalle erhalten werden.

3.2.4 Kristallstruktur des Liganden L^3

Details über die Aufnahme und Verfeinerung der Röntgenstrukturdaten von $L^3 \cdot H_2O$ können Tabelle 3.1 entnommen werden. Die Vermessung erfolgte bei 173 K. Dabei wurden Korrekturen für Lorenz und Polarisierungseffekte angewandt. Absorptionskorrekturen wurden mit semiempirischen Methoden, basierend auf multiplen Scans von äquivalenten Reflexen unter Benutzung von SADABS, durchgeführt. Die Struktur wurde mit direkten Methoden gelöst und nach der Methode der kleinsten Fehlerquadrate verfeinert.

Die Verfeinerung der Nicht-Wasserstoffatome gelang ausnahmslos anisotrop. Die meisten Wasserstoff-Atome wurden durch Fourier-Analyse lokalisiert. Ihre Positionen und isotropen Temperaturfaktoren wurden in die Strukturverfeinerung einbezogen. Die Positionen der Wasserprotonen konnten nicht lokalisiert werden, da diese zwischen zwei Positionen fehlgeordnet sind. Die Methylprotonen wurden in berechneten Positionen eingefügt und bei der Verfeinerung die freie Rotation der Methylgruppe zugelassen.

Abb. 3.7 zeigt die Struktur und das Nummerierungsschema von L^3 .

Abb. 3.7: Kristallstruktur und Nummerierungsschema des Liganden L^3 Tabelle 3.1: Kristalldaten und Details der Strukturlösung und Strukturverfeinerung von L^3

Summenformel	$C_{35}H_{30}N_{12}O_3 \cdot H_2O$	
Molmasse	684.73	
Kristallsystem	Triklin	
Raumgruppe	P-1	
Zelldimensionen	$a = 7.9469(6) \text{ \AA}$	$\alpha = 95.117(2)^\circ$
	$b = 14.5928(10) \text{ \AA}$	$\beta = 98.781(2)^\circ$
	$c = 14.7767(10) \text{ \AA}$	$\gamma = 97.803(2)^\circ$
Zellvolumen	$1667.2(2) \text{ \AA}^3$	
Formeleinheiten/Elementarzelle	2	
Dichte (berechnet)	1.364 g/cm^3	
Absorptionskoeffizient	0.094 mm^{-1}	
Kristalldimension	0.51 x 0.40 x 0.22 mm	
Diffraktometer	Bruker AXS SMART 1000	
Wellenlänge	0.71073 \AA (Mo- K_α -Strahlung)	
Meßtemperatur	173 K	
Meßmethode	ω -scan	
Gemessener Bereich	2.10° bis 25.00° .	
Indizes	$-9 \leq h \leq 9, -17 \leq k \leq 17, 0 \leq l \leq 17$	
Zahl der gemessenen Reflexe	18698	
Zahl der unabhängigen Reflexe	5889	
Davon beobachtet [$I > 2\sigma(I)$]	5889	
Strukturlösung	Programmsysteme SHELXTL-97, SHELXTS-97	
Strukturverfeinerung	Methode der kleinsten Fehlerquadrate	
Zur Verfeinerung benutzte Reflexe	5889	
Parameter	590	
Goodness-of-fit on F^2	1.063	
Endgültige R-Werte [$I > 2\sigma(I)$]	$R1 = 0.0504, wR2 = 0.1247$	
Endgültige R-Werte (für alle Daten)	$R1 = 0.0822, wR2 = 0.1470$	
Wichtungsfaktor	$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0812P)^2 + 1.22P]$	
	$P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$	
Größtes Maximum und Minimum der Restelektronendichte	0.202 and $-0.263 \text{ e.\AA}^{-3}$	

Die Kristallstruktur von \mathbf{L}^3 zeigt, dass der Ligand eine Konformation annimmt, in der die drei mehr oder weniger planaren Untereinheiten, jeweils bestehend aus Pyridin- und Pyrimidin-Ring und den transoiden Amid-Gruppen, die mit dem sp^3 -hybridisierten quartären C(1)-Atom verbunden sind, einen großen Abstand zueinander einnehmen können.

Diese Untereinheiten sind in Bezug auf die C(1)-C(8)-Bindung verschiedenartig positioniert: während N(1)-C(2) gauche zu der C(1)-C(8)-Bindung positioniert ist, ist N(3)-C(6) trans dazu orientiert (die entsprechenden Torsionswinkel sind: C(8)-C(1)-C(2)-N(1) = 57.1, C(8)-C(1)-C(4)-N(2) = -62.5 und C(8)-C(1)-C(6)-N(3) = -179.2°).

Die Amid-Gruppen, die O(1) und O(2) beinhalten, weichen etwas von der Planarität ab. Die entsprechenden Torsionswinkel betragen hier für O-C-N-C -9.5° und -8.4°, während die C(6)-N(3)-C(7)-O(3)-Gruppe weniger von der Planarität abweicht (3.7°)

Die Pyrimidin-Stickstoffatome finden sich in der erwarteten trans-Position bezüglich der Amid-Sauerstoffatome und den Pyridin-Stickstoffatomen.

Die Untereinheit, die am wenigsten von der Planarität abweicht, beinhaltet die {O(3)}-Amidgruppe und die N(31), N(33)-Pyrimidin- und N(61)-Pyridin-Ringe: die Diederwinkel zwischen diesen Teilen betragen 3.7° und 6.3°.

Der wichtigste Unterschied in der Konformation der terminalen bis-heterocyclischen Fragmente ist ein Twist zwischen den Pyrimidin- und Pyridin-Ringen in der N(11),N(13),N(41) Untereinheit, bei der der Diederwinkel 27.9° beträgt.

Die Diederwinkel zwischen den Ebenen die von den Amid-Gruppen und den Pyridinringen in O(1),N(11) und O(2),N(21) Armen aufgespannt werden, betragen 15.1° bzw. 20.5°.

In den Amidgruppen betragen die C=O Bindungslängen 1.222-1.236 Å, 1.326 – 1.333 Å. In den Heterozyklen liegen die C-N-Bindungslängen im Bereich von 1.324 bis 1.349 Å, die C-C-Bindungslängen in den Pyrimidin-Ringen sind 1.374 – 1.392 Å. Die Bindungslängen zwischen den Heterozyklen liegen im Bereich von 1.480 – 1.491 Å. Die Werte sind damit den Entfernungen sehr ähnlich, die in anderen 4-(2-Pyridyl)-pyrimidin-liganden beobachtet werden. ^[50] Die beobachtete Konformation von \mathbf{L}^3 wird zusätzlich stabilisiert durch die Existenz zweier intramolekularer Wasserstoffbrückenbindungen, die von den N-H-Protonen und den Sauerstoffatomen der benachbarten Amid-Gruppen gebildet werden. Die Bindungslängen bzw. -winkel betragen dabei: N(2)-H...O(3) = 2.18 Å, N(2)-H = 0.81 Å, N(2)...O(3) = 2.870 Å, Winkel = 143° und N(3)-H...O(1) = 2.10 Å, N(3)-H = 0.84 Å, N(3)...O(1) = 2.790 Å, Winkel = 139°.

Das dritte {NH, O}-Paar kann aufgrund der geometrischen Gegebenheiten der Amidgruppen keine intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen bilden. Es wird aber eine intermolekulare Wasserstoffbrückenbindung ausgebildet, die eine wesentliche Rolle bei der Vereinigung der Moleküle zur Kristallstruktur spielt: $N(1)-H \cdots O(2)(-x+2, -y+2, -z+1) = 2.19 \text{ \AA}$, $N(1)-H = 0.87 \text{ \AA}$, $N(1)-H \cdots O(2) = 2.968 \text{ \AA}$, Winkel = 149° .

4. Synthese und Struktur der Metallkomplexe von L^1

4.1 Allgemeine Überlegungen

Zur Bildung der Amid-N-Metallkomplexe von L^1 ist es notwendig, die Amidfunktion während der Komplexbildung zu deprotonieren. Dabei ist die Deprotonierung umso einfacher, je niedriger der pK_s -Wert der Amidprotonen liegt.

Für die Bildung der Metallkomplexe und deren UV/Vis-spektroskopischer Untersuchung muss deswegen eine Base zugegeben werden. Für die Koordination des ersten strukturellen Metallions M_s werden zwei Äquivalente Base benötigt. Für die Deprotonierung der beiden Koordinationsstellen für die funktionellen Metallionen müssen insgesamt weitere zwei Äquivalente Base eingesetzt werden. Problematisch bei den spektrophotometrischen Titrations ist die Wahl der zu verwendenden Base. Es ist anzunehmen, dass die ersten beiden Amidprotonen bei Koordination des strukturellen Metalls relativ leicht zu entfernen sind und deshalb nur eine schwache Base benötigt wird. Dies wird bedingt durch die metallinduzierte pK_s -Senkung des Amidfunktion. Diese ist umso größer, je stärker das Metall an die Chelateinheit koordiniert ist. Das strukturelle Metall ist vierzählig koordiniert, also sehr fest gebunden. In den Seitenarmen liegen die Verhältnisse anders. Hier wird das funktionelle Metallion nur zweizählig koordiniert. Als Folge davon erfordert die Deprotonierung der Amidprotonen in den Seitenarmen stärkere Basen. Damit ergab sich aber ein Problem der Löslichkeit. So fällt der Ligand L^1 mit Natronlauge aus DMSO und Methanol rasch aus. Die gleichen Probleme ergeben sich bei der Verwendung von Natriummethanolat. Dabei ist zu beachten, dass die Base sowohl mit dem Liganden an sich eine Ausfällung bewirken kann (Natronlauge) als auch die Metallionen bei der Titration ausfallen können (Natriummethanolat).

Als geeignet für die Untersuchungen in Lösung hat sich die Base Triethylamin erwiesen.

Die Titrations wurden in 10^{-4} M Lösung in Anwesenheit von 6 Äquivalenten Base durchgeführt. Metallionen wurden zu Beginn in 0.2 Äquivalentschritten zugefügt und eine geeignete Zeit gewartet, bis sich die Spektren nicht mehr geändert haben.

4.2 Kupfer-Komplexe von L^1

4.2.1 UV/Vis-Titrationen

4.2.1.1 Titrationsen mit $Cu(NO_3)_2$

In DMSO zeigt sich bei einer spektrophotometrischen Titration, dass das erste Äquivalent Kupfer gut an den Liganden koordiniert wird. Dabei steigt die Extinktion in einem Bereich zwischen 260 nm und 430 nm. Aufgrund der Eigenabsorption des Cu(II) werden jedoch nur Extinktionen jenseits von 330 nm betrachtet. Für eine genaue Analyse hat sich auch aufgrund der hier ideal großen Extinktionswerte die Betrachtung bei 350 nm als sinnvoll erwiesen.

Bis zu einer Zugabe von ca. 1.2 Äquivalenten steigt die Extinktion nahezu linear an, um dann in einem nur leicht steigenden Plateau auszulaufen (s. Abb. 4.1). Dies ist mit der Bildung eines 1:1-Komplexes zu erklären.

Aus Erfahrungen im Arbeitskreis mit ähnlichen Liganden ^[51] ist zu schliessen, dass das Metallion hier an der strukturellen Koordinationsstelle unter Deprotonierung der beiden beteiligten Amid-Stickstoff-Donoren vierfach durch zwei Pyrimidin-Stickstoff- und zwei Amid-Stickstoff-Donoren gebunden wird.

Bei weiterer Zugabe von Cu(II) kann im Spektrum keine Änderung beobachtet werden, die der Koordination von funktionellen Metallen zuzuordnen wäre.

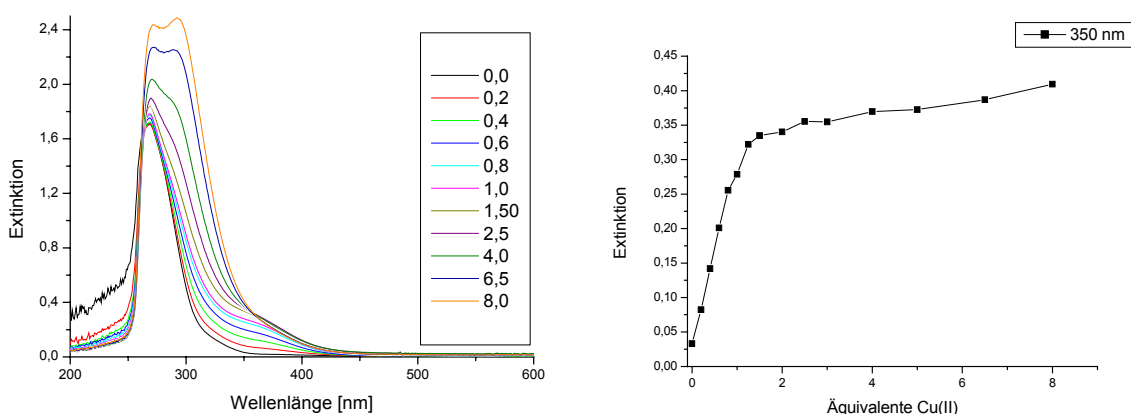


Abb. 4.1: *links*: Spektrophotometrische Titration von L^1 ($1 \cdot 10^{-4}$ M) mit $Cu(NO_3)_2$ in DMSO mit 6 eq Triethylamin ; *rechts*: Zunahme der Extinktion bei 350 nm

Allerdings ist eine N,O-Metallkoordination unter Beteiligung der Amid-Carbonylgruppe denkbar, die möglicherweise nur geringen Einfluß auf die UV-Absorption hat. ^[51]

Ein etwas anderes Bild ergibt sich, wenn man die Titration in einem Gemisch aus 10 % Chloroform und 90 % Methanol durchführt (s. Abb. 4.2).

Auch hier kann eine starke, fast lineare Zunahme der Extinktion bis zur Zugabe von 1.2 Äquivalenten Metallsalz festgestellt werden. Danach nimmt aber die Extinktion weiter zu, wenn auch weniger deutlich, bis schließlich nach Zugabe von drei Äquivalenten die Extinktion nahezu konstant bleibt.

Dies deutet auf die Koordination zweier weiterer Cu(II) hin, die offenbar von den zweizähligen Chelateinheiten koordiniert werden. Diese werden nur zweifach mittels jeweils einem Pyrimidin-Stickstoff und einem Amid-Stickstoff gebunden. Dass die Amid-Stickstoffe dabei deprotoniert werden, ist wahrscheinlich, da dies wie beim Einbau des strukturellen Metallions beobachtet, einen starken Einfluss auf den Chromophor haben sollte.

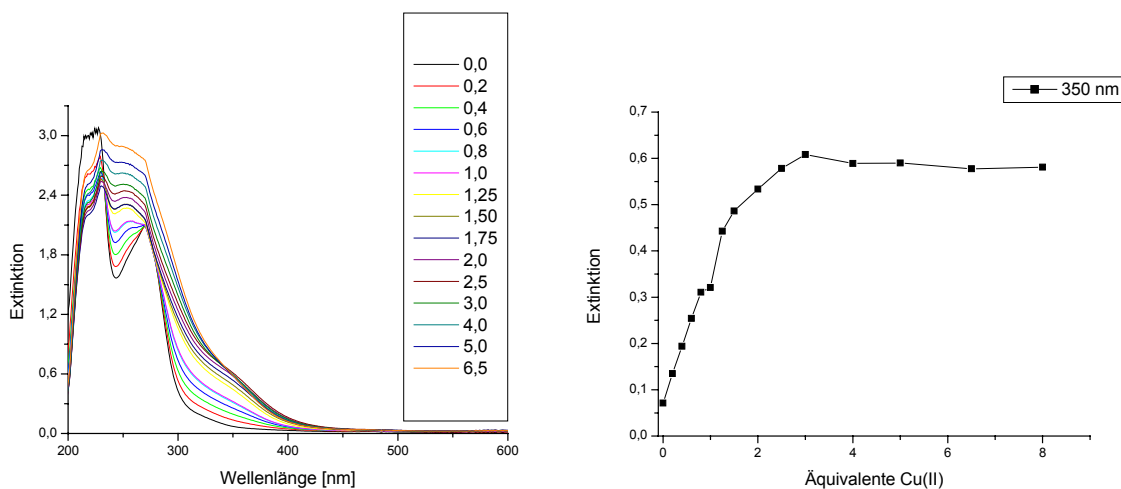


Abb. 4.2: links: Spektrophotometrische Titration von L^1 (1×10^{-4} M) mit $Cu(NO_3)_2$ in $CHCl_3$:MeOH 1:9 mit 6 eq Triethylamin ; rechts: Zunahme der Extinktion bei 350 nm

4.2.1.2 Titration unter Zusatz von Natriumdimethylphosphat (DMP)/Perchlorat (ClO_4^-)

Um die im vorherigen Abschnitt ausgeführte Interpretation der Koordination zweier funktioneller Metallionen zu unterstützen, wurde die Titration in Anwesenheit potenziell

verbrückender Anionen durchgeführt. Diese sollten in der Lage sein, sich bildende dreikernige Komplexe durch Verbrückung zu stabilisieren. Dazu wurde die Titration von L^1 in Chloroform:Methanol 1:9 unter Zugabe entweder von 5 Äquivalenten Natriumdimethylphosphat (DMP) oder 5 Äquivalenten Natriumperchlorat wiederholt. Jedoch wurde hier bereits von einer Lösung ausgegangen, die L^1 und Cu(II) im Verhältnis 1:1 enthielt. Untersucht wurde also nur die weitere Koordination der funktionellen Metalle.

DMP dient als Modellverbindung für das später bei der kinetischen Untersuchung verwendete Phosphodiester-Substrat HPNP. Jedoch hat DMP den Vorteil, dass es sehr reaktionsträge ist und keine störende Spaltung stattfindet.

Bei der Titration mit Perchlorat wird allmählich eine maximale Extinktionszunahme erreicht, die etwa halb so hoch ist wie die in Gegenwart von DMP nach Zugabe von zwei Äquivalenten Cu(II). Dies lässt auf den Einbau eines weiteren Cu(II) in Gegenwart von Perchlorat, aber von zwei weiteren Cu(II) in Gegenwart von DMP schließen. Diese Experimente bestätigen, dass ein dreikerniger Komplex gebildet werden kann, hierzu aber der stabilisierende Effekt verbrückender Anionen (NO_3^- , DMP) notwendig ist, was im Falle des sehr schwach koordinierenden Perchlorats nicht der Fall ist.

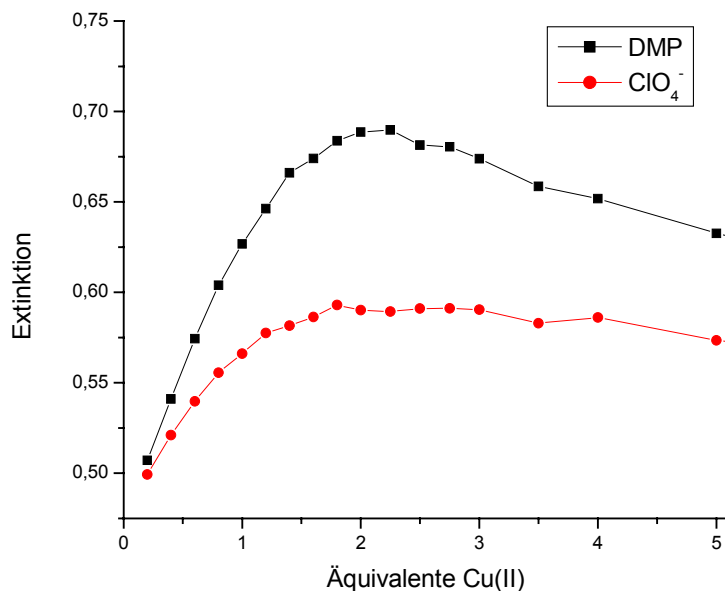


Abb. 4.3: Zunahme der Extinktion bei 350 nm während der spektrophotometrischen Titration von L^1 ($1 \cdot 10^{-4}$ M) mit $Cu(NO_3)_2$ in $CHCl_3:MeOH$ 1:9 mit 6 eq Triethylamin und 5 eq ClO_4^- bzw. 5 eq DMP

4.2.2 Massenspektrometrische Untersuchungen

Nimmt man ein ESI-Massenspektrum (ESI+) von einer Titrationslösung mit $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, (Chloroform:Methanol 1:9) auf, findet man auch nach Titration bis zu 8 Äquivalenten Cu(II) als Basissignal den freien Liganden L^1 . Das Signal bei $m/z = 553.5$ entspricht dem einfach protonierten Liganden (L^1+H). Der mononukleare Kupfer-Komplex, bei dem das Ligandengerüst deprotoniert ist, findet sich im Spektrum bei $m/z = 613.2$ mit einer Intensität von ca. 2 % relativ zum Basispeak. Das Isotopenmuster stimmt mit dieser Annahme überein. Ein im Verhältnis zu diesem Peak mehr als doppelt so intensives Signal kann bei $m/z = 676.3$ beobachtet werden. Möglicherweise handelt es sich um den dinuklearen Cu(II)-Komplex $[(L^1-2H)\text{Cu}_2]^{2+}$.

Ein Massenpeak, der einem trinuklearen Komplex entsprechen würde, lässt sich im Spektrum nicht finden. Der, wie es das UV/Vis-Spektrum nahe legt, in Lösung gebildete trinukleare Komplex, verliert unter den Messbedingungen leicht die koordinierten Metalle, wie dies bei anderen Ligandsystemen ebenfalls der Fall gewesen ist.^[51]

Die große relative Intensität der freien Liganden im Massenspektrum gegenüber den Metallkomplexen zeigt, dass die gebildeten Metallkomplexe unter den Untersuchungsbedingungen keine große Stabilität besitzen können und die Metalle leicht wieder abstrahiert werden.

Etwas andere Ergebnisse kann man aus dem MALDI-Spektrum der Titrationslösung erhalten. Zur Aufnahme des Spektrums stellte sich die Matrix Sinapinsäure als besonders geeignet heraus. In dem so gemessenen Spektrum ist der Peak des mononuklearen Komplexes ($[L^1\text{Cu}]^{2+}$) bei $m/z = 615.6$ doppelt so intensiv wie das Signal des freien Liganden bei $m/z = 553.6$. Das Signal des Komplexes ist mit dem Isotopenmuster für einen einkernigen Kupferkomplex konform.

Wohl durch die hohe Azidität der Matrix bedingt, konnte bei den MALDI-Messungen kein zwei- oder höherkerniger Komplex nachgewiesen werden. Eine Messung in einer weniger aziden Matrix, z.B. Dithranol, ergab keine verwertbaren Ergebnisse.

4.3 Co(II)- und Ni(II)-Komplexe von L^1

4.3.1 UV/Vis-Spektren

Analog den Titrationsen mit Cu(II) wurde der Ligand L^1 mit Co(II) bzw. Ni(II) in Gegenwart von sechs Äquivalenten TEA titriert. In DMSO konnten in beiden Fällen keinerlei Anzeichen für eine Koordination des Metalls an den Liganden festgestellt werden. Die Spektren änderten sich auch bei gelindem Erwärmen und langen Wartezeiten nicht merklich.

Anders liegen die Verhältnisse bei Titration in Methanol:Chloroform 9:1 (s. Abb. 4.4). Hier erkennt man bei beiden Titrationsen eine ausgeprägte Extinktionszunahme, die von ihrem absoluten Wert sogar stärker ist als für die Titration mit Cu. Die Extinktion steigt jedoch nicht linear an, sondern flacht mit fortschreitendem Titrationsverlauf ab, um nach Zugabe von 2-3 Äquivalenten Metallsalz in einem Plateau auszulaufen.

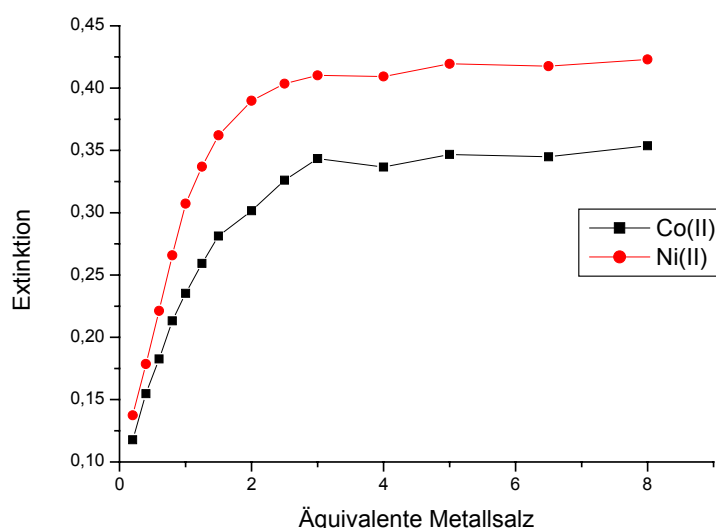


Abb. 4.4: Zunahme der Extinktion bei 350 nm bei einer spektrophotometrischen Titration von L^1 ($1 \cdot 10^{-4}$ M) mit $Co(NO_3)_2$ bzw. $Ni(NO_3)_2$ in $CHCl_3:MeOH$ 1:9 mit 6 eq Triethylamin

Es bilden sich demnach zumindest die mononuklearen Co- und Ni-Komplexe, wenngleich erst bei größerem Metallsalzüberschuss. Die Koordination weiterer funktioneller Metallionen kann aus den Titrationskurven nicht sicher abgeleitet werden. Der nach Koordination des strukturellen Metallions nur noch gering ausgeprägte weitere Extinktionsanstieg spricht jedoch gegen die Koordination zweier weiterer Metallionen. Die Bildung dieser oligonuklearen Komplexe kann zwar auch nicht ausgeschlossen werden, aber eine quantitative Umsetzung hierzu findet nicht statt.

Aufgrund weiterer Untersuchungen (s. Kap. 4.3.2 und 4.3.3) ist es fraglich, ob sich selbst die mononuklearen Komplexe unter Deprotonierung beider Amid-N-Atome quantitativ bilden.

4.3.2 Massenspektrometrische Untersuchungen

In einem aus der methanolhaltigen Titrationslösung (s. Kap. 4.3.1) aufgenommenen ESI-Massenspektrum des Co-Komplexes ist wiederum ein Basispeak bei $m/z = 553.5$ zu finden, der dem einfach protonierten Liganden entspricht. Ein dem mononuklearen Co-Komplex entsprechender Peak ist bei $m/z = 609.4$ mit einer relativen Intensität von $< 2 \%$ zu beobachten. Auch hier entspricht dies einem mononuklearen Kobalt-Komplex mit deprotoniertem Grundgerüst. Peaks, die einem dinuklearen Komplex zuzuordnen wären, sind in dem Spektrum jedoch nicht zu finden.

Die Lösungen des Nickelkomplexes ergeben bei derselben Messung ausschließlich Signale für den freien Liganden.

Fügt man den so gemessenen Lösungen noch fünf Äquivalente Cu(II) zu, so ändern sich die Spektren signifikant. Im Falle der Co(II)-Lösungen ist auch hier der Basispeak bei $m/z = 553$ wieder dem protonierten Liganden (L^{1+H}) zuzuordnen. Ebenfalls findet sich der mononukleare Co-Komplex mit nur wenigen Prozent Intensität als Signal bei $m/z = 609$. Ein Peak, der einem gemischten dinuklearen Komplex mit einem Co(II) und einem Cu(II) Ion entspricht, wie er bei Koordination eines Cu(II) an die funktionellen Bindungsstellen zu erwarten wäre, ist nicht zu detektieren. Dagegen findet man bei $m/z = 676.2$ einen Peak, der möglicherweise einem dinuklearen Komplex $[(L^1-2H)Cu_2]^{2+}$ entspricht. Dieser kann nur entstehen, wenn das bereits koordinierte Co(II) an der strukturellen Koordinationsstelle durch ein Cu(II)-Ion substituiert wird. Mit einer Intensität von 25 % relativ zu dem mononuklearen Co-Komplex ist dieser Metallaustausch innerhalb von 2 Stunden in seinem Umfang nicht zu vernachlässigen. Ebenso kann ein Peak bei $m/z = 615$ beobachtet werden, der vom nicht deprotonierten Ligand-Kupfer-Komplex $[L^1Cu]^{2+}$ herrührt.

Ähnliche Ergebnisse erhält man mit den Ni(II)-Lösungen bei Zugabe von Cu(II). Auch hier kann das Signal bei $m/z = 676$ detektiert werden, dass einem Kupferkomplex $[(L^1-2H)Cu_2]^{2+}$ zugeordnet werden kann.

4.3.3 Untersuchungen zum Metallaustausch des strukturellen Metalls gegen Cu(II)

Für diese Untersuchungen wurde eine Lösung des Liganden L^1 mit sechs Äquivalenten TEA, zwei Äquivalenten Co(II) bzw. Ni(II) und entweder fünf Äquivalenten DMP oder fünf Äquivalenten Perchlorat in Chloroform:Methanol 1:9 vorgelegt. Zu diesen Lösungen wurde jetzt Cu(II) titriert (s. Abb. 4.5).

Auch hier erkennt man einen Unterschied zwischen den Titrationen mit zugesetztem DMP oder Perchlorat.

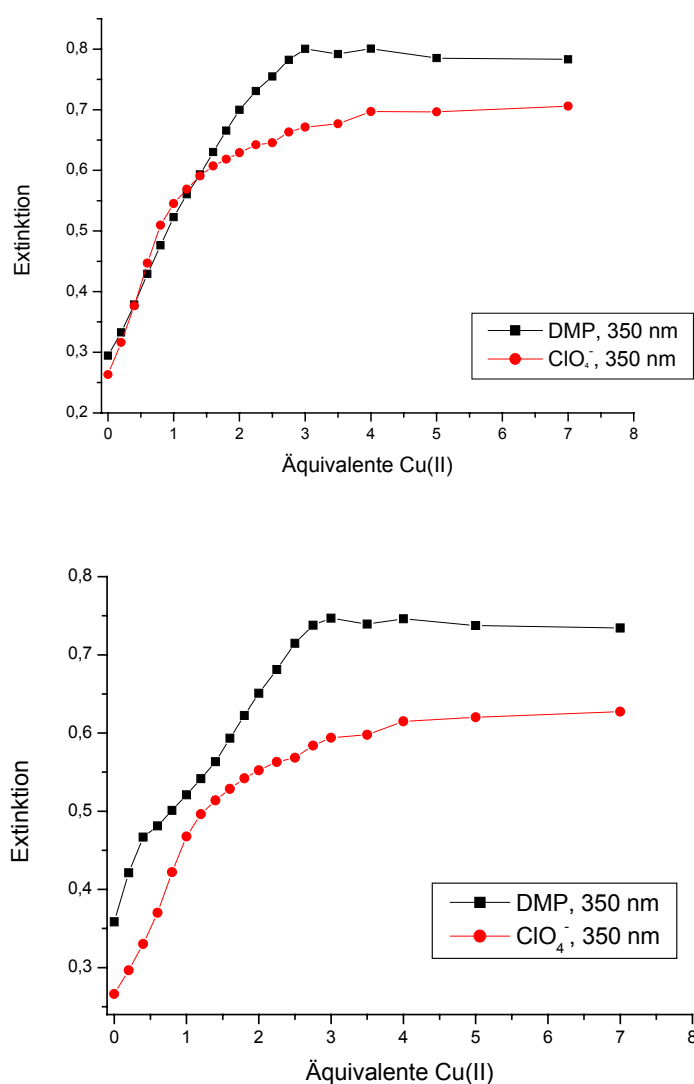


Abb. 4.5: Zunahme der Extinktion bei 350 nm während der spektrophotometrischen Titration von $[(L^1-2H)Co]$ (oben) bzw. $[(L^1-2H)Ni]$ (unten) ($1 \cdot 10^{-4}$ M) mit $Cu(NO_3)_2$ in $CHCl_3:MeOH$ 1:9 mit 6 eq TEA und 5 eq DMP bzw. 5 eq ClO_4^-

Bei der Titration unter Zugabe von DMP komplexiert der Ligand drei Äquivalente Cu(II). Dies kann nicht erklärt werden durch Austausch des strukturellen Co/Ni gegen Cu(II), da sich der Chromophor durch Austausch des Metalls nicht wesentlich ändert und so die Extinktion über die Zugabe des ersten Äquivalents Cu(II) nahezu konstant bleiben sollte. Vielmehr ist anzunehmen, dass sich die mononuklearen Co- bzw. Ni-Komplexe nur zu einem Teil gebildet haben und hier die Bildung der trinuklearen Cu-Komplexe, ohne notwendigen Metallaustausch, beobachtet wird.

Ein Metallaustausch des Kobalt bzw. Nickel aus den teilweise vorliegenden mononuklearen Komplexen gegen Kupfer konnte durch massenspektrometrische Untersuchungen gezeigt werden. In ESI-MS-Spektren, die aus den Titrationslösungen aufgenommen wurden, konnte in allen Fällen nur noch der mononukleare Kupferkomplex nachgewiesen werden. Signale für den Kobalt- bzw. Nickelkomplex waren nicht vorhanden.

5. Synthese und Struktur von Metallkomplexen von L^3

5.1 Cu(II)-Komplexe mit strukturellen und funktionellen Metallionen

5.1.1 Allgemeines

Zur Herstellung von Metallionenkomplexen von L^3 ist es notwendig, die Stickstoff-Protonen am Amidrückgrat zu abstrahieren. In DMSO-Lösungen des Liganden sind bei stöchiometrischer Kupfersalzzugabe bereits wenige Prozent Wasser als Base ausreichend, um die Komplexbildung zu erreichen (möglicherweise stabilisiert Wasser intramolekulare Protonierung unter Bildung eines Pyrimidin-Kations). Um eine quantitative Deprotonierung sicherzustellen, wurde jedoch bei spektrophotometrischen und kinetischen Untersuchungen unter Basenzusatz bzw. in einem Puffer gearbeitet (200 eq, MOPS, pH = 6.8 - 7.0).

Die Titration in Abb. 5.1 belegt, dass Base nicht stöchiometrisch zugegeben werden muss. Legt man den Liganden mit drei Äquivalenten Cu(II) in einem Methanol:Chloroform 9:1 Gemisch vor, so erhält man noch keine Komplexbildung. Titriert man nun kleine Mengen an Methanolat hinzu, so sieht man, dass zur Bildung des Komplexes bereits ein Äquivalent Base vollkommen ausreichend ist. Stöchiometrisch würden jedoch zwei bzw. drei Äquivalente benötigt. Jedoch ist zu bedenken, dass der Ligand selbst eine Base darstellt und das zweite zu abstrahierende Proton an den Pyridin-Stickstoff gebunden werden kann.

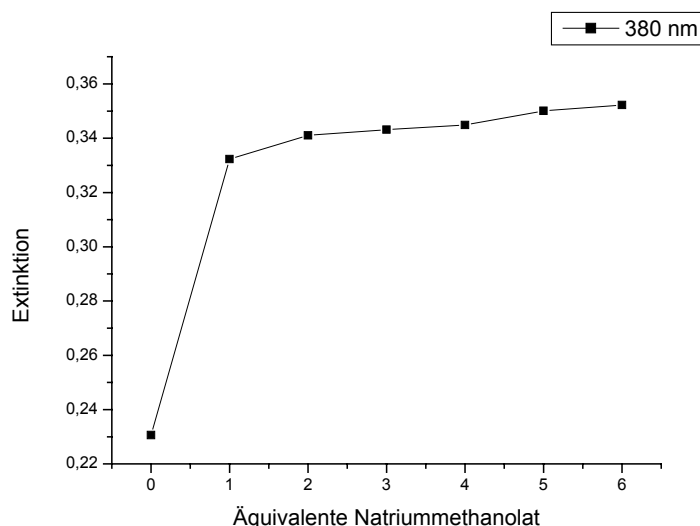


Abb. 5.1: Extinktionsverlauf bei 380 nm bei einer spektrophotometrische Titration einer Lösung von L^3 und 3 eq Cu(II) mit Natriummethanolat als Base, Methanol:Chloroform 9:1

Da der Ligand L^3 die gleichen Struktur motive aufweist, wie der in der Arbeitsgruppe bereits untersuchte Ligand L^4 , war die Fragestellung nach Parallelen bzw. Unterschieden in Eigenschaften und Verhalten der Liganden besonders interessant.

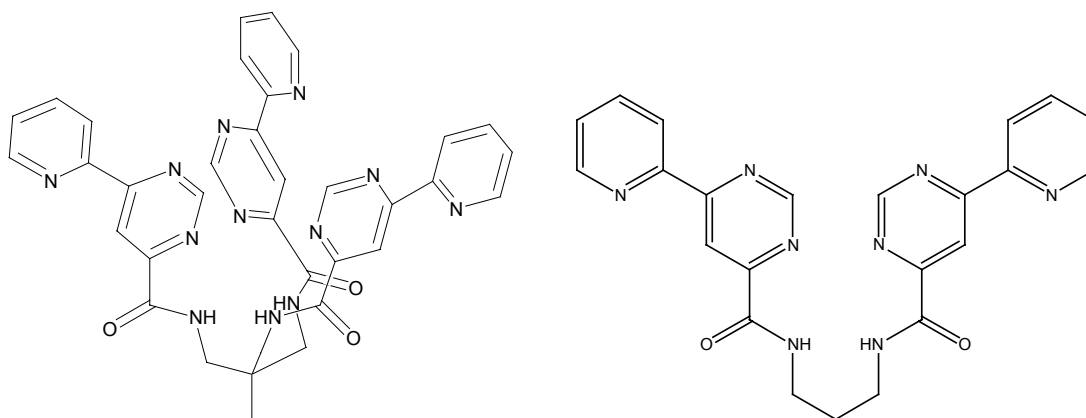


Abb. 5.2: Schematische Darstellung der Liganden L^3 (links) und L^4 (rechts)

Betrachtet man L^3 , so sieht man, dass ein strukturelles Metall nicht nur vierfach vom Ligand koordiniert sein kann (2 Amid-N-Donoren, 2 Pyrimidin-N-Donoren), wie dies bei L^4 der Fall ist, sondern dass hier potenziell sechsfache Koordination (3 Amid-N-Donoren, 3 Pyrimidin-N-Donoren) des zentralen Metallions möglich ist (siehe Abb. 5.2). Cu(II) koordiniert jedoch bevorzugt quadratisch planar, und damit vierfach. Zwei weitere axiale Kontakte sind bei Kupfer jedoch möglich, wenngleich in der Regel in größerem Abstand und somit schwächer. Die Frage, ob Kupfer mit L^3 nun derart koordiniert, dass nur zwei Arme bei der Bindung des strukturellen Metallions involviert sind oder alle drei Arme dabei aktiv werden, ist ohne Kristallstruktur schwer zu beantworten. Ein vermessbarer Einkristall des Cu-Komplexes konnte jedoch trotz intensiver Bemühungen nicht erhalten werden. Einen Hinweis erhält man aus dem IR-Spektrum eines isolierten Komplexes. Dazu wurde eine Lösung von L^3 in Chloroform mit Kupferperchlorat in Methanol unter Zugabe von stöchiometrischen Mengen Natriummethanolat versetzt. Das Lösungsmittel wurde nach erfolgter Komplexbildung abgezogen, freies Kupferperchlorat mit Essigester ausgewaschen. Das davon aufgenommene IR-Spektrum zeigt Banden bei 1624, 1596, 1531 und vor allem auch bei 1674 cm^{-1} . Während die zuerst genannten Banden den am Kupfer koordinierten Amidgruppen zuzuordnen sind, handelt es sich bei der Bande bei 1674 cm^{-1} um ein Signal der freien unkoordinierten Amidfunktion. Dieses Signal beträgt ca. 40% der Intensität der Signale des koordinierten Amids. Dies spricht dafür, dass an der Koordination des Kupfers nur zwei der drei Arme beteiligt sind. Es bleibt jedoch die Frage, ob die Koordination des Kupfers quantitativ erfolgt

oder ob es sich bei den im IR-Spektrum sichtbaren Banden der freien Amidfunktion um gänzlich unkoordinierten Liganden handelt. Die Ähnlichkeit der Eigenschaften der Kupferkomplexe von L^3 und L^4 bei den kinetischen Untersuchungen (s. Kap.6.2.2) legt jedoch die erste Interpretationsvariante nahe.

5.1.2 UV/Vis-spektroskopische Untersuchungen

Die spektrophotometrische Titration von L^3 in DMSO unter Zugabe von drei Äquivalenten Natronlauge belegt, dass ein Metallion an den Liganden koordiniert. Dabei steigt die Extinktion in einem breiten Bereich von 330 bis 420 nm. Hierbei ist jedoch aufgrund der Eigenabsorption von $Cu(NO_3)_2$ bei kleineren Wellenlängen nur der Bereich ab 360 nm wirklich aussagekräftig.

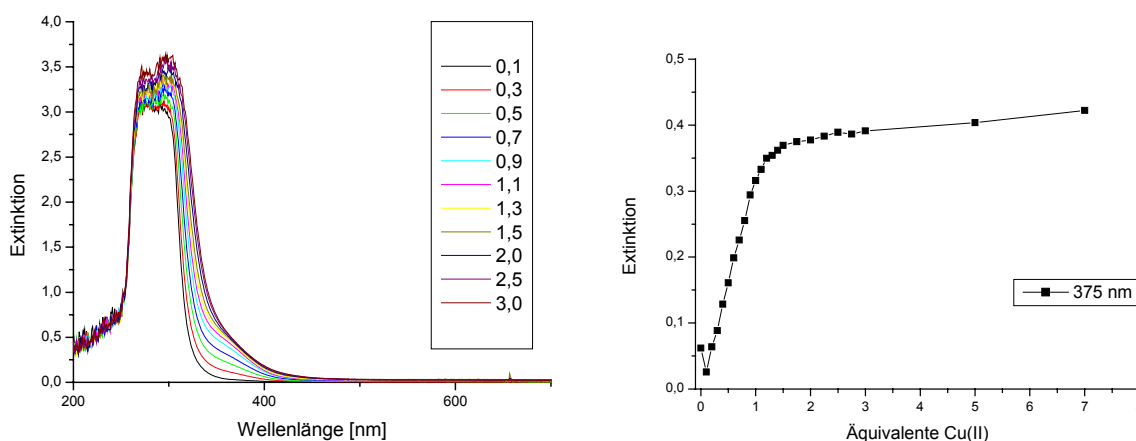


Abb. 5.3: *links*: Spektrophotometrische Titration von L^3 ($1 \cdot 10^{-4}$ M) mit $Cu(NO_3)_2$ in DMSO mit 3 eq Natronlauge; *rechts*: Zunahme der Extinktion bei 375 nm

Bei einer Wellenlänge von 375 nm nimmt die Extinktion bis zur Zugabe von etwa einem Äquivalent $Cu(II)$ stark und linear zu und steigt dann aufgrund der schwachen Eigenabsorption von $Cu(NO_3)_2$ nur noch minimal an.

Wie schon bei den bisher diskutierten Liganden ist auch hier anzunehmen, dass das koordinierte Metallion den Platz des strukturellen Metalls einnimmt und dabei von den Amid-N- und Pyrimidin-N-Donoren komplexiert wird. Ob dabei alle drei Arme oder nur zwei beteiligt sind, lässt sich hier hieraus nicht ablesen.

Ebenso wenig kann aus der Titration auf die Koordination weiterer funktioneller Metalle geschlossen werden.

Ein komplizierteres Spektrum erhält man bei der Titration in einem Methylenchlorid:Acetonitril 1:1 Gemisch. Hier laufen bei der Titration vermutlich verschiedene Prozesse nebeneinander ab. Etwas unscharfe isosbestische Punkte lassen sich im Spektrum bei 263 nm und 298 nm erkennen. Wie schon bei anderen Komplexen ^[84,91,92], die ähnliches Verhalten zeigen, ist anzunehmen, dass sich nicht nur der 1:1 Komplex aus Ligand und einem Kupferion bilden, sondern auch 2:1 Komplexe, deren genaue Struktur unklar bleibt.

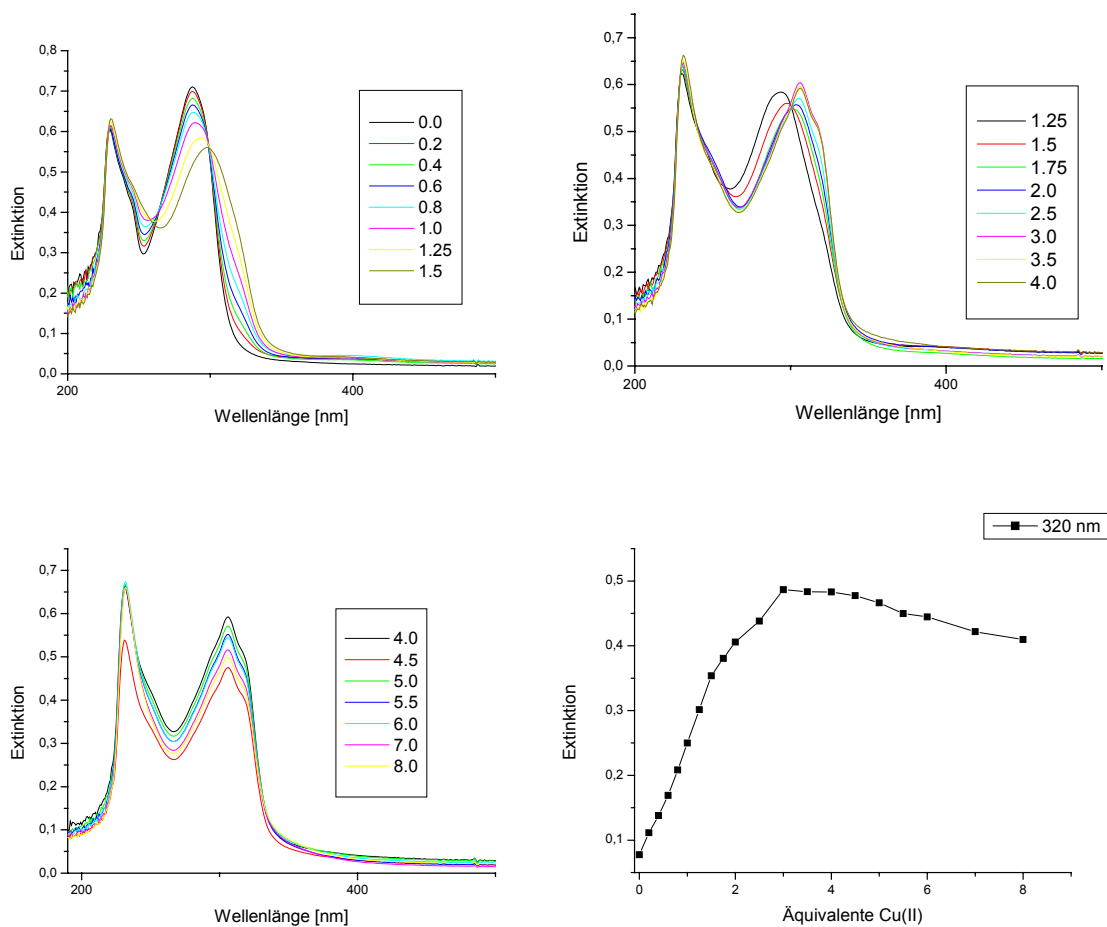


Abb. 5.4: oben und unten links: Spektrophotometrische Titration von L^3 ($1 \cdot 10^{-4}$ M) mit $Cu(NO_3)_2$ in $CH_2Cl_2:CH_3CN$ 1:1; unten rechts: Zunahme der Extinktion bei 320 nm

Dass die Extinktion nach Zugabe von insgesamt 3 Äquivalenten Kupfer konstant bleibt, spricht für die Bildung eines Komplexes, der ein strukturelles Metallion durch zwei Amid-N-Donoren und zwei Pyrimidin-N-Donoren komplexiert hat und zusätzlich noch zwei weitere Metallionen an den funktionellen Bindungsstellen koordiniert hat. Damit bliebe eine der drei potenziellen Bindungsstellen für funktionelle Metalle unbesetzt. Die möglichen Gründe dafür werden später anhand des $Co(III)$ -Komplexes noch erörtert (s. Kap. 5.4.3.2).

5.2 Ni-Komplexe von L^3

5.2.1 UV/Vis-spektroskopische Untersuchungen

Analog zu den in Kapitel 4 beschriebenen Untersuchungen an Ligand L^1 wurde auch hier getestet, inwieweit andere Metalle als strukturelles Ion Verwendung finden können.

Daher wurden photometrische Titrations ebenfalls mit Nickel durchgeführt (s. Abb. 5.5).

Bei der Titration in $CH_2Cl_2:CH_3CN$ 1:1 zeigt sich, dass ein Äquivalent Nickel durch den Liganden gebunden wird. Während dieser Titrationsphase sieht man im Spektrum große Veränderungen der Extinktionen. Es finden sich isosbestische Punkte bei 259 nm und 298 nm. Wie jedoch schon bei den Titrations mit Kupfer in DMSO (s. Abb. 5.3) findet man hier keine Anhaltspunkte für eine Koordination weiterer struktureller Metalle.

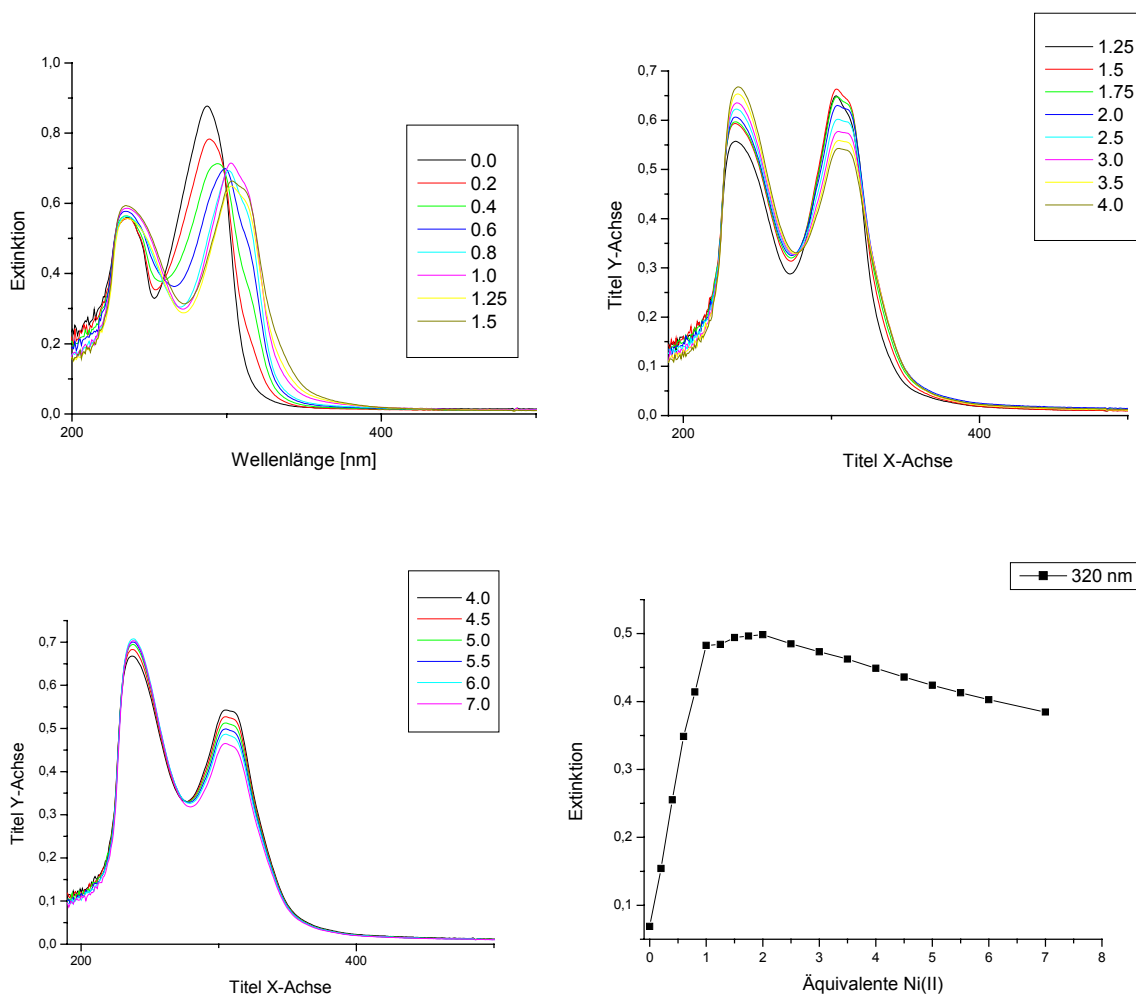


Abb. 5.5: oben: Spektrophotometrische Titration von L^3 ($1 \cdot 10^{-4}$ M) mit $Ni(NO_3)_2$ in $CH_2Cl_2:CH_3CN$ 1:1; unten: Zunahme der Extinktion bei 375 nm

5.2.2 Massenspektrometrische Untersuchungen/ IR-Spektrum

Im MALDI-Massenspektrum der Titrationslösung findet man hauptsächlich die Signale für den mononuklearen Komplex. Zusätzlich ist ein schwaches Signal für den dinuklearen Komplex zu finden, welches allerdings kaum vom Rauschen zu unterscheiden ist. Anzumerken ist außerdem, dass man je nach Vorbereitung der Proben unterschiedliche Signale im Spektrum erhält. Dies hängt mit dem Deprotonierungsgrad des Liganden und der Acidität der Matrix bzw. der bei der Titration verwendeten Basenmenge zusammen. So erhält man bei großer Basenzugabe (50 eq) und Verwendung der nicht sauren Matrix Dithranol Peaks bei $m/z = 722.9$, was dem mononuklearen Nickelkomplex entspricht. Bei weniger Basenzugabe bzw. saurerer Matrix (Sinapinsäure) findet man den entsprechenden Peak bei $m/z = 724.2$, der mit $[(L^3-H)Ni]^+$ korreliert.

In dem leider nur schlecht aufgelösten IR-Spektrum des Ni- L^3 -Komplexes erkennt man eine breite Bande bei $>1600\text{ cm}^{-1}$. Diese weist eine deutliche Schulter bei $\approx 1680\text{ cm}^{-1}$ auf. Diese Schulter entspricht der unkoordinierten Amidgruppe. Dies weist darauf hin, dass im Nickelkomplex, ebenso wie im Kupfer-Komplex, möglicherweise nicht alle drei Amidfunktionen an der Koordination des strukturellen Metalls beteiligt sind.

5.2.3 Untersuchungen zum Metallaustausch an Komplexen (Ni/Cu) von L^3

Um herauszufinden, ob sich Nickel als strukturelles Metall für weitergehende Experimente in Gegenwart von funktionellen Cu(II)-Ionen eignet, wurde ein Austauschexperiment mit Kupfer(II) durchgeführt. Dazu wurden zur Lösung der UV/Vis-Titration aus Kap. 5.2.1 noch drei Äquivalente Kupfer hinzugefügt. Das nach zwei Stunden mit der Matrix Dithranol aufgenommene MALDI-Spektrum weist neben den Peaks für $[L^3Ni]$ auch deutliche Signale für $[L^3Cu]$ auf. Diese sind je nach verwendeter Matrix sogar um ein vielfaches intensiver als die des Nickelkomplexes. In diesen Austauschexperimenten findet man als Peak für $[(L^3-H)Ni]^+$ nur noch den Peak bei $m/z = 724.2$ und für den Kupferkomplex $[(L^3+H)Cu]^{3+}$ bei $m/z = 730.1$. Ein weiteres Signal bei $m/z = 786.4$ entspricht einem Komplex mit jeweils einem Kupfer und einem Nickel $[L^3CuNi]$. Ob hier das Nickel an der strukturellen Bindungsstelle des Komplexes koordiniert ist oder an der funktionellen, ist dem Spektrum nicht zu entnehmen.

Damit ist Nickel als strukturelles Metall bei der Hydrolyse von HPNP ungeeignet, da hier als funktionelles Metall Kupfer benutzt wird und man wegen des schnellen Metallaustausches von

strukturellem Nickel mit funktionellem Kupfer somit immer zumindest einen Mix aus verschiedenen Komplexen erhalten würde.

5.3 Komplexe von L^3 mit Co(III) als strukturellem Metallion

5.3.1 UV/Vis-spektroskopische Untersuchungen

UV/Vis-spektroskopische Untersuchungen können durch Titration mit Co(II)- oder Co(III)-Salzen durchgeführt werden. Dabei besteht die Schwierigkeit, dass Co(II) in Komplexen leicht zu Co(III) oxidiert wird.

Dass sich im Fall von L^3 wirklich der Co(III)-Komplex bildet, wird zum einen durch die Identität von Spektren untermauert, bei denen entweder Co(II)-nitrat oder Natriumhexanitrocolbaltat(III) verwendet wurde.

Zum anderen sprechen auch Bindungslängen im Kristall (s. Kap. 5.3.2) und die Ergebnisse eines Cyclovoltagramms (s. Kap. 5.3.3) für das Vorliegen eines Co(III)-Komplexes, auch wenn zu dessen Synthese Co(II)-Salze verwendet wurden.

5.3.2 Isolierung und Kristallstruktur von $[(L^3-3H)Co]$

Co(III) eignet sich besonders für die Komplexbildung mit L^3 . Im Gegensatz zu Cu(II) bildet es bereitwillig oktaedrische Komplexe, kann also durch sechs Donoren, wie sie in L^3 vorliegen, gut komplexiert werden. Ein weiterer Vorteil ist, dass durch das dreifach positiv geladene Co(III) die negative Ladung des deprotonierten Liganden neutralisiert wird und der Komplex so in organischen Solventien löslich wird und damit gut isoliert werden kann. Zudem sind Co(III)-Komplexe für ihre kinetische Stabilität bekannt, d.h. mit einem Austausch des strukturellen Metalls bei Zugabe von Kupfer als funktionellem Metall ist nicht zu rechnen.

Die Isolierung des Komplexes gelang, indem L^3 in Chloroform gelöst und mit einem 1.25-fachen Überschuss an Co(II)nitrat in Methanol gemischt wird. Zur Erhaltung der Löslichkeit der beteiligten Komponenten werden noch fünf Teile Methanol zugegeben. Man erhält eine schwach orange Lösung, die sich bei Zugabe von drei Äquivalenten Natronlauge schlagartig intensiv orange färbt. Dabei fällt ein Teil der Reaktanden aus. Diese Suspension wird für 20 h intensiv unter Luftzutritt gerührt. Damit wird dem Co(II) genügend Zeit und Sauerstoff zur Oxidation zum Co(III) gegeben. Die Reaktionsmischung wird zur Trockene

eingengt und mehrmals mit heißem Chloroform extrahiert. Dabei geht der neutrale Co-Komplex in Lösung, während Verunreinigungen wie Natronlauge und überschüssiges Co(II)-nitrat als Feststoff zurückbleiben. Die Abtrennung von nicht umgesetztem Liganden erfolgt per Säulenchromatografie an Kieselgel mit einem Chloroform:Methanol Gemisch steigenden Methanolgehaltes.

Durch langsames Verdunsten des Lösungsmittels Nitrobenzol konnte der Komplex als vermessbarer Einkristall erhalten werden.

Details über die Röntgenstrukturanalyse von $[(L^3-3H)Co]$ können Tabelle 5.1 entnommen werden.

Tab. 5.1: Kristalldaten und Details der Strukturlösung und Strukturverfeinerung von $[(L^3-3H)Co]$

Summenformel	$C_{35}H_{27}N_{12}O_3 \cdot 1.5 C_6H_5NO_2$
Molmasse	906.78
Kristallsystem	Monoklin
Raumgruppe	P2(1)/n
Zelldimensionen	a = 12.3197(7) Å b = 13.4576(8) Å c = 24.6486(15) Å
	$\alpha = 90^\circ$ $\beta = 99.9750(10)^\circ$ $\gamma = 90^\circ$
Zellvolumen	4024.8(4) Å ³
Formeleinheiten/Elementarzelle	4
Dichte (berechnet)	1.496 g/cm ³
Absorptionskoeffizient	0.497 mm ⁻¹
Kristalldimension	0.40 x 0.11 x 0.10 m
Diffraktometer	Bruker AXS SMART 1000
Wellenlänge	0.71073 Å (Mo-K _{α} -Strahlung)
Meßtemperatur	173 K
Meßmethode	ω -scan
Gemessener Bereich	1.68 bis 30.52°.
Indizes	-17<=h<=17, 0<=k<=19, 0<=l<=35
Zahl der gemessenen Reflexe	34737
Zahl der unabhängigen Reflexe	12228
Davon beobachtet $[I > 2\sigma(I)]$	12228
Strukturlösung	Programmsysteme SHELXTL-97, SHELXTS-97
Strukturverfeinerung	Methode der kleinsten Fehlerquadrate
Zur Verfeinerung benutzte Reflexe	12228
Parameter	770
Goodness-of-fit on F^2	1.014
Endgültige R-Werte $[I > 2\sigma(I)]$	R1 = 0.0465, wR2 = 0.1048
Endgültige R-Werte (für alle Daten)	R1 = 0.0883, wR2 = 0.1289
Wichtungsfaktor	$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0,0812P)^2 + 1.22P]$ $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$
Größtes Maximum und Minimum der Restelektronendichte	1.182 und -0.620 e.Å ⁻³

Dabei wurden Korrekturen für Lorenz und Polarisierungseffekte angewandt. Absorptionskorrekturen wurden mit semiempirischen Methoden durchgeführt, basierend auf

multiplen Scans von äquivalenten Reflexen unter Benutzung der SADABS Routine. Die Struktur wurde mit direkten Methoden gelöst und nach der Methode der kleinsten Fehlerquadrate verfeinert.

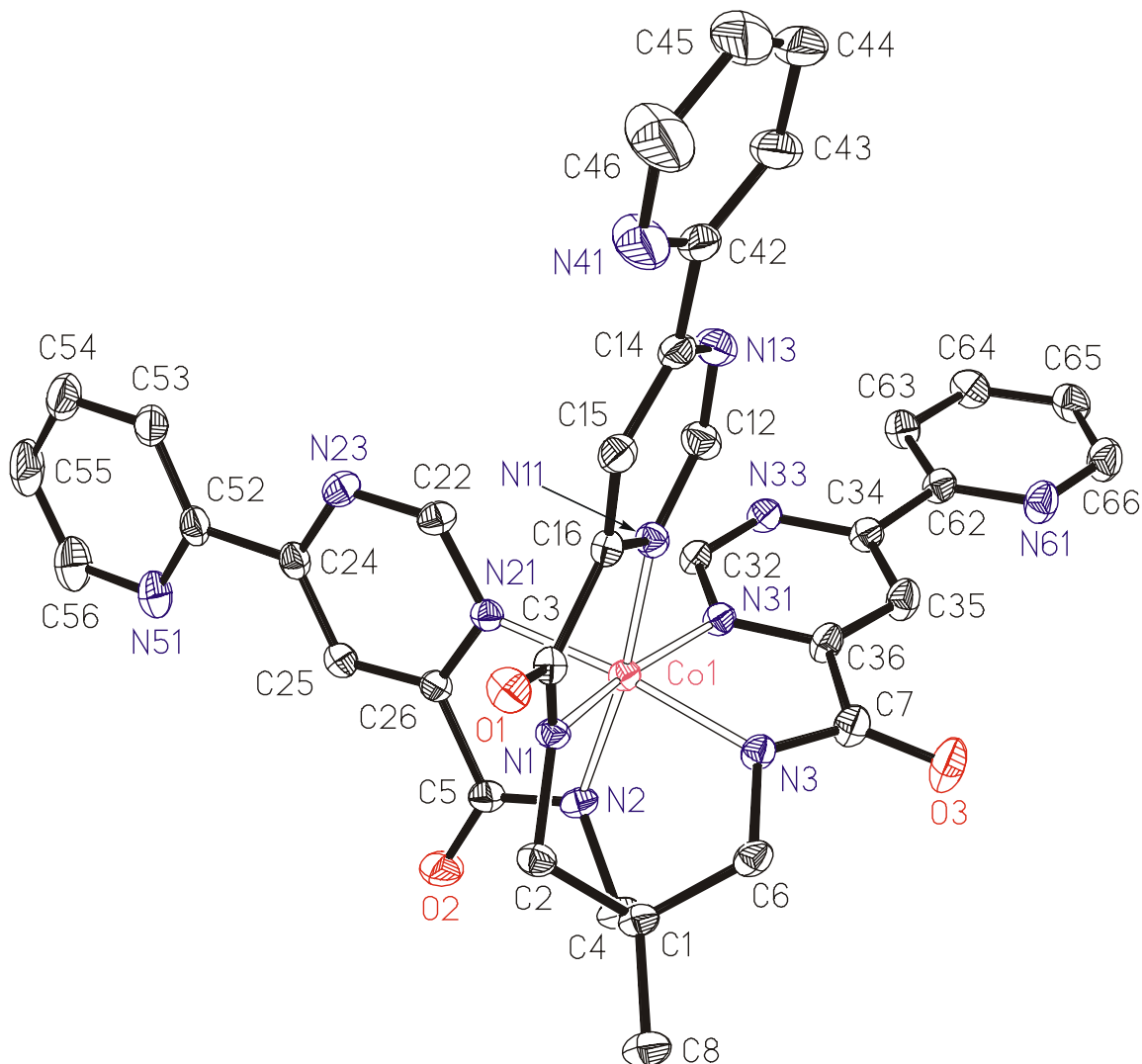


Abb. 5.6: Kristallstruktur und Nummerierungsschema des Komplexes $[(L^3-3H)Co]$

In $[(L^3-3H)Co] \cdot 1.5 C_6H_5NO_2$ findet sich ein Molekül Nitrobenzol fehlgeordnet zwischen zwei ungefähr halb besetzten Positionen. Die C-H-Protonen wurden dabei auf berechnete Positionen gesetzt. Das andere Nitrobenzolmolekül befindet sich im Inversionszentrum. Daraus resultiert eine Fehlordnung der Nitrogruppe zwischen zwei para-Positionen mit jeweils halber Besetzung. Die dazugehörigen Protonen, die mit den Nitrogruppen überlappen, wurden nicht lokalisiert.

Das Nummerierungsschema von $[(L^3-3H)Co] \cdot 1.5C_6H_5NO_2$ kann Abb. 5.6 entnommen werden.

Die Elementarzelle enthält ungeladene Moleküle des mononuklearen Co(III)-Komplexes sowie dem Nitrobenzol aus dem Lösungsmittel.

Entgegen dem ersten Eindruck beim Betrachten des Metallkomplexes besitzt dieser keine C_3 -Symmetrie.

Der dreifach deprotonierte Ligand L^3 ist sechszählig koordiniert. Dabei formen die Amid- und Pyrimidinstickstoffatome eines jeden Armes einen fünfgliedrigen Ring mit dem Kobalt. Das Zentralion ist oktaedrisch umgeben, wobei die Koordination in Richtung eines trigonalen Prismas verzerrt ist. Dies wird durch eine nicht zu vernachlässigende Abweichung von 180° der Winkel zwischen den gegenüberliegenden Liganden deutlich (169.01° - 172.38°). Eine Methode, den Verzerrungsgrad zu quantifizieren ist es, den Winkel zu ermitteln, um den das durch N(1), N(2) und N(3) aufgespannte Dreieck gegenüber dem durch N(11), N(21) und N(31) aufgespannten Dreieck gedreht ist. ^[52] Bei einem idealen Oktaeder beträgt dieser Winkel $\theta = 60^\circ$, während im idealen Trigonalen Prisma $\theta = 0^\circ$ ist. Im vorliegenden Kristall ist die Abweichung vom idealen Oktaeder mit $\theta = 51^\circ$ verhältnismäßig gering.

Die jeweils drei Amid- bzw. Pyrimidin-N-Atome sind fac angeordnet. Die Co-N(Amid) Bindungslängen sind mit ca. 1.89 \AA deutlich kürzer als die Co-N(Pyridin)-Bindungen mit ca. 1.96 \AA . Die beobachteten Werte liegen in einem normalen Bereich für Co(III)-Komplexe dieses Typs mit Stickstoff-Donoratomen.

Weitere Torsionen des Ringsystems haben ihre Ursache in der Chelatbildung, die Bisswinkel sind verkleinert auf 82.57° - 83.20° . Die fünfgliedrigen Ringe besitzen verschiedene Konformationen: während der Co(1)N(1)C(3)C(16)C(11) Ring nahezu planar ist (die Abweichung von der Hauptebene beträgt nicht mehr als 0.026 \AA), nehmen die beiden anderen Ringe eine Briefumschlag-Konformation ein, wobei C(26) und Co(1) um 0.061 bzw. 0.237 \AA aus der Ebene abweichen, die von den restlichen vier Atomen gebildet werden.

Die durch die Koordination ebenfalls mitausgerichteten Amid-Stickstoffatome der transoiden Amid-Gruppen sind in Relation zu den Pyrimidin-Stickstoffatomen cis orientiert, während die nichtkoordinierten Pyrimidin- und Pyridin-Stickstoffatome ihre erwartete trans-Position beibehalten.

In den bis-heterozyklischen terminalen Fragmenten sind die Pyrimidin- und Pyridinringe annähernd coplanar ausgerichtet, die entsprechenden Diederwinkel zwischen den Ringebenen sind 11.3° , 4.5° und 3.5° für die Untereinheiten, die die {N(11), N(13)}, {N(21), N(23)}- und {N(31), N(33)}-Atome enthalten. Die Pyridin-Ringe der einzelnen Äste sind relativ zueinander

orthogonal angeordnet, die entsprechenden Diederwinkel betragen 89.8° , 82.0° und 86.1° , für die {N(11), N(21)}, {N(21), N(31)-} und {N(31), N(11)}-Ringe.

Die Diederwinkel zwischen den Pyrimidin-Ringen sind ebenfalls nahe bei 90° , im einzelnen 84.2° , 81.8° und 78.7° .

Die Kohlenstoffatome der Methylengruppen sind merklich aus der Ebene der Amid-Gruppen verschoben, die entsprechenden Torsionswinkel C-N-C-O betragen hier 15.1° - 18.5° .

Der Abstand zwischen den nicht-koordinierten Pyrimidin-Stickstoffatomen beträgt 5.26 \AA bis 5.78 \AA . Daraus lässt sich ableiten, dass der Metall-Metall-Abstand bei weiterer Koordination von funktionellen Metallen durch die drei freien {N(Py), N(Pym)} Chelateinheiten im Bereich von 6 bis 7 \AA liegt.

5.3.3 Cyclovoltogramm von $[(L^3-3H)Co]$

Die cyclovoltametrischen Messungen wurden in DMF durchgeführt. Sowohl gegen eine Kalomel- als auch gegen eine Silber/Silberchloridreferenzelektrode gemessen, erkennt man eine quasireversible Reduktion des Komplexes. Das Redoxpotential beträgt dabei -1.28 V ($\Delta E = 0.15 \text{ V}$) gegen Ag/AgCl bzw. -1.05 V ($\Delta E = 0.15 \text{ V}$) gegen Kalomel. Damit konnte gezeigt werden, dass das Co(III) im Komplex wieder zu Co(II) reduziert werden kann, allerdings nur bei vergleichsweise stark negativem Potential.^[93-95] Die Quasireversibilität des Redoxvorganges legt nahe, dass der gebildete Komplex aus L^3 und Co(II) bei Abwesenheit von Oxidantien und in aprotischen Lösungsmitteln stabil sein könnte. Leider konnte jedoch der Co(II)-Komplex nicht isoliert werden, bzw bei Titrationen in Lösung nachgewiesen werden.

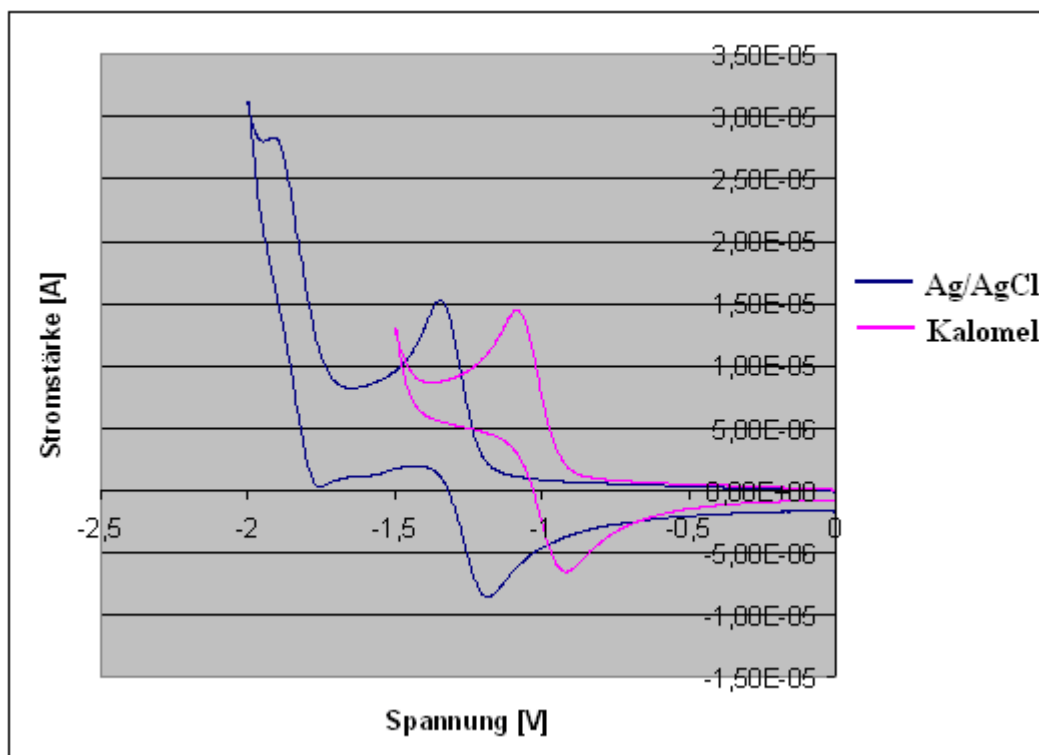


Abb. 5.7: Cyclicvoltogramm von $[(L^3-3H)Co]$ in DMF gegen verschiedene Referenzelektroden, Leitsalz $(t-Bu)_4NBF_4$

5.4 $[(L^3-3H)Co]$ mit verschiedenen funktionellen Metallen

5.4.1 Spektrophotometrische Titration mit Cu(I)

Eine besondere Eigenschaft der $[(L^3-3H)Co]$ Komplexe ist, dass am Komplex koordiniertes Cu(II) leicht zu Cu(I) reduziert werden kann (s. auch Kap 6.3). Aus diesem Grunde erfolgte eine UV/Vis-spektroskopische Titration von $[(L^3-3H)Co]$ mit Cu(I) (Tetrakis(acetonitril)-Kupfer(I)-hexafluorophosphat).

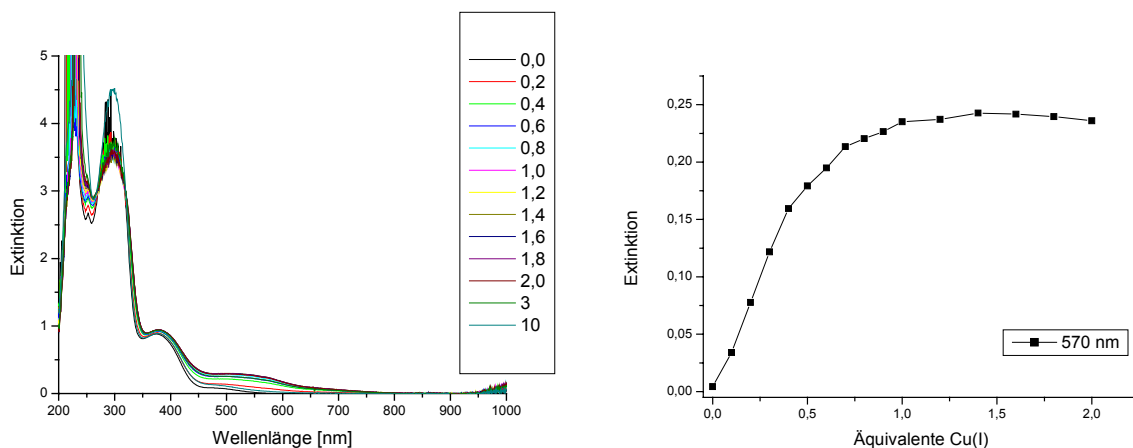


Abb. 5.8: links: spektrophotometrische Titration von $[(L^3-3H)Co]$ ($1 \cdot 10^{-4}$ M) mit Cu(I) in $CHCl_3:MeOH$ 1:9 (Zugabe des Metallsalzes in Acetonitril); rechts: Zunahme der Extinktion bei 570 nm

Bei der Koordination von Cu(I) entsteht im Spektrum eine neue breite Bande zwischen 450 nm und 650 nm. Um andere Einflüsse auf die Extinktionsänderung als Koordination des Cu(I) auszuschließen, wird die Extinktion bei 570 nm näher betrachtet. Aus der Extinktionszunahme ergibt sich, dass nur ein Äquivalent Kupfer komplexiert wird. Dies erstaunt umso mehr, als dass im Ligand drei Koordinationsstellen für funktionelle Metalle vorhanden sind. Wie später gezeigt wird (Kap. 5.4.3.2) können diese auch alle zur Koordination von Cu(II) benutzt werden. Warum mit Cu(I) nur eine Koordinationsstelle besetzt wird, bleibt unklar, zumal die Koordination so stabil ist, dass das Cu(I) gegenüber Luftoxidation zum Cu(II) inert ist. Eine mögliche Erklärung hierfür liegt in der Bildung eines stabilen Komplexes $[(L^3-3H)Co^{III}]_2Cu^I$ durch tetraedrische Komplexierung von Cu(I) mit je einer zweizähligen Pyrimidin-Pyridin-Gruppe des Co-Komplexes. Hierfür spricht der Verlauf der Extinktionszunahme, der einer (bei 0.5 Äquivalenten Cu(I) nicht ganz vollständigen) Bildung eines 2:1-Komplexes entspricht.

5.4.2 Spektrophotometrische Titration mit Pd(II)

Als funktionelles Metall für kinetische Untersuchungen mit HPNP ist neben Kupfer auch Palladium(II) geeignet. Um Aussagen über dessen Koordinationsfähigkeit an $[(L^3-3H)Co]$ treffen zu können, wurden wiederum UV/Vis-spektroskopische Titrations durchgeföhrt.

Dabei konnte eine starke Abhängigkeit der Titrationsergebnisse sowohl vom Lösungsmittel als auch von der Art des verwendeten Palladiumsalzes festgestellt werden.

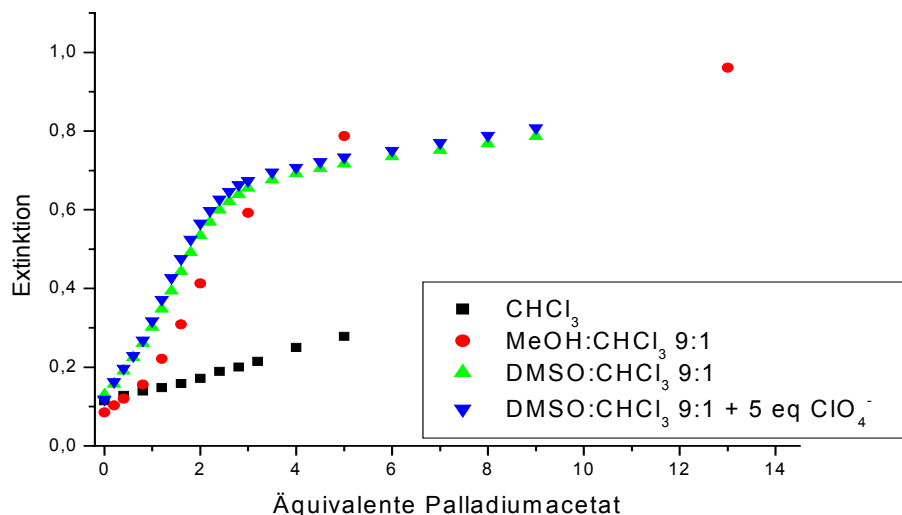


Abb. 5.9: Zunahme der Extinktion bei 460 nm bei einer spektrophotometrischen Titration von $[(L^3-3H)Co]$ ($1 \cdot 10^{-4}$ M) mit $Pd(OAc)_2$ in verschiedenen Lösungsmitteln

Klare Aussagen, lassen sich nur bei den Titrationen mit Palladium(II)acetat in DMSO:CHCl₃ 9:1 treffen.

Hier steigt die Extinktion bis zur Zugabe von drei Äquivalenten Palladium stark an, um danach nur noch aufgrund der Eigenabsorption des Palladiumacetats leicht und linear anzusteigen. Dies weist auf die Bildung eines vierkernigen Komplexes $[(L^3-3H)Co]Pd_3$ hin.

5.4.3 Komplexbildung von $[(L^3-3H)Co]$ mit Cu(II)

5.4.3.1 UV/Vis-spektroskopische Untersuchungen mit verschiedenen Kupfersalzen

Ausgehend von $[(L^3-3H)Co]$ wurden spektrophotometrische Titrationen mit Cu(II)-Salzen durchgeführt. Dadurch sollte die Koordination der Cu(II)-Ionen an die drei möglichen Koordinationsstellen des Co-Komplexes belegt werden.

Eine Titration in DMSO, wie sie bei den entsprechenden Komplexen mit Cu(II) als strukturellem Metall durchgeführt wurden, waren hier aufgrund der unerwartet schlechten Löslichkeit des $[(L^3-3H)Co]$ -Komplexes in reinem DMSO nicht möglich. Es konnte keine klare 10^{-4} M Lösung des Komplexes in DMSO hergestellt werden.

Aus diesem Grund erfolgten die nachstehenden Titrations in einem Methanol:Chloroform 1:9-Gemisch.

Wie aus Abb. 5.10 ersichtlich ist, hängen die Ergebnisse der Titration von der Art des verwendeten Cu(II)-Salzes und weiteren zugegebenen Anionen ab.

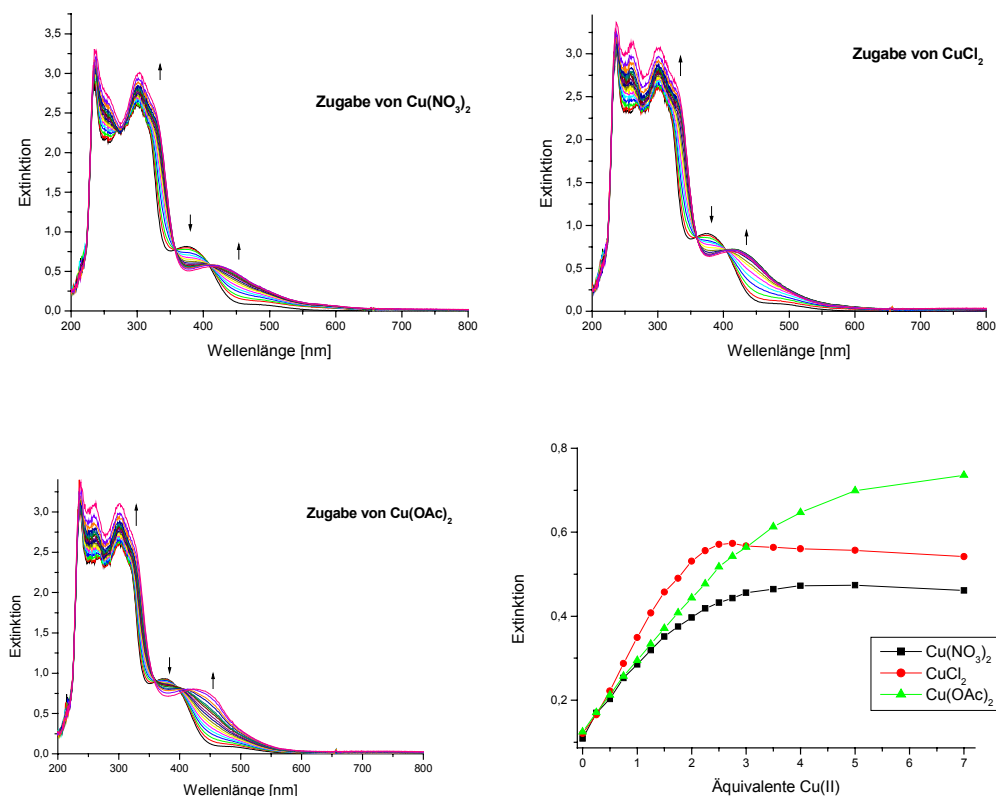


Abb. 5.10: oben und unten links: Spektrophotometrische Titration von $[(L^3-3H)Co]$ ($1 \cdot 10^{-4}$ M) mit Cu(II)-Salzen in MeOH:CHCl₃ 9:1; unten rechts: Zunahme der Extinktion bei 430 nm

Es ist deutlich zu erkennen, dass bei Verwendung von Kupferchlorid zwei Äquivalente Kupfer in den Komplex eingebunden werden. Möglicherweise steht hier die elektrostatische Abstoßung der Metallkationen dem Einbau des dritten Cu(II) im Wege.

Mit Cu(NO₃)₂ entsteht, wie aus der Extinktionszunahme ersichtlich, ein zweikerniger Komplex quantitativ erst bei hohem Cu-Überschuss. Dagegen weist der besonders hohe Extinktionsanstieg mit Kupferacetat auf die Bildung des dreikernigen Komplexes hin.

Eine einfache Erklärung hierfür ist die unterschiedliche Affinität der Anionen zu Cu(II), deren Koordination die elektrostatische Abstoßung reduziert und daher die mehrkernigen Cu-Komplexe stabilisiert. Die Cu-Komplexbildungskonstanten der Anionen in wässriger

Lösung sind dabei sehr unterschiedlich und steigen in der Reihenfolge $K(OAc^-) > K(Cl^-) > K(NO_3^-)$.

5.4.3.2 Trikupferkomplexe von $[(L^3-3H)Co]$

5.4.3.2.1 Vorversuche

Bislang konnte gezeigt werden, dass die Art des in der Lösung vorliegenden Komplexes stark vom Lösungsmittel und der Gegenwart anionischer Coliganden abhängig ist.

Um die Bildung eines Trikupferkomplexes zu forcieren, wurde der Kobaltkomplex bei Anwesenheit einer ganzen Reihe von di- und trifunktionellen Coliganden verschiedenster Art mit $Cu(NO_3)_2$ versetzt. Verwendung fanden dabei u.a. 1,3-Propandiamin, Bipyridin, Oxalsäure, Acetylaceton, Benzoltricarbonsäure, Barbitursäure, Phosphorsäure, Methylphosphonsäure und 1-Aminopropyl-1-phosphonsäure. Diese übten entweder keinen stabilisierenden Effekt auf die Bildung eines Komplexes mit drei Kupferionen aus, oder sie komplexierten selber in einer Konkurrenzreaktion die in Lösung vorhandenen Kupferionen. Stabilisierend wirkten dagegen, wie im folgenden ausgeführt, verschiedene Aminosäuren.

5.4.3.2.2 UV/Vis-spektroskopische Titration von Aminosäuren zu einer $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$ -Lösung

Aus Überlegungen am Modell ergab sich, dass für eine Stabilisierung mehrkerniger Cu^{II} -Komplexe von $[(L^3-3H)Co]$ ein Ligand besonders günstig sein sollte, der eine Verbrückung zwischen den Kupferionen herstellen kann.

Hierfür wurden Aminosäuren verwendet, da diese mit vielen verschiedenen Seitenketten kommerziell erhältlich sind. Außerdem sind im Unterschied zu den oben erwähnten, ineffektiven Coliganden durch die teilweise funktionalisierten Seitenketten leicht unterschiedliche Abstände der koordinierenden Donorgruppen zu realisieren. Aufgrund der Säurefunktion der Aminosäuren muss bei der Titration mindestens ein Äquivalent Base zugegeben werden. Verwendung fand hier das schon vorher benutzte Triethylamin. Für folgende Titrations wurden $[(L^3-3H)Co]$ und 4 Äquivalente $Cu(NO_3)_2$ in Chloroform:Methanol 1:9 vorgelegt. Nach einer Stunde wurden die einzeln hergestellten Lösungen einrotiert, um das Chloroform aus dem Lösungsmittelgemisch zu entfernen. Der

entstandene Feststoff wurde in reinem Methanol wieder aufgenommen und dann die Aminosäure zutitriert. Diese Vorgehensweise der getrennten *in situ* Herstellung der einzelnen Metallkomplex-Lösungen und der Schritt des Einrotierens bedingt die unterschiedlichen Anfangsabsorptionen „identischer“ Lösungen in Abb. 5.11.

Tab. 5.2: Zusammenstellung von verschiedenen Aminosäuren und ihrem Einfluss auf die Stabilität von $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$

Aminosäure	Effekt
L-Alanin	stabilisierend
D,L-Alanin	leicht stabilisierend
β -Alanin	nicht stabilisierend
L-Phenylalanin	nicht stabilisierend
D,L-Phenylalanin	nicht stabilisierend
L-Leucin	leicht stabilisierend
L-Lysin	Stabilisierend
L-Methionin	leicht stabilisierend, fällt dann aber aus
L-Glutaminsäure-5-methylester	nicht stabilisierend

Bei L-Alanin (s. Abb. 5.11) kommt es nach der Zugabe von vier Äquivalenten zu einem deutlichen Extinktionsanstieg. Während der Zugabe der ersten beiden Äquivalente lässt sich nur ein ganz geringer, allmählich beginnender Kurvenanstieg feststellen. Das lässt darauf schließen, dass zunächst die beiden freien Cu(II)-Ionen (wenn man in der Anfangslösung davon ausgeht, dass

sich nur der Dikupferkomplex $[(L^3-3H)CoCu_2]^{4+}$ gebildet hat) an das Alanin koordinieren und mit ihm einen 1:1-Komplex bilden. Danach lässt sich über zwei weitere Äquivalente eine deutliche Extinktionszunahme um 0.3 feststellen, die darauf hinweist, dass sich ein weiteres Cu(II) an den $[(L^3-3H)CoCu_2]^{4+}$ -Komplex anlagert. Somit wird ein Komplex mit drei Äquivalenten Cu(II) gebildet und stabilisiert.

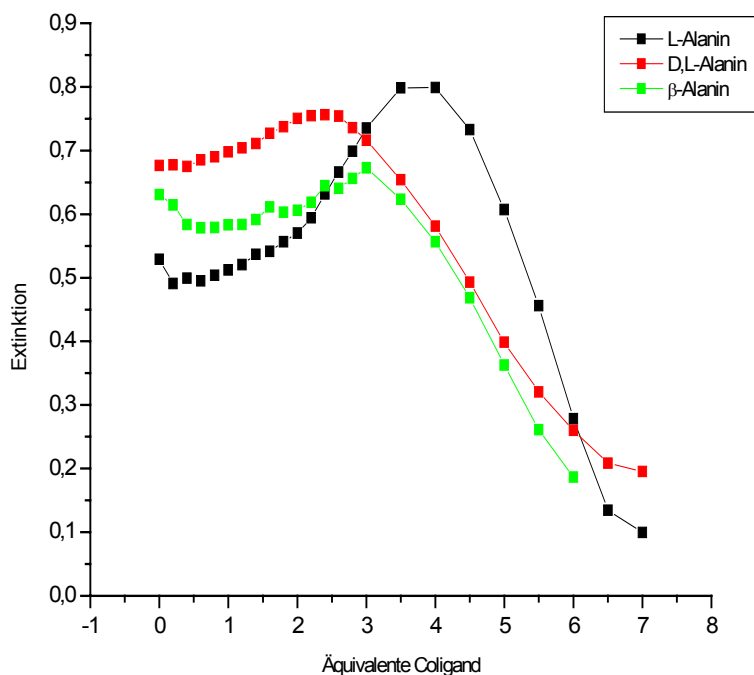


Abb. 5.11: Zunahme der Extinktion bei 454 nm bei einer spektrophotometrischen Titration von $[(L^3-3H)Co]$ ($1 \cdot 10^{-4}$ M) + 4 eq Cu(II) mit Aminosäuren in MeOH, 1 eq TEA (bezogen auf die jeweilige Aminosäurezugabe)

Obwohl Alanin nicht in der Lage ist, einen Komplex durch Verbrückung zu stabilisieren, werden bei seiner Anwesenheit dennoch drei Äquivalente Kupfer koordiniert. Der stabilisierende Effekt des Alanins beruht offenbar auf einer Kompensation der elektrostatischen Abstoßung der Cu(II)-Ionen in Verbindung mit einer sterischen „Kompatibilität“, wie aus Betrachtungen an Molekülmodellen ersichtlich ist

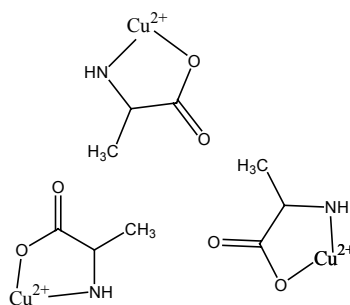


Abb. 5.12: schematische Darstellung der Koordination des Alanins am Cu(II) im $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$

Der Kurvenabfall (s. Abb. 5.11) über drei weitere Äquivalente deutet darauf hin, dass das Alanin nun einen 2:1 Komplex mit Kupfer bildet und so das Cu(II) aus dem $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$ wieder herauslöst.

Durch einen ersten isosbestischen Punkt bei 356 nm verlaufen alle Kurven der Titration, ein zweiter bei 399 nm dagegen entsteht erst bei der Gleichgewichtsverschiebung zum $[(L^3-3H)Co]$ -Komplex mit 3.5 Äquivalenten Alanin. Dies deutet darauf hin, dass die Bildung des $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$ mit drei Äquivalenten Cu(II) kein linearer Prozess ist, sondern dass hierbei mehrere Prozesse nebeneinander ablaufen.

Da das Maximum bei vier zugegebenen Äquivalenten Alanin zu sehen ist, scheint sich der $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$ -Komplex mit drei Äquivalenten Cu(II) zu bilden. Ein Äquivalent Alanin wird benötigt, um das freie, vierte Äquivalent Cu(II) zu koordinieren. Erst danach liegt Alanin im Überschuss vor und bildet einen 1:2 Komplex mit zwei Äquivalenten Alanin und einem Äquivalent Cu(II). Dadurch wird das Cu(II) aus dem $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$ wieder entfernt.

Interessanterweise stabilisiert das racemische D,L-Alanin den vierkernigen Komplex weniger gut. Offenbar ist $[(L^3-3H)Co^{III}] (L-Ala-Cu^{II})_3$ stabiler als das zwangsläufig entstehende $[(L^3-3H)Co] (L-Ala-Cu^{II})_n(D-Ala-Cu^{II})_n$ ($m,n = 1,2$).

Da mit Alanin eine Stabilisierung festzustellen war, wurde dieselbe Titration mit Phenylalanin durchgeführt, um die mögliche sterische Hinderung durch den großen Rest des Phenylalanins zu untersuchen.

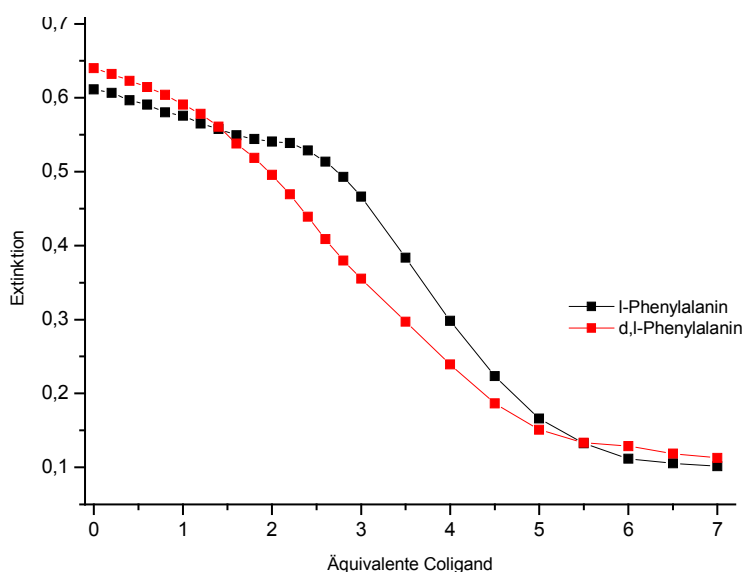


Abb. 5.13: Änderung der Extinktion bei 454 nm bei einer spektrophotometrischen Titration von $[(L^3-3H)Co]$ ($1 \cdot 10^{-4}$ M) und 4 eq Cu(II) mit Aminosäuren in MeOH, 1 eq TEA (bezogen auf die jeweilige Aminosäurezugabe)

Phenylalanin zeigt im Gegensatz zu Alanin keine stabilisierende Wirkung. Es koordiniert zunächst an das freie Cu(II). Bei einem Überschuss des Coliganden wird aber auch das Cu(II) aus dem $[(L^3-3H)CoCu_2]^{4+}$ -Komplex herausgelöst.

Der Phenylrest dieser Aminosäure ist offensichtlich zu voluminös und eignet sich aus sterischem Grund nicht, um eine stabilisierende Funktion zu übernehmen.

Bei der Titration mit Lysin (s. Abb. 5.14) kommt es bereits bei einer Zugabe von 1-3 Äquivalenten Lysin zu einer Extinktionserhöhung.

Auch hier wird bei einem Überschuss an Lysin das Cu(II) aus dem $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$ entfernt. Bei Lysin werden zur Stabilisierung scheinbar nur zwei Äquivalente benötigt. Das liegt möglicherweise daran, dass Lysin mit seiner zusätzlichen Aminogruppe zwischen zwei Kupferionen verbrückend wirken kann. Durch zwei Äquivalente Lysin kann auch das dritte

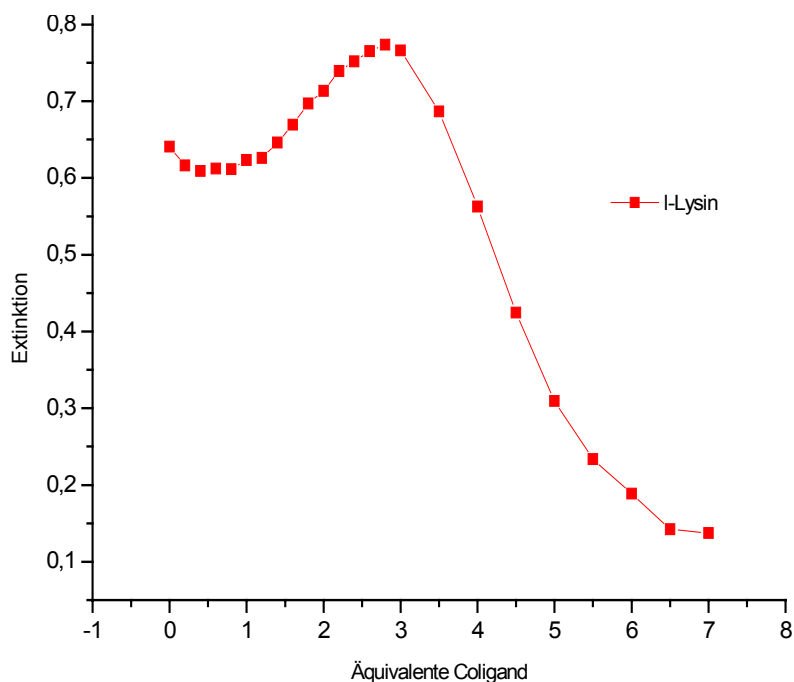


Abb. 5.14: Zunahme der Extinktion bei 454 nm bei einer spektrophotometrischen Titration von $[(L^3-3H)Co]$ ($1 \cdot 10^{-4}$ M) und 4 Äquivalenten Cu(II) mit Lysin in MeOH, 1 eq TEA (bezogen auf die jeweilige Aminosäurezugabe)

Cu(II) koordiniert werden, da jeweils eine freie Aminogruppe vorhanden ist. Mit zwei Äquivalenten sind zwei Cu(II) von der Aminosäuregruppe zweifach gebunden, das dritte Cu(II) hingegen wird von den beiden freien Aminogruppen stabilisiert (s. Abb. 5.15).

Diese Möglichkeit ergibt sich auch aus der nahezu idealen Größe des Lysins, um den geschätzten Cu-Cu-Abstand von 7 Å zu überbrücken.

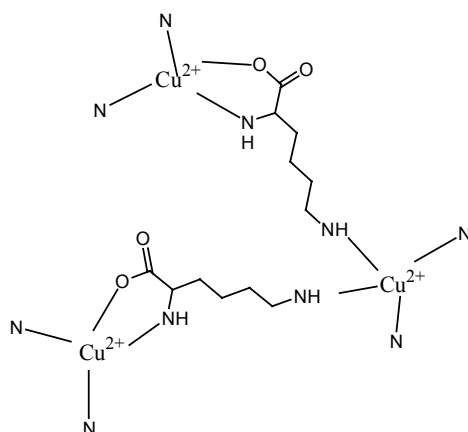


Abb. 5.15: schematische Darstellung der verbrückenden Koordination von 2 Äquivalenten Lysin an $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$.

Um die gemessenen Effekte der Stabilisierung durch Coliganden zu verifizieren, wurden die Titrations mit L-Alanin und mit L-Lysin so wiederholt, dass diesmal $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$ nicht mit vier, sondern nur mit drei Äquivalenten Cu(II) hergestellt wurde. Bei diesen Spektren sollte dann die Extinktion früher ansteigen, da kein viertes, freies Cu(II) mehr vorliegt.

Wie zu erwarten, erfolgt bei der Zugabe von Lysin eine sofortige Extinktionszunahme um 0.15 bei 454 nm bis zwei Äquivalente zugegeben sind, anschließend folgt der Kurvenabfall.

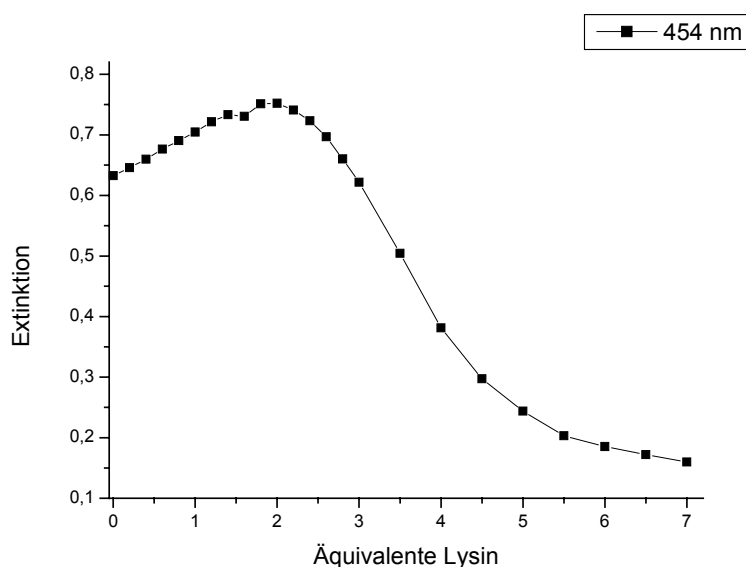


Abb. 5.16: Zunahme der Extinktion bei 454 nm bei einer spektrophotometrischen Titration von $[(L^3-3H)Co]$ ($1 \cdot 10^{-4}$ M) und 3 eq Cu(II) mit Lysin in MeOH, 1 eq TEA (bezogen auf die jeweilige Aminosäuren-zugabe)

Bei Alanin beginnt die Extinktionserhöhung nach Zugabe von ca. 0.5 Äquivalenten und hat ein Maximum bei drei Äquivalenten. Der Extinktionsabfall, also die Verschiebung zum $[(L^3-3H)Co]$ erfolgt danach.

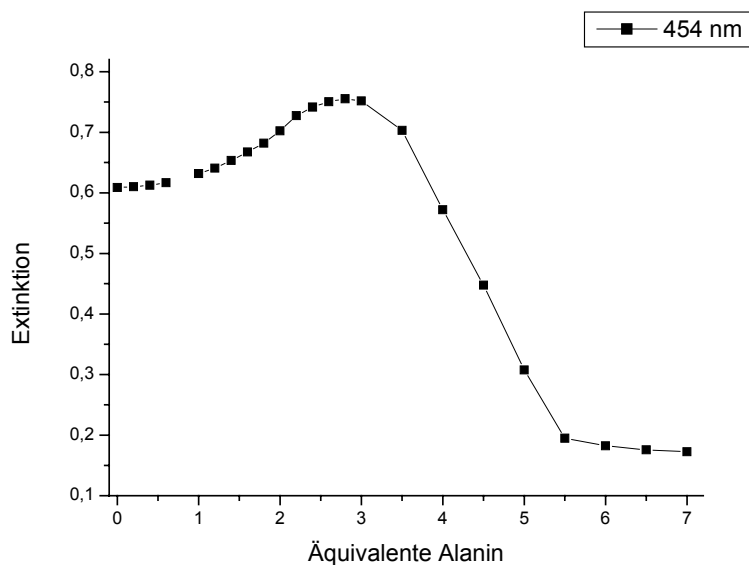


Abb. 5.17: Zunahme der Extinktion bei 454 nm bei einer spektrophotometrischen Titration von $[(L^3-3H)Co]$ ($1 \cdot 10^{-4}$ M) und 3 eq Cu(II) mit Alanin in MeOH, 1 eq TEA (bezogen auf die jeweilige Aminosäurezugabe)

Diese Untersuchungen bestätigen, dass drei Äquivalente Alanin, oder zwei Äquivalente Lysin den Komplex $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$ stabilisieren.

5.4.3.2.3 Titrationsen von $[(L^3-3H)Co]$ mit Cu-Komplexen von Lysin

Um die Interpretation der stabilisierenden Wirkung von Lysin zu untermauern, wurde ein weiteres Experiment durchgeführt und zum Co-Komplex von L^3 ein Kupferkomplex von Lysin zutitriert.

Dabei wurde folgendermaßen vorgegangen: $[(L^3-3H)Co]$ in $CHCl_3:CH_3OH$ 1:9 mit einer Konzentration von 10^{-4} mol/l wurde vorgelegt, dazu wurde entweder nur Cu:Lysin 1:1 oder Cu:Lysin 1:1 mit zusätzlichen 0.5 Äquivalenten $Cu(NO_3)_2$ im Verhältnis zur Aminosäure zutitriert.

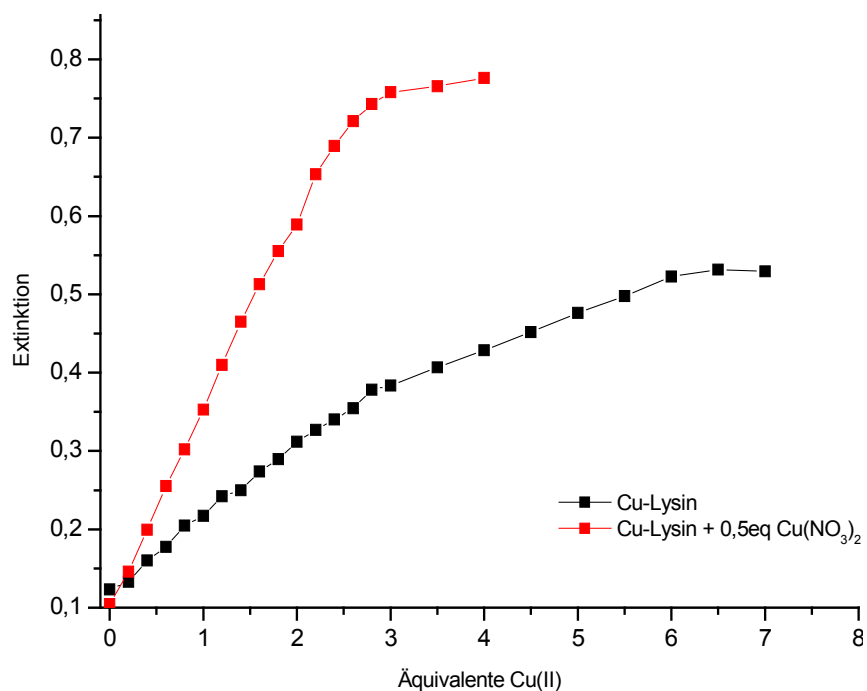


Abb. 5.18: Zunahme der Extinktion bei 454 nm bei einer spektrophotometrischen Titration von $[(L^3-3H)Co]$ ($1 \cdot 10^{-4}$ M) mit Lysin:Cu-Komplexen unterschiedlichen Kupfergehaltes in MeOH:CHCl₃ 9:1, 1 eq TEA (bezogen auf die Menge Aminosäure)

Die Koordination von Cu:Lysin 1:1 allein resultiert nicht in der vollständigen Bildung von $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$, wie aus dem vergleichsweise geringen Extinktionsanstieg ersichtlich ist. Ein Komplex $[(L^3-3H)Co](Lys-Cu)_3$ ist offenbar aufgrund sterischer Wechselwirkung der Lys-Seitenketten nicht sehr stabil.

Bei der Titration mit einem Cu:Lysin 1:1 Gemisch, das zusätzlich noch ein halbes Äquivalent Cu(II) enthält, bildet sich aber wieder der gewünschte $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$. Hier beträgt das Verhältnis Cu zu Lysin wieder 3:2, wie es für die postulierte verbrückende Koordination im dreikernigen Kupferkomplex ideal ist.

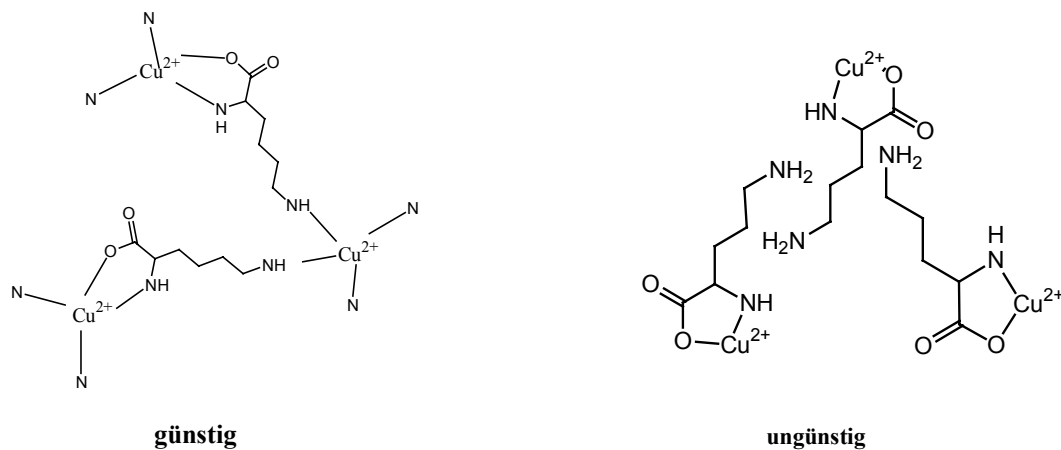


Abb. 5.19: Schematische Gegenüberstellung der intramolekularen Verbrückung von drei Kupferzentren mit zwei eq Lysin im Gegensatz zur Koordination von 3 eq Lysin

5.4.3.2.4 Titrations von $[(L^3-3H)Co]$ und Aminosäuren mit $Cu(NO_3)_2$

Die Aminosäuren, die nach den bisherigen Ergebnissen die Bildung von $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$ mit drei Äquivalenten $Cu(II)$ stabilisieren, wurden zur Überprüfung der Ergebnisse zusammen mit $[(L^3-3H)Co]$ vorgelegt und die Lösungen mit $Cu(NO_3)_2$ titriert.

Auch hier betrug die Konzentration an $[(L^3-3H)Co]$ 10^{-4} mol/l. Es wurden zwei oder drei Äquivalente der jeweiligen Aminosäure vorgelegt. Diese Menge wurde entsprechend der maximalen Extinktion der vorhergegangenen Titrationsen gewählt.

Tabelle 5.3: Titrations von $[(L^3-3H)Co]$ und verschiedenen Äquivalenten Aminosäure mit $Cu(NO_3)_2$

Amino-säure	Äquivalente	TEA	λ_{max}	Cu(II)- Äquivalente
L-Alanin	2	2eq	421nm	bis 1eq kein Anstieg, dann über knapp 1,5eq Anstieg um 0,52
L-Alanin	3	3eq	430nm	2eq kein Anstieg, dann Anstieg über weitere 2eq um 0,54
L-Lysin	2	2eq	419nm	bis 1eq kein Anstieg, dann über 2eq Anstieg um 0,55
L-Lysin	3	3eq	422nm	1,5eq kein Anstieg, anschließender Anstieg über 3eq um 0,65

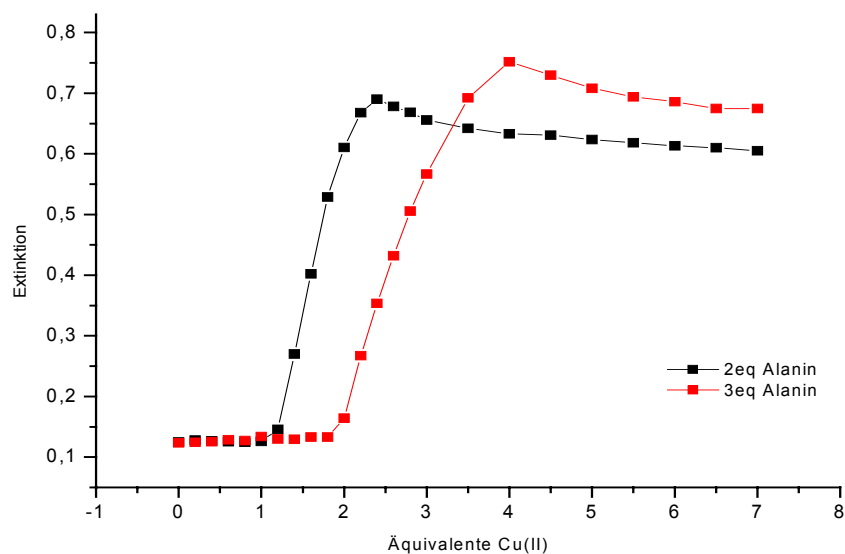


Abb. 5.20: Zunahme der Extinktion bei 454 nm bei einer spektrophotometrischen Titration von $[(L^3-3H)Co]$ ($1 \cdot 10^{-4}$ M) und Alanin mit $Cu(NO_3)_2$ in $MeOH:CHCl_3$ 9:1, 1 eq TEA (bezogen auf die Menge Aminosäure)

Das Spektrum der Titration von $[(L^3-3H)Co]$ und zwei Äquivalenten Alanin mit $Cu(II)$ lässt sich so verstehen, dass sich zunächst im Bereich von 0-1 Äquivalent Kupfer ein Alanin: $Cu(II)$ -Komplex im Verhältnis 2:1 bildet. Durch weitere Zugabe von $Cu(II)$ (1-2 Äquivalente) kann sich der 1:1-Komplex bilden, der an $[(L^3-3H)Co]$ koordiniert.

Der Extinktionsanstieg ist zwischen einem bis etwas mehr als zwei Äquivalente $Cu(II)$ auffällig stark, was sich darin begründet, dass in diesem Bereich mit jedem $Cu(II)$ zwei Cu -Alanin-Komplexe gebildet (Spaltung der zuvor gebildeten Cu :Alanin 1:2 Komplexe) werden und an $[(L^3-3H)Co]$ koordinieren. Danach hört die Extinktionszunahme abrupt auf.

Dies zeigt, dass kein drittes $Cu(II)$ -Ion in den Komplex $[(L^3-3H)Co^{III}](Ala-Cu^{II})_2$ aufgenommen wird.

Werden dagegen drei Äquivalente Alanin vorgelegt, so kommt es im Bereich 0-1.75 Äquivalente $Cu(II)$ zu keiner Extinktionsänderung. Auch hier bildet sich zunächst der Komplex mit zwei Alanin und einem $Cu(II)$, der ab 1.5 Äquivalenten $Cu(II)$ -Zugabe langsam zum 1:1 Komplex aufgespalten wird. Nun folgt ein größerer Extinktionsanstieg bis insgesamt vier Äquivalenten $Cu(II)$. Damit koordinieren drei Äquivalente Kupfer zum $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$ -Komplex.

Die Verschiebung des Spektrums um 1 Äquivalent $Cu(II)$ nach rechts erklärt sich aus dem Überschuss $Cu(II)$, der benötigt wird, um den Cu -Alanin-Komplex aufzubrechen. Durch das dritte Äquivalent Alanin werden 0.5 Äquivalente mehr $Cu(II)$ benötigt, um den 2:1-Komplex zu bilden und darüber hinaus 0.5 Äquivalente $Cu(II)$ mehr, um diesen wieder aufzuspalten.

Die Titration von $[(L^3-3H)Co]$ und zwei Äquivalenten Lysin mit $Cu(NO_3)_2$ lässt (s. Abb. 5.21) sich ebenfalls mit der Bildung eines 2:1-Komplexes mit zwei Äquivalenten Lysin und einem Äquivalent $Cu(II)$ zu Beginn der Titration erklären. Ab der Zugabe von 1 Äquivalent $Cu(II)$ bildet sich der 1:1-Komplex, der an $[(L^3-3H)Co]$ koordiniert und somit eine starke Extinktionszunahme verursacht.

Der erstreckt sich im Gegensatz zur Beobachtung mit Alanin über den Bereich von 1-3 Äquivalenten $Cu(II)$. Dies bestätigt die Bildung eines $[(L^3-3H)CoCu_3Lys_2]$ -Komplexes.

Der relativ deutliche Abfall der Extinktion > 4 Äquivalenten $Cu(II)$ kann mit einer Konkurrenz der $Cu(II)$ um die Bindungsstellen am Lysin erklärt werden, wodurch die Stabilisierung der drei Äquivalente $Cu(II)$ durch zwei Äquivalente Lysin gestört werden könnte.

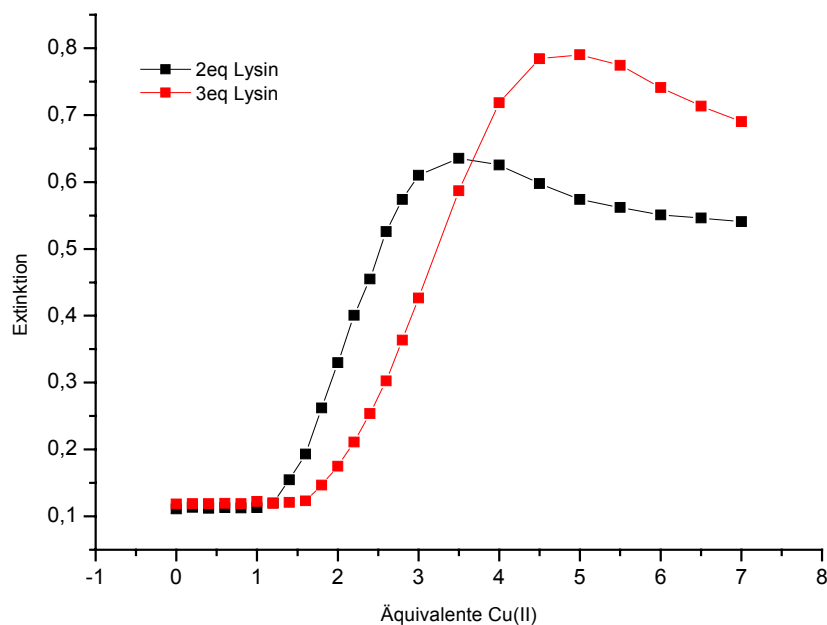


Abb. 5.21: Zunahme der Extinktion bei 454 nm bei einer spektrophotometrischen Titration von $[(L^3-3H)Co]$ ($1 \cdot 10^{-4}$ M) und Lysin mit $Cu(NO_3)_2$ in MeOH:CHCl₃ 9:1, 1 eq TEA (bezogen auf Menge der Aminosäure)

Werden nun drei Äquivalente Lysin vorgelegt, so kommt es die ersten 1.5 Äquivalente zu keiner Extinktionsänderung. Danach steigt die Extinktion um 0.67 über drei weitere Äquivalente Cu(II) an.

Auch hier muss sich zunächst ein 1:1 Cu-Lysin-Komplex bilden, der an $[(L^3-3H)Co]$ koordinieren kann. Wird nun zum 2:1 Lysin-Cu-Komplex ein weiteres Äquivalent Cu(II) zugegeben, so werden sich zwei Äquivalente des 1:1 Cu-Lysin-Komplexes an $[(L^3-3H)Co]$ anlagern. Bei der nun folgenden Cu(II)-Zugabe kann das Cu(II) entweder als drittes Cu(II) an $[(L^3-3H)CoCu_2]^{4+}$ koordinieren oder mit dem in Lösung verbliebenen Lysin einen 1:1 Komplex bilden. Beide Prozesse laufen gleichzeitig ab und sind daher in der Reaktion nicht zu unterscheiden.

Es werden also noch zwei weitere Äquivalente Cu(II) benötigt, damit sowohl der dreikernige $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$ -Komplex gebildet wurde als auch der 1:1 Komplex des Cu-Lysins mit dem freien Äquivalent Lysin, das nicht zur Stabilisierung benötigt wird.

Insgesamt werden also vier Äquivalente Cu(II) benötigt, um den gewünschten Komplex zu bilden. Dies konnte mit der durchgeführten Titration bestätigt werden.

Deutlich wird auch, dass zur vollständigen Bildung des Komplexes $[(L^3-3H)CoCu_3Lys_2]$ ein Überschuss von Lysin nötig ist, in Verbindung mit einem 1.5-fachen Cu-Überschuss relativ zum Lysin. Dies bestätigt die Ergebnisse von S. 63.

5.4.3.3 Charakterisierung von $[(L^3-3H)CoLys_2Cu_3]^{4+}$

Wie oben aufgeführt, konnte bei den UV/VIS-Titrations gezeigt werden, dass $[(L^3-3H)Co]$ drei Äquivalente Cu(II) koordiniert, wenn diese durch bestimmte Coliganden stabilisiert werden. Als besonders geeignet zur Komplexstabilisierung stellte sich, wie gesehen, Lysin heraus.

Der vierkernige Komplex mit Lysin-Coliganden sollte nun noch mit verschiedenen anderen Methoden nachgewiesen werden.

5.4.3.3.1 Electrospray-Ionisation-Massenspektrometrie (ESI-MS)

Es wurden Lösungen in Methanol:Chloroform 9:1 hergestellt die a) $[(L^3-3H)Co]$ (10^{-4} M), Cu(II) ($3 \cdot 10^{-4}$ M), TEA ($2 \cdot 10^{-4}$ M) und b) $[(L^3-3H)Co]$ (10^{-4} M), Cu(II) ($3 \cdot 10^{-4}$ M), Lysin ($2 \cdot 10^{-4}$ M), TEA ($2 \cdot 10^{-4}$ M) enthielten.

Tabelle 5.4: Intensitäten der Peaks von $[(L^3-3H)CoCu_x]$ und seinen Komplexen mit 2 eq Lysin

	a) $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$	b) $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+} + 2eqLysin$
$[(L^3-3H)Co]$	15%	5%
$[(L^3-3H)CoCu]^{2+}$	100%	100%
$[(L^3-3H)CoCu_2]^{4+}$	18%	39%
$[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$	< 3%	4%

In beiden Spektren sieht man $[(L^3-3H)Co]$ bei $m/z = 723$, den $[(L^3-3H)CoCu]^{2+}$ -Komplex als Basissignal bei $m/z = 785$. $[(L^3-3H)Co]$ hat nur eine Intensität zwischen 10-15%. Auch der $[(L^3-3H)CoCu_2]^{4+}$ -Komplex mit zwei Cu(II) ist in beiden Spektren noch sehr intensiv bei $m/z = 848$. Die Isotopenverteilung stimmt hier mit der Berechneten überein

Diese Ergebnisse sprechen dafür, dass sich unter den ESI-MS-Bedingungen $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$ bildet, aber nicht besonders stabil ist.

Dass tatsächlich auch Lysin koordiniert wird, ist an einem schwachen Signal bei $m/z=993$ zu sehen, der einem Komplex $[(L^3-3H)CoLys_2Cu_2]^{2+}$ zugeordnet werden kann.

Bei $m/z = 1058$ findet sich auch mit geringer Intensität ein Komplex mit drei Cu(II) und einem Lysin.

5.4.3.3.2 Elektronenspinresonanz ESR-Spektrum von $[(L^3-3H)CoCu_2]^{4+}$

Für diese ESR-Messung wurde $[(L^3-3H)Co]$ in Chloroform mit drei Äquivalenten Cu(II)-Perchlorat in Methanol umgesetzt und bis zur Trockene eingengt. Der Feststoff wurde zur Entfernung von noch freiem Cu(II) mit Essigester gewaschen.

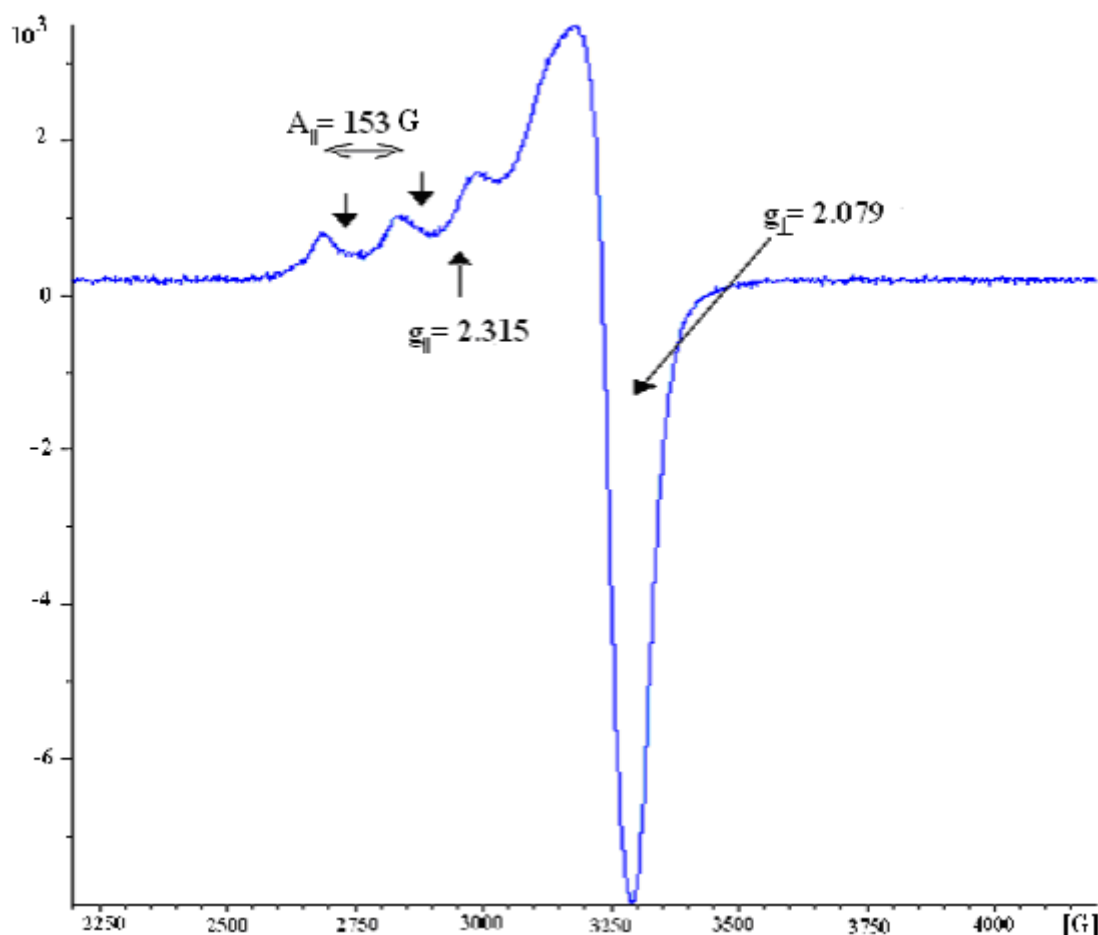


Abb. 5.22: ESR-Spektrum von $[(L^3-3H)CoCu_2]^{4+}$ in gefrorenem DMSO

Das Ergebnis lässt sich bei einem Vergleich zu anderen Literaturergebnissen folgendermaßen interpretieren: Die Werte für $g_{||}$ bei 2.315 und $A_{||} = 153 \text{ G}$ ($= 16.54 \text{ mK}$) sind der Koordination von Cu(II) an Bipyridin und zwei Sauerstoffen sehr nahe. Hiefür sind $g_{||} = 2.309$ und $A_{||} = 16.4 \text{ mK}$.⁽²⁹⁾

Als O-Donoren kommen entweder das Solvens oder das Perchlorat-Anion in Frage.

5.4.3.3 Elektronenspinresonanz ESR-Spektrum von $[(L^3-3H)CoLys_2Cu_3]^{4+}$

Für diese ESR-Messung wurde $[(L^3-3H)Co]$ in Chloroform mit drei Äquivalenten Cu(II)-Perchlorat und zwei Äquivalenten Lysin in Methanol umgesetzt und bis zur Trockene eingengt. Der Feststoff wurde zur Entfernung von noch freiem Cu(II) mit Essigester gewaschen.

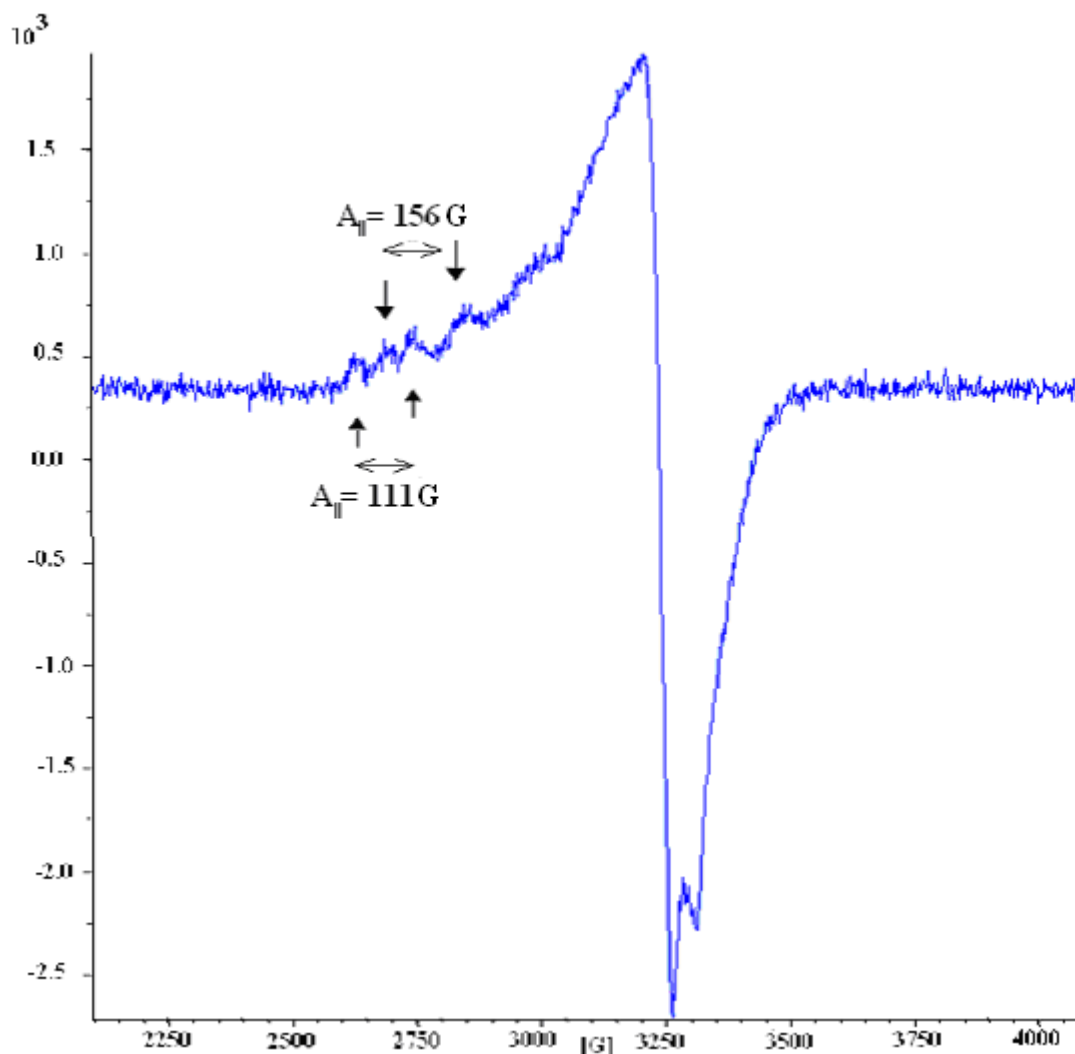


Abb. 5.23: ESR-Spektrum in gefrorenem DMSO von $[(L^3-3H)CoLys_2Cu_3]^{4+}$

Bei diesem komplizierten und schlecht aufgelösten Spektrum konnte kein $g_{||}$ bestimmt werden.

Es ist aber deutlich zu sehen, dass es im Komplex mindestens zwei verschiedene Cu-Zentren gibt. Dies steht mit der Annahme im Einklang, dass Lysin mit der freien Aminogruppe am dritten Cu(II) koordiniert und somit verbrückend wirkt. Durch eine solche Verbrückung ergibt sich zwangsläufig die Verschiedenartigkeit der Cu-Zentren.

6. Funktionelle Untersuchungen

6.1 Allgemeines zur Hydrolyse von aktivierten Phosphodiestern

6.1.1 2-Hydroxypropyl-*p*-Nitrophenylphosphat (HPNP) als Substrat

Nichtaktivierte Phosphodiester wie Dimethylphosphat sind gegenüber der hydrolytischen Spaltung sehr stabil. Für ihre Hydrolyse liegen deshalb nur wenige Beispiele vor, wie z.B. die Hydrolyse durch Cobalt(III)^[53], Cer(IV)^[54-56] und Zirkonium(IV)^[54]. Das erste Beispiel für eine erfolgreiche Umesterung von Dimethylphosphat wurde erst kürzlich beschrieben^[57]. Deshalb werden zur kinetischen Untersuchung der Hydrolysereaktion aktivierte Phosphodiester eingesetzt, die über eine gute Abgangsgruppe verfügen.

Es liegen zahlreiche Untersuchungen zur Hydrolyse des aktivierten Phosphodiesters 2-Hydroxypropyl-*p*-Nitrophenylphosphat (HPNP) durch Metallkomplexe vor^[58-60], da sich die Reaktion leicht durch UV/VIS-Spektroskopie verfolgen lässt. HPNP dient hierbei als Modellsubstanz für die Phosphodiester-Gruppe der RNA.

Die 2-Hydroxygruppe des HPNP entspricht der 2'-OH-Gruppe im Ribosering des RNA-Rückgrats. Diese OH-Gruppe kann intramolekular am Phosphat angreifen und die Umesterung zu einem cyclischen Phosphodiester bewirken, der in einem zweiten Schritt der Reaktion hydrolytisch zum Monoester gespalten werden kann^[61].

Durch diesen Mechanismus erklärt man sich die weit höhere Geschwindigkeit der RNA-Hydrolyse gegenüber der Spaltung der DNA, bei der die 2'-OH-Gruppe der Ribose fehlt.

HPNP wird nach einer Literaturvorschrift durch die Umsetzung von *p*-Nitrophenylphosphat mit einem Überschuss an Propylenoxid hergestellt. Das Produkt wird anschließend als Bariumsalz gefällt^[62,63].

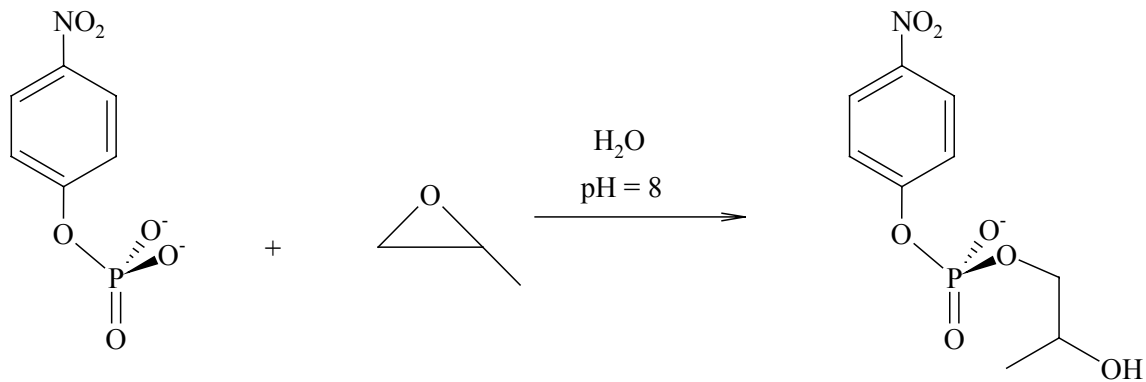
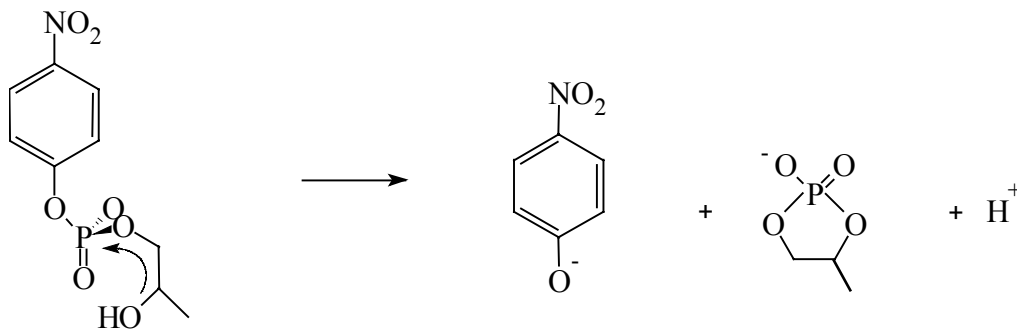


Abb. 6.1: Darstellung von HPNP

Nach dem oben genannten Umesterungsmechanismus für die RNA wird auch das Modells substrat HPNP gespalten. Hierbei dient die 2-Hydroxygruppe als Nucleophil. Unter Abspaltung von *p*-Nitrophenol bildet sich ein cyclischer Phosphodiester ^[64].

Abb. 6.2: Spaltung von HPNP ^[84,85]

Der intramolekulare Angriff der 2'-Hydroxygruppe erfolgt schneller als der intermolekulare Angriff eines Hydroxid-Nucleophils.

Die Geschwindigkeit der unkatalysierten Spaltung von HPNP ist stark pH-abhängig. Bei pH-Werten < 7.5 läuft die Hydrolyse nur sehr langsam ab. Mit steigendem pH-Wert nimmt die Reaktionsgeschwindigkeit deutlich zu ^[63]. Ursache hierfür ist die zunehmende Deprotonierung der 2-Hydroxygruppe. Die Alkoholat-Gruppe ist ein viel stärkeres Nucleophil als die Alkohol-Gruppe.

In wässrigen Lösungen liegen das entstehende *p*-Nitrophenol und *p*-Nitrophenolat (NPat) in einem pH-abhängigen Gleichgewicht nebeneinander vor (Abb. 6.3). Mit zunehmendem pH-Wert wird dieses Gleichgewicht immer mehr auf die Seite des *p*-Nitrophenolats verschoben.

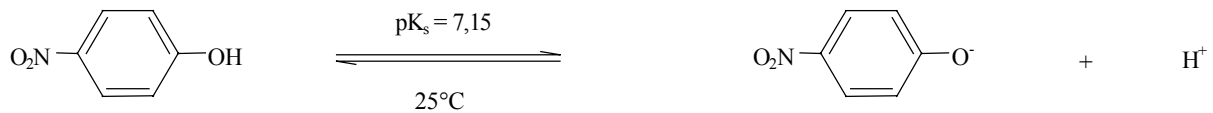


Abb. 6.3 : pH-abhängiges Gleichgewicht zwischen NP und NPat

Die Zunahme der Konzentration an *p*-Nitrophenol kann über UV-Messungen bei $\lambda_{\text{max}} = 320$ nm ermittelt werden. Der Extinktionskoeffizient $\epsilon_{320\text{nm}}$ beträgt $10000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. In alkalischen Lösungen wird die Hydrolysegeschwindigkeit über die Freisetzung von *p*-Nitrophenolat bestimmt, welches bei $\lambda_{\text{max}} = 405$ nm absorbiert ($\epsilon_{405\text{nm}} = 19500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

6.1.2 Kinetische Analyse der Hydrolysereaktion

Die pH-Abhängigkeit des Gleichgewichts zwischen *p*-Nitrophenol und -phenolat kann durch die Henderson-Hasselbach-Gleichung beschrieben werden (1). Mit Hilfe dieser Beziehung lässt sich das Verhältnis von NP und NPat und damit die Gesamtkonzentration des Hydrolyseprodukts berechnen.

$$-\text{pH} = \text{pK}_s + \log \frac{c(\text{NPat})}{c(\text{NP})} \quad (1)$$

Die UV-Messungen dieser Arbeit wurden, so weit nicht anders angegeben, in neutralen bis leicht sauren Lösungen (pH 6.7 – 7.0) durchgeführt. Es wurde nur die Absorption des *p*-Nitrophenolats bei 400 nm für die Auswertung berücksichtigt, da der Ligand selbst bei kleineren Wellenlängen eine zu starke Eigenabsorption besitzt.

Die jeweilige Konzentration von *p*-Nitrophenol bzw. von *p*-Nitrophenolat erhält man über die durch UV-Spektroskopie ermittelten Werte für die Extinktion. Den Zusammenhang zwischen der Extinktion *E* und der Konzentration *c* stellt das Lambert-Beer'sche Gesetz (2) her.

$$E = \epsilon_\lambda * c * d \quad d = \text{Schichtdicke} \quad (2)$$

Die Reaktion wird nach einem Geschwindigkeitsgesetz pseudo-erster Ordnung (3) behandelt. Da die Komplexkonzentration über die Reaktionsdauer hinweg als konstant angesehen werden kann, ist es möglich, diese Konzentration in die Geschwindigkeitskonstante einzubeziehen.

$$- \frac{d[\text{HPNP}]}{dt} = \frac{d[\text{NP}]_{\text{ges}}}{dt} = k [\text{L}] [\text{HPNP}] = k_{\text{obs}} [\text{HPNP}] \quad \text{L = Ligandkomplex} \quad (3)$$

Es werden nur die Anfangsgeschwindigkeiten bei einem Umsatz < 10 % zur Auswertung herangezogen, daher wird die Konzentration von HPNP als annähernd konstant betrachtet. In diesem Fall gilt:

$$k_{\text{obs}} = \frac{d[\text{NP}]_{\text{ges}}}{[\text{HPNP}]_0 dt} \quad \text{bzw.} \quad k_{\text{obs}} dt = \frac{d[\text{NP}]_{\text{ges}}}{[\text{HPNP}]_0} \quad (4)$$

6.2 Hydrolyse von HPNP unter Verwendung der Metallkomplexe von L^1 und L^3

6.2.1. Kinetische Analyse der Hydrolysereaktion von HPNP unter Verwendung von $[(\text{L}^1\text{-2H})\text{Cu}_3]^{4+}$

Zur *in situ* Darstellung des Metallkomplexes wurde der in DMSO gelöste Ligand mit einer entsprechenden Menge an $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ versetzt, und nach einer Wartezeit von 15 Minuten wurden 100 eq MOPS-Puffer (pH 7.0) zugegeben. Danach betrug das Verhältnis DMSO:Wasser 1:1. Nach erneutem 15-minütigem Warten wurde die Lösung auf die Konzentrationen und Lösungsmittelverhältnisse der Messung verdünnt (10^{-4} M, DMSO:Wasser 1:3) und 5 Äquivalente HPNP zugegeben. Danach wurde die UV/Vis-spektroskopische Messung gestartet.

Das Ergebnis dieser Messungen zeigte, dass unter diesen Bedingungen die katalytische Aktivität der Komplexlösung bei der Umesterung von HPNP nur im Bereich der Aktivität von freien Kupferionen liegt ($k_{\text{obs}} = 2 \cdot 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ pro Äquivalent Cu^{2+}).

6.2.2. Kinetische Analyse der Hydrolysereaktion von HPNP unter Verwendung von $[(L^3-2H)Cu_4]^{6+}$

6.2.2.1 Abhängigkeit der Spaltungsgeschwindigkeit von der eingesetzten Kupfermenge

In einer ersten Untersuchung sollte geklärt werden, wie viele Äquivalente Kupfer zum Liganden zugegeben werden müssen, damit dieser sein Aktivitätsmaximum bei der Spaltung von HPNP erreicht. Die maximale Aktivität sollte genau dann erreicht werden, wenn alle Koordinationsstellen des Komplexes (eine strukturelle und drei funktionelle) mit einem Kupferion besetzt sind. Mit einer Aktivität des Komplexes ist frühestens nach der Zugabe des ersten Äquivalentes Kupfer zu rechnen, da dieses die strukturelle Position im Komplex besetzt und damit keine katalytische Aktivität hat.

Da mit jeder Zunahme der Kupfermenge der pH-Wert leicht absinkt, wurde aus Gründen der Vergleichbarkeit der Messergebnisse in einer gepufferten teilwässrigen Lösung gearbeitet. Trotz der hohen Menge von 200 Äquivalenten Puffer gelang es jedoch nicht, den pH-Wert konstant zu halten. So sank dieser im Laufe der Messreihe von 6.92 auf 6.85.

Wie aus der Abb. 6.4 ersichtlich ist, stimmt die Annahme der steigenden Aktivität des Komplexes mit steigender Kupfermenge mit den Messergebnissen überein. Eine signifikant

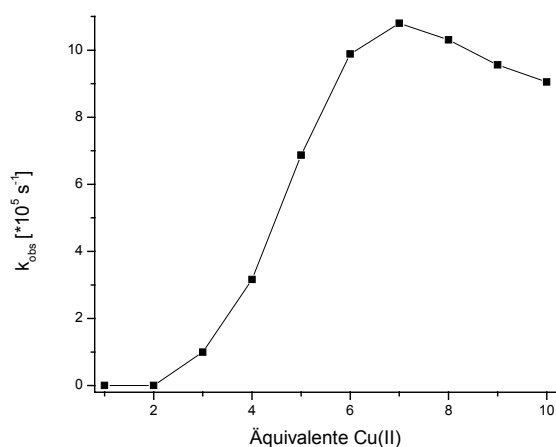


Abb. 6.4: Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten k_{obs} bei der Hydrolyse von HPNP (5 Äquivalente) in Abhängigkeit von der zugesetzten Menge an Cu(II) relativ zum Liganden L^3 ($1 \cdot 10^{-4}$ M), Bedingungen: DMSO:Wasser 1:3, pH 6.75, 200 Äquivalente MOPS-Puffer, 20°C

höhere Aktivität als die von freiem Kupfer wird erst bei Zugabe von drei Äquivalenten Metall erhalten. Hier ist anzunehmen, dass sich teilweise ein trinuklearer Komplex gebildet hat, der ein strukturelles und zwei funktionelle Metallionen enthält. Der weitere Verlauf der Aktivitätskurve macht jedoch deutlich, dass die Komplexbildung keinesfalls quantitativ verlaufen kann. Das bei Zugabe von vier Äquivalenten Metall erwartete Aktivitätsmaximum findet sich erst nach Zugabe von etwa sieben Äquivalenten. Dieser Überschuss an Kupfer ist notwendig, um eine vollständige Besetzung der im Liganden vorhandenen Koordinationsstellen mit Kupferionen zu erzwingen. Der im weiteren Verlauf der Untersuchung beobachtete leichte Aktivitätsabfall mit weiterer Kupferzugabe ist auf den ständig sinkenden pH-Wert zurückzuführen.

Das Ergebnis zeigt die Analogität der beiden Liganden L^3 und L^4 . Bei letzterem lag das Aktivitätsmaximum bei ca. 5 Äquivalenten Cu(II). Um bei beiden Liganden das Aktivitätsmaximum zu erreichen, war ein Verhältnis von Cu(II) zu Bindungsstellen für M_f von etwas mehr als 2:1 nötig.

Das von der Annahme des Aktivitätsmaximums bei Zugabe von vier Äquivalenten Kupfer abweichende Messergebnis ist ein weiterer Beweis für die schlechte Komplexbildung in Lösungen, die auch DMSO enthalten. Dieses Phänomen war schon bei den zuvor beschriebenen Titrations (s. Kap.4.2.) zu beobachten (nur Bildung des mononuklearen Komplexes in DMSO im Vergleich zur Bildung von oligonuklearen Komplexen in Methylenchlorid:Acetonitril Gemischen).

6.2.2.2 Abhängigkeit der Hydrolysegeschwindigkeit vom pH-Wert

Durch die Involvierung von Hydroxygruppen in den Mechanismus der HPNP-Umsetzung ist die pH-Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit erklärbar. Bei hohen pH-Werten liegt die Hydroxygruppe zumindest zu einem geringen Teil deprotoniert vor. Die deprotonierte Alkoholat-Gruppe stellt dann ein wesentlich stärkeres Nukleophil dar als die Hydroxygruppe und zieht dementsprechend eine höhere Reaktionsgeschwindigkeit nach sich. Gleichzeitig konkurriert jedoch das Hydroxid-Ion mit dem Substrat um die Metallkoordination, außerdem könnten sich hydroxyverbrückte Aggregate bilden. Ab einem pH-Wert von ca. 7.5 beginnen dann Kupferhydroxid-Niederschläge auszufallen.

Bei niedrigen pH-Werten dissoziieren die oligonuklearen Komplexe zumindest teilweise in $[(L^3-3H)_s]M_s$ und Cu^{2+} . Für eine quantitative Dissoziation der funktionellen Metalle aus dem

Komplex sind jedoch, wie sich aus einer pH-Titration des entsprechenden Komplexes mit strukturellem Kobalt ableiten lässt, niedrige pH-Werte < 2 nötig.

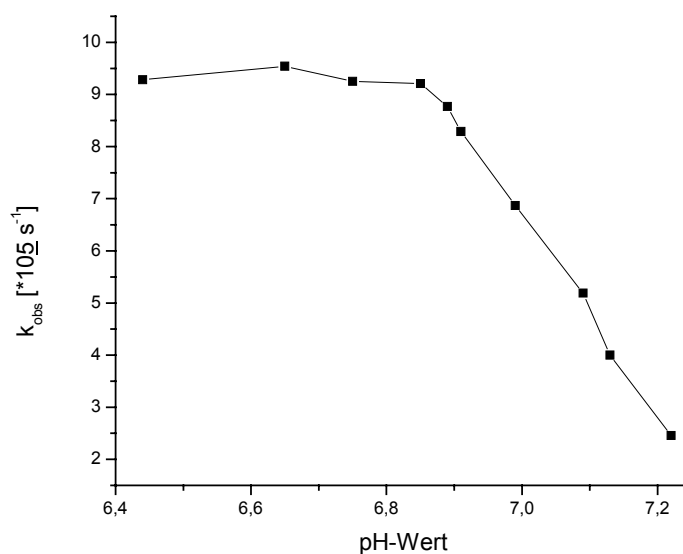


Abb. 6.5: pH-Abhängigkeit der HPNP-Umesterung von $[(\text{L}^3\text{-2H})\text{Cu}_4]^{6+}$, Bedingungen: 0.1 mM L^3 , 0.7 mM Cu(II), 0.5 mM HPNP, 5 mM MOPS, Wasser:DMSO 3:1, 20°C

Wie die Messergebnisse zeigen, ändert sich die Reaktionsgeschwindigkeit zwischen pH 6.4 und 6.9 nur marginal, wobei das nicht sehr ausgeprägte Maximum bei pH 6.65 zu finden ist. Bei pH-Werten größer als 6.9 nimmt die Reaktionsgeschwindigkeit aus den bereits geschilderten Gründen deutlich ab.

Anhand des Vergleichs der Ergebnisse, die bei Untersuchungen mit L^4 erhalten wurden, zeigt sich erneut die Analogie im Verhalten von L^3 und L^4 . Bei letzterem lag das pH-Optimum der HPNP-Hydrolyse bei 6.8 und damit nur geringfügig höher.

6.2.2.3 Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Substratkonzentration (Michaelis-Menten-Kinetik)

Zur Untersuchung der Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Substratkonzentration wurde der vierkernige Kupferkomplex $[(\text{L}^3\text{-2H})\text{Cu}_4]^{6+}$ *in situ* hergestellt. Es wurden 0.1 mM Lösungen von L^3 in DMSO:Wasser 1:3 mit einem Überschuss von sieben Äquivalenten Cu(II)nitrat und 200 Äquivalenten MOPS-Puffer (pH 6.78) verwendet, die Konzentration an HPNP lag zwischen 0.1 und 2.5 mM.

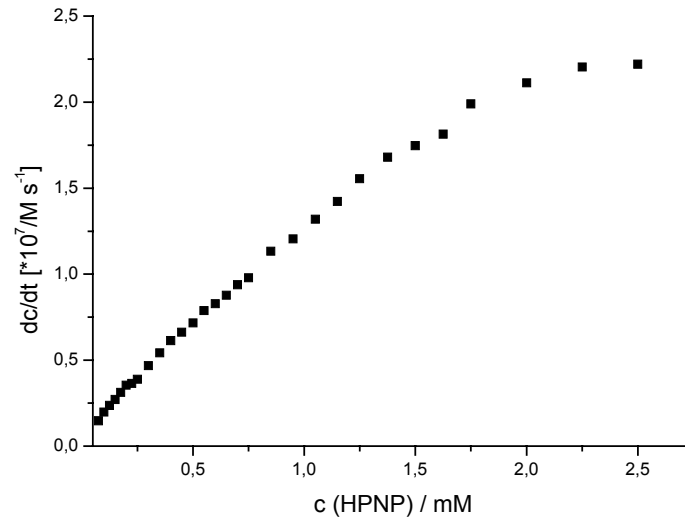
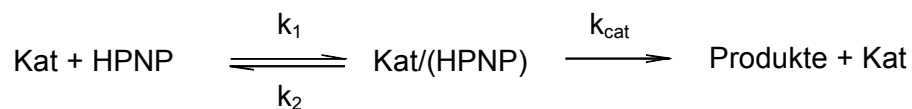


Abb. 6.6: Geschwindigkeit (dc/dt) der HPNP-Umesterung durch 10^{-4} M $[(L^3-2H)Cu_4]^{6+}$ bei unterschiedlicher Substratkonzentration.

Bedingungen: Wasser/DMSO 3:1, pH 6.8, Puffer 20 mM 3-(N-Morpholino)propansulfonsäure (MOPS) und $T=25^\circ\text{C}$. Durchschnittliche Werte von drei kinetischen Messungen, reproduzierbar innerhalb von $\pm 15\%$.

Man erhält einen linearen Zusammenhang zwischen der Substratkonzentration und der Umsetzungsgeschwindigkeit bei HPNP-Konzentrationen von < 0.75 mMol/l. Bei höheren Konzentrationen flacht die Kurve ab. Hier beobachtet man eine Sättigungskinetik, die nach dem Zeitgesetz von Michaelis und Menten für enzymkatalysierte Reaktionen behandelt werden kann.

Die mathematische Beschreibung geht auf ein Modell zurück, bei dem sich in einer der Spaltung vorgelagerten, schnellen Gleichgewichtsreaktion ein Katalysator-Substrat-Addukt bildet, welches erst dann irreversibel zu den Produkten umgesetzt wird.



Liegt die Konzentration des Substrates im Sättigungsbereich, so bedeutet dies, dass der vorgelagerte Schritt quantitativ abläuft und die Geschwindigkeit nur noch vom eigentlichen Hydrolyseschritt abhängig ist. Dieser wird dadurch geschwindigkeitsbestimmend. Eine weitere Konzentrationserhöhung des Substrates bewirkt dann keine Beschleunigung der Reaktionsgeschwindigkeit mehr, letztere kann nur durch Zugabe von mehr Katalysator gesteigert werden.

Im Fall eines solchen schnellen vorgelagerten Gleichgewichtes kann folgendes Zeitgesetz aufgestellt werden:

$$\frac{dc}{dt} = \left(\frac{dc}{dt} \right)_{\max} \frac{[M]}{[M] + K_M} \quad (5)$$

Die Adduktkonzentration wird hierbei als konstant angenommen, d.h. es liegt ein Fließgleichgewicht vor, in dem Bildungs- und Zerfallsgeschwindigkeit gleich sind.

Die Michaelis-Menten-Konstante K_M setzt sich aus den Gleichgewichtskonstanten der Gesamtreaktion zusammen.

$$K_M = \frac{k_2 + k_{\text{cat}}}{k_1} \quad (6)$$

Unter der Voraussetzung einer im Vergleich zur Spaltungsreaktion schnellen Adduktbildung ($k_{\text{cat}} \ll k_2$), kann man K_M in die Gleichgewichtskonstante für das vorgelagerte Gleichgewicht umformen.

$$K_M \approx \frac{k_2}{k_1} = \frac{1}{K_{\text{HPNP}}} \quad (7)$$

Durch Auftragung der reziproken Geschwindigkeit gegen die reziproke Substratkonzentration in einem Lineweaver-Burk-Diagramm kann man K_{HPNP} und k_{cat} ermitteln. K_{HPNP} entspricht hierbei der Gleichgewichtskonstanten für die Bindung des Substrates an den Metallkomplex. k_{cat} ist die Geschwindigkeitskonstante erster Ordnung für die Spaltung des an den Katalysator gebundenen HPNP.

Als x-Achsenabschnitt erhält man die Komplexbildungskonstante K_{HPNP} und als y-Achsenabschnitt die reziproke Geschwindigkeitskonstante $(k_{\text{cat}} [\text{Kat.}])^{-1}$.

Aufgrund der großen Anzahl der durchzuführenden Messungen zur Ermittlung der Michaelis-Menten-Kinetik wurden die Untersuchungen mit der Hilfe eines Pipettierroboters durchgeführt. Dadurch konnte der Zeitaufwand auf ein Mindestmass reduziert werden.

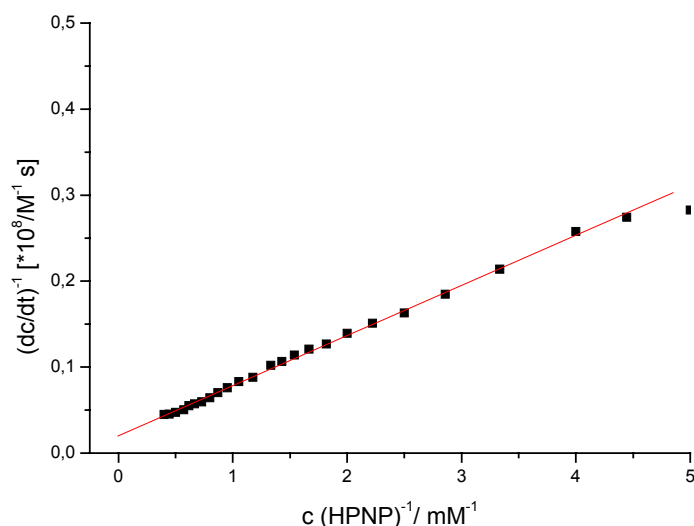


Abb. 6.7: Lineweaver-Burk-Darstellung der katalytischen HPNP-Umesterung durch $[(L^3-2H)Cu_4]^{6+}$. Abhängigkeit von $(dc/dt)^{-1}$ von $[HPNP]^{-1}$, abgeleitet aus Abb. 6.6

Aus der Auftragung der reziproken Werte nach Lineweaver-Burk konnten so die in Tab. 6.1 aufgeführten Werte ermittelt werden.

Tabelle 6-1: Katalytische Umesterung von HPNP durch den Katalysator $[(L^3-2H)Cu_4]^{6+}$ und zum Vergleich durch den Katalysator $[(L^4-2H)Cu_3]^{4+}$. Werte für K_{HPNP} (Bildungskonstante für den Katalysator-HPNP-Komplex) und von k_{cat} (Geschwindigkeitskonstante für die Spaltung von katalysatorgebundenem HPNP), abgeleitet aus der Lineweaver-Burk Auftragung in Abb. 6.7

Ligand	$K_{HPNP} (M^{-1})$	$k_{cat} (* 10^{-3} s^{-1})$
L^4	190	10.0
L^3	345	5.0

Die so erhaltenen Werte korrelieren gut mit den für den zweiarmigen Liganden L^4 bereits zuvor erhaltenen Daten.^[51] Die k_{cat} -Werte unterscheiden sich um den Faktor 2, wobei die Komplexe von L^4 aktiver sind. Umgekehrt ist K_{HPNP} von L^3 fast doppelt so groß, wie der Wert von L^4 . Hieraus lässt sich ablesen, dass bei L^3 zwar die Substratbindung an den Katalysatorkomplex besser ist, jedoch wird dieser „Aktivitätsvorteil“ durch einen geringeren k_{cat} -Wert wieder kompensiert.

Da beide Systeme die gleichen Strukturelemente aufweisen, spiegelt sich hier der Einfluss des dritten, in L^4 nicht vorhandenen Armes, wieder.

6.2.2.4 Turnovermessungen

Die bisherigen Untersuchungen zielten lediglich auf die Bestimmung der Parameter, die einen Einfluss auf die Höhe der Reaktionsgeschwindigkeit haben. Aus diesen Untersuchungen geht jedoch nicht hervor, ob die Umsetzung auf eine katalytische Art und Weise oder lediglich in stöchiometrischem Verhältnis erfolgt. Aus diesem Grunde wurde eine Messung der Turnoverzahl durchgeführt. Eine Turnoverzahl von 1 entspricht dabei dem Umsatz von einem Molekül Substrat pro Komplexmolekül. Ist die Turnoverzahl >1 , so erfolgt die Umsetzung katalytisch.

Für den eingesetzten Komplex $[(L^3-2H)Cu_4]^{6+}$ findet man für den Zeitraum von ungefähr 1500 Sekunden eine konstante Reaktionsgeschwindigkeit ($k_{obs} = 1.08 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$, die Konzentration von $[(L^3-2H)Cu_4]^{6+}$ betrug $1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, 25 Äquivalente HPNP, DMSO:Wasser 1:3, 200 eq MOPS pH = 6.75). In diesem Zeitraum werden knapp 10% des Substrates umgesetzt. Danach stellt man eine abfallende Aktivität fest. Diese erklärt sich zum einen aus der abnehmenden Substratkonzentration und zum anderen daraus, dass das Reaktionsprodukt, der cyclische Phosphodiester, mit dem Substrat um Bindung an den Katalysator in Konkurrenz tritt.

Nach ca. 1250 Sekunden haben 8% des HPNP reagiert, das entspricht einer Turnoverzahl von 2. Zu beachten ist allerdings, dass unter den verwendeten Messbedingungen die Extinktion nach 1500 Sekunden bereits nahe 2 liegt und damit die lineare Gültigkeit des Lambert-Beer'schen Gesetzes nicht mehr zur Gänze gegeben ist. Die gemessenen Werte sind daher mit einem entsprechend großen Fehler behaftet (ca. 20%).

Eine Turnoverzahl von 2 in 1250 Sekunden entspricht einer Turnover-Frequenz von ca. 6 h^{-1} .

6.2.2.5 Kompetitive Anionenbindung durch Komplexe von L^3

Ebenfalls mit Hilfe des Pipettier-Roboters wurde die Fähigkeit verschiedener Anionen, die katalytische Umesterung von HPNP durch $[(L^3-2H)Cu_4]^{6+}$ -Komplexe zu inhibieren, analysiert. Hierbei spielt offenbar die passende „Bissweite“ des Inhibitors eine wichtige Rolle.

Die Hemmung der HPNP-Spaltung durch $[(L^3-2H)Cu_4]^{6+}$ kann dementsprechend einer kompetitiven Bindung der Anionen an das katalytische Di/tri-Kupferzentrum zugeschrieben werden. Eine nichtkompetitive Inhibierung (s. Kapitel 1.3.2) durch eine Wechselwirkung des Inhibitors mit dem allosterischen Kupferion ist unwahrscheinlich, da vom zentralen Kupferion angenommen wird, dass es eine stabile, planare N4-Koordination aufrecht erhält und die

axialen Bindungsmöglichkeiten schwach und wenn überhaupt durch die Donor-Atome des dritten Arms des Liganden besetzt sind.

Eine Abstraktion der funktionellen Kupferionen aus $[(L^3-2H)Cu_4]^{6+}$ durch kompetitive Komplexbildung kann für viele Anionen einfach durch ihre kleinen Bindungskonstanten zum Cu^{2+} ausgeschossen werden. Für andere ist die starke Inhibierung bei einem 1:1-Verhältnis von Inhibitor zu $[(L^3-3H)Cu_4]^{6+}$ -Komplex nicht einfach mit der Komplexbildung eines Äquivalents Cu zu erklären, da die Experimente bei einem $L^3:Cu$ -Verhältnis von 1:7 durchgeführt wurden. Weiterhin trat bei Aufnahme von UV-Spektren keine Veränderung der Basislinie durch Niederschlagsbildung auf.

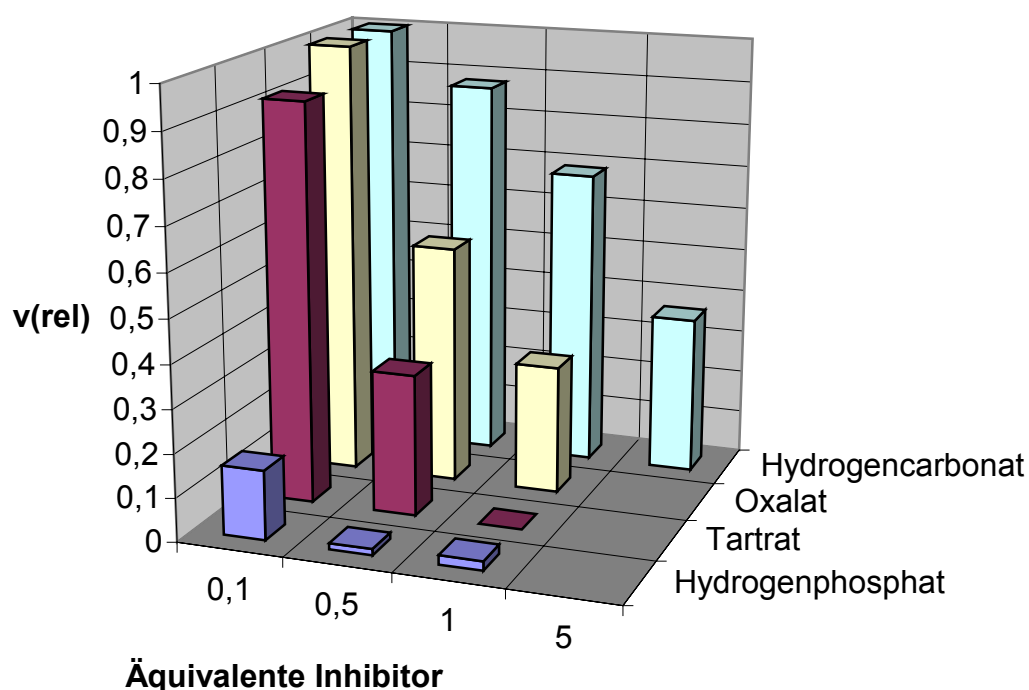


Abb. 6.8: Relative Geschwindigkeiten (v_{rel}) der Umesterung von HPNP durch 10^{-4} M $[(L^3-2H)Cu_4]^{6+}$ in Anwesenheit inhibierender Anionen in verschiedener Konzentration (Äquivalente bezogen auf $[(L^3-2H)Cu_4]^{6+}$). v_{rel} entspricht dem Verhältnis v/v_0 , dabei ist v die beobachtete Geschwindigkeit der HPNP Umesterung in Anwesenheit und v_0 in Abwesenheit von inhibierendem Anion. Reaktionsbedingungen: Wasser/DMSO 3:1, pH 6.75, Puffer 20 mM 3-(N-Morpholino)propansulfonsäure (MOPS), $T=25^\circ C$, Mittelwerte von 3 kinetischen Messungen, reproduzierbar innerhalb von $\pm 15\%$.

Abb. 6.8 zeigt die Auswirkung starker Inhibitoren, die die katalytische Beschleunigung der Umsetzung von HPNP ab einer Konzentration von 0.5 mM (= 5 Äquiv. relativ zum Komplex und 1 Äquivalent relativ zu HPNP) stark erniedrigen. v_{rel} entspricht dem Verhältnis v/v_0 , wobei v die beobachtete Reaktionsgeschwindigkeit für die Umesterung von HPNP in Anwesenheit und v_0 in Abwesenheit eines inhibierenden Anions ist. v_{rel} wurde bei verschiedenen Inhibitor-

Konzentrationen für $[(L^3-2H)Cu_4]^{6+}$ bestimmt. In Abb. 6.9 wird eine Serie von weniger effektiven Inhibitoren präsentiert, die ihre Inhibierungswirkung erst bei höheren Konzentrationen zeigen. Die Umesterungsgeschwindigkeit bei der Zugabe von 5 mM Cl^- , NO_3^- , ClO_4^- und BF_4^- (als Na^+ - oder K^+ -Salze) bleibt unverändert. Diese Beobachtung bestätigt, daß eine geringe Erhöhung der Ionenstärke (0.01 M bei 20 mM MOPS Puffer) durch Zugabe von 5 mM eines Salzes die Reaktivität nicht signifikant beeinflusst.

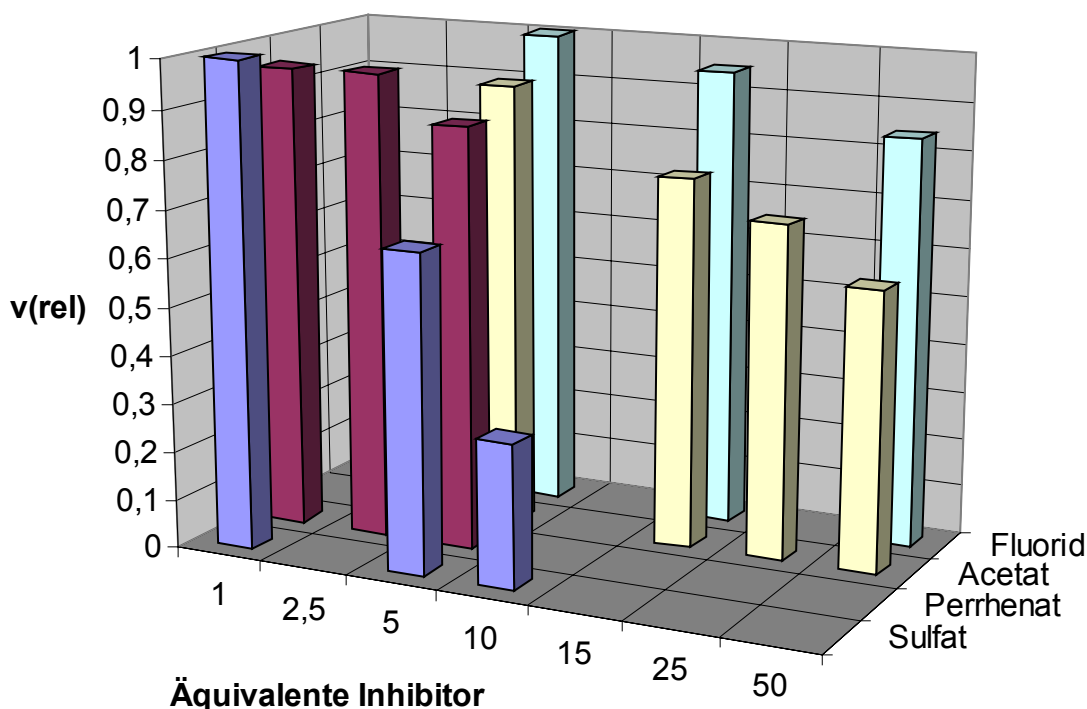
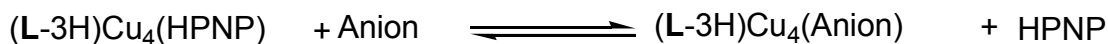


Abb. 6.9: Relative Geschwindigkeiten (v_{rel}) der Umesterung von HPNP durch 10^{-4} M $[(L^3-2H)Cu_4]^{6+}$ in Anwesenheit schwach inhibierender Anionen in verschiedener Konzentration (Äquivalente bezogen auf $[(L^3-2H)Cu_4]^{6+}$). v_{rel} entspricht dem Verhältnis v/v_0 .

Bei Annahme des einfachen kompetitiven Modells gilt:



Mit Hilfe des K_M -Werts von $5 \cdot 10^{-3}$ M konnten die Daten aus den Abbildungen 6.8 und 6.9 verwendet werden, um die Bindungskonstanten K_I von $[(L^3-2H)Cu_4]^{6+}$ für verschiedene inhibierende Anionen I durch Anpassen der folgenden Gleichung zu bestimmen:

$$v_{rel} = \frac{\left(1 + \frac{K_M}{[HPNP]}\right)}{\left(1 + \{1 + [I]K_I\} \frac{K_M}{[HPNP]}\right)} \quad (11)$$

Dieser Ausdruck wurde aus der Standardgleichung für enzymatische Reaktionsgeschwindigkeiten bei Anwesenheit eines kompetitiven Inhibitors abgeleitet. Eine Voraussetzung für die Gültigkeit dieser Gleichung ist, dass HPNP und Inhibitor im Überschuss relativ zum Katalysator vorliegen. Im Fall von starken Inhibitoren bei kleinen Konzentrationen von I (Phosphat, Oxalat) wird dabei K_I unterschätzt. Die in Tab. 6.2 angegebenen Bindungskonstanten der Anionen sind Mittelwerte von K_I bei verschiedenen Konzentrationen [I] des inhibierenden Anions (berechnet nach Gl. 11)). Ebenfalls angegeben sind Vergleichswerte für die entsprechenden Komplexe von L^4 .

Um zu überprüfen, ob die Affinität der Anionen mit der mehr oder weniger guten Passform des (potenziell) verbrückenden Anions zum Di/tri-Kupferzentrum zusammenhängt, reicht es nicht aus, die bloßen K_I -Werte zu betrachten, da die Anionen (z.B. abhängig von ihrer Lewisbasizität) sehr unterschiedliche Affinitäten zu Cu^{2+} Ionen haben. Daher müssen auch die in der Literatur beschriebenen Kupfer-Bindungskonstanten $K(Cu^{2+})$ für dieselben Anionen in Tab. 6.2 einbezogen werden. In vielen Fällen waren die Daten für die Ionenstärke der Reaktionslösungen (0.01 M) zugänglich, manche Werte mussten jedoch extrapoliert werden. Wenn $K((L^3-2H)Cu_4)^{6+}$ viel größer als $K(Cu^{2+})$ ist, ist eine Wechselwirkung des Anions mit mindestens zwei der funktionellen Kupferionen wahrscheinlich.

Tabelle 6.2. Anionenbindungskonstanten K für den $(L^3-2H)Cu_4$ -Komplex und Cu^{2+} , abgeleitet aus den in Abb. 6.8 und 6.9 beschriebenen Experimenten. K ist Mittelwert von mehreren für verschiedene Anionenkonzentrationen berechneten K_I , maximale Abweichung von $K_I \pm 15\%$ von K . a) Werte für Ionenstärke $\mu = 0.01$ M. b) Werte für Ionenstärke $\mu = 0.5$ M. c) extrapoliert auf eine Ionenstärke $\mu = 0.01$ M.

Anion	$K [(L^3-2H)Cu_4]$	$K [(L^4-2H)Cu_3]$	$K(Cu^{2+})^a [Li]$
HPO_4^{2-}	$> 10^5$	$> 10^5$	10^4 [66,67] c)
$C_2O_4^{2-}$	4400	$> 10^4$	$10^{5.4}$ [68]
HCO_3^-	880	4200	1600 [69] d)
SO_4^{2-}	1900	1300	63 [70]
ReO_4^-	70	350	< 10
HPNP	345	190	15^b [72]
$CH_3CO_2^-$	40	170	79 [73]
F ⁻	10	83	13 [71]

Cu^{2+} -Bindungskonstanten von Perrhenat ReO_4^- wurden unseres Wissens bislang nicht veröffentlicht. Es sollte wegen seiner niedrigen Basizität ($pK_S(HReO_4) = -1.3$ [65]) in wässriger Lösung eine sehr niedrige Affinität zu Metall-Ionen haben. Da die Umesterungsrate von HPNP

(1mM) durch Cu^{2+} (0.25 mM) bei pH 6.75 und 25°C durch die Zugabe von 2.5 mM Perrhenat nicht verlangsamt wird, kann unter diesen Bedingungen eine Cu^{2+} Bindungskonstante mit Perrhenat von $< 10 \text{ M}^{-1}$ angenommen werden.

Ein Vergleich der Cu^{2+} - und $[(\text{L}^3\text{-2H})\text{Cu}_4]^{6+}$ -Bindungskonstanten zu Oxalat wird dadurch kompliziert, dass das Anion chelatisierend an Cu^{2+} , jedoch als nicht-chelatisierender, verbrückender Ligand an $[(\text{L}^3\text{-2H})\text{Cu}_4]^{6+}$ binden kann. Eine mögliche Erklärung für die nahezu vollständige Inhibierung der Katalyse durch 0.5 Äquivalente Phosphat ist die Bildung von Dimeren, die durch das Phosphat verbrückt sind. So wurde bei L^4 das sehr stabile $(\text{L}^4\text{-2H})\text{Cu}_3 (\mu\text{-OH}) (\mu_4\text{-PO}_4) (\mu\text{-OH}) \text{Cu}_3 (\text{L}^4\text{-2H})$ -Dimer in Lösung postuliert, welches vergleichbar ist mit der Kristallstruktur des Dimers von $(\text{L}^4\text{-2H})\text{Cu}_3 (\mu\text{-C}_2\text{O}_4) (\mu\text{-OH}, \text{Cl}) \text{Cu}_3 (\text{L}^4\text{-2H})$ im Festkörper^[51,96].

F^- , das „kleinste“ in Betracht kommende Anion, kann aus sterischen Gründen die funktionellen Kupferionen nicht verbrücken. Dennoch ist die für L^4 gefundene F^- -Bindungskonstante K_1 an den Komplex etwa 7-mal höher als für Cu^{2+} . Eine Erklärung dafür ist die starke Tendenz von F^- Wasserstoffbrücken zu bilden. In diesem Fall liegt daher die Vermutung einer $\text{Cu-F}\cdots\text{H}_2\text{O-Cu}$ -Wechselwirkung nahe. Warum die F^- -Bindungskonstante des Cu-Komplexes von L^3 wesentlich kleiner ist, ist unklar.

Die $[(\text{L}^3\text{-2H})\text{Cu}_4]^{6+}$ -Bindungskonstanten für CH_3CO_2^- und HCO_3^- sind nur etwa halb so groß, wie die vergleichbaren von freiem Cu zu den Anionen. Dieses steht erneut im Gegensatz zu den bereits ermittelten Bindungskonstanten von L^4 , die zwei- bis viermal so groß wie für Cu^{2+} sind. Daraus ergibt sich, dass auch Acetat und Hydrogencarbonat keine stabilen Brückenliganden für die funktionellen Cu-Ionen der L^3 -Komplexe darstellen.

Im Gegensatz dazu haben die relativ großen tetraedrischen Anionen HPO_4^{2-} , SO_4^{2-} und in geringerem Ausmaß auch ReO_4^- eine 7 bis 30-mal höhere Affinität zu den oligonuklearen Komplexen als zu Cu^{2+} . In der O-O-„Bissweite“ der freien Anionen (2.45, 2.52, 2.80 Å) spiegelt sich deren Fähigkeit wieder, auch größere Abstände zu überbrücken.

6.2.2.6 Allosterische Regulation

Im Gegensatz zu den Komplexen mit Kupfer als strukturellem Metall zeigen die entsprechenden Kobalt-Komplexe mit funktionellem Kupfer $[(\text{L}^3\text{-3H})\text{CoCu}_3]^{6+}$ keine

katalytische Aktivität. Die hier unter denselben Bedingungen wie für den Cu₄-Komplex gemessenen Umsetzungsgeschwindigkeiten entsprechen denen von frei in der Lösung vorliegendem Kupfer. Durch den Einsatz eines anderen strukturellen Metalls ist damit die katalytische Aktivität bezüglich der HPNP-Hydrolyse komplett verloren gegangen. Damit konnte gezeigt werden, dass das Prinzip der allosterischen Regulierbarkeit der Hydrolyse hier erfüllt ist.

Die Gründe für den Aktivitätsverlust sind in der Struktur des Co-Komplexes zu suchen. Einblicke verschafft hier die Kristallstruktur des mononukelaren Komplexes. Zum einen lässt sich abschätzen, dass der Abstand zwischen den funktionellen Kupferionen etwa 6-7 Å betragen sollte. Dieser ist für eine effektive HPNP-Hydrolyse etwas zu groß. Erschwerend kommt noch eine strukturelle Eigenschaft des Co-Komplexes hinzu: Betrachtet man jeweils die Lage der beiden freien Koordinationsstellen an den funktionellen Kupferionen relativ zueinander, so erkennt man, dass diese nicht zueinander weisen, wie es in einem Komplex mit planar-quadratischem strukturellen Metall annähernd der Fall ist, sondern dass sie jeweils in einem Winkel von etwa 90° zueinander angeordnet sind. Dies macht ein Zusammenwirken der funktionellen Cu-Ionen bei der Katalyse unwahrscheinlich.

6.2.2.7 Vergleich von [(L³-2H)Cu₄] mit [(L⁴-2H)Cu₃]

Die maximale Hydrolyseaktivität des dreiarmligen Komplexes [(L³-2H)Cu₄] ist mit $k_{\text{obs}} = 1.08 \cdot 10^{-4} \text{ [s}^{-1}\text{]}$ vergleichbar mit der des entsprechenden Komplexes zweiarmligen Liganden L⁴ ($k_{\text{obs}} = 1.9 \cdot 10^{-4} \text{ [s}^{-1}\text{]}$). Die Ähnlichkeit der Katalysegeschwindigkeit, aber auch die Ergebnisse der Inhibierungsmessungen und der gleiche optimale pH-Wert der Reaktion bestärken die schon aus den Titrationsspektren und IR-Spektren erhaltene Vermutung, dass nur zwei der drei Arme von L³ das strukturelle Kupferion koordinieren.

6.3 Reduktion von [(L³-3H)CoCu₃]⁶⁺ durch organische Substrate

Die Reduzierbarkeit der koordinierten Cu(II) Ionen zu Cu(I) wurde bei der Titration von einer [(L³-3H)Co]-Lösung (Chloroform:Metanol 1:9), die 4 Äquivalente Cu(II) enthielt, festgestellt. Zu dem so *in situ* hergestellten vierkernigen Komplex wurden verschiedene, vor allem trifunktionalisierte Coliganden zutitriert. Diese Coliganden sollten aufgrund ihrer

Trifunktionalität in der Lage sein, drei Cu-Ionen im Komplex durch verbrückende Koordination zu stabilisieren.

In den von diesen Lösungen aufgenommenen UV/Vis-Spektren konnte eine neu entstehende breite Bande bei 570 nm beobachtet werden. Die Intensität dieser Bande hing von der Art des zutitrierten Coliganden und der Zugabe einer Hilfsbase ab. Die Lage und Intensität der Bande entspricht derjenigen, die bereits bei Vergleichstitrationen von $[(L^3-3H)Co]$ mit Cu(I)-Salzen erhalten wurden (siehe Kap. 5.4.1).

Eine Reduktion der Cu(II)-Ionen im Metallkomplex erzielt man mit den hydroxyfunktionalisierten Aromaten Resorcin (1,3-Dihydroxybenzol) und Phloroglucin (1,3,5-Trihydroxybenzol). Dabei kann ohne zusätzliche Basenzugabe das Resorcin etwas schlechter oxidiert werden als das Phloroglucin, während sich bei Zugabe von 5 Äquivalenten Lutidin die Verhältnisse genau umkehren.

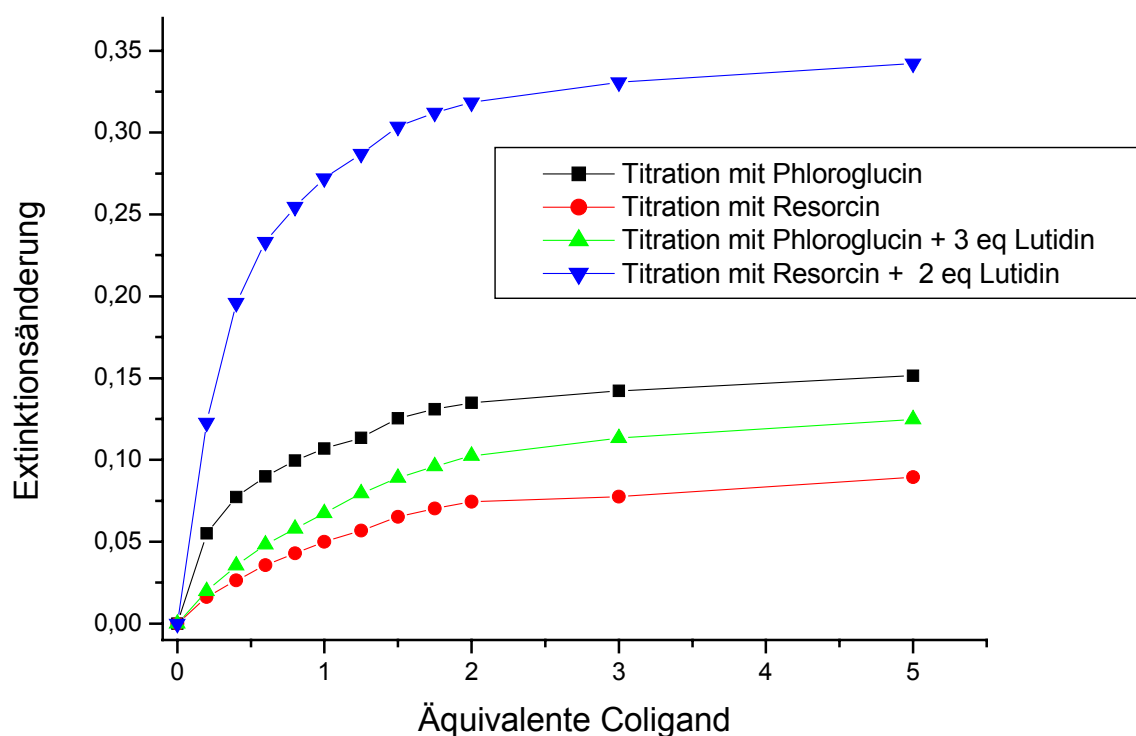


Abb. 6.10: Extinktionsänderung bei 570 nm der spektrophotometrischen Titration von $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$ (10^{-4} M, Methanol) in Abhängigkeit von der Zugabe von organischen Substraten, zur besseren Vergleichbarkeit sind nicht Extinktionen, sondern relative Extinktionsänderungen angegeben

Entgegen zu 1,2-Dihydroxybenzolen, die zu einer ganzen Reihe von Produkten oxidiert werden können (Oxidation in einer Catecholase-Reaktion zum entsprechenden

1,2-Benzochinon ^[74,75], weitere mögliche Produkte unter Öffnung des Ringsystems sind Hexa-2,4-diencarbonsäure (Intradiolspaltung) und 2-Hydroxy-6-oxo-hexa-2,4-dien-carbonsäure (Extradiolspaltung) ^[76], sind diese Reaktionen bei Resorcin und Phloroglucin nicht möglich. Die Oxidation hier kann entweder unter Abbau des Ringsystems erfolgen oder die Oxidation erfolgt unter Bildung von Phenoxyradikalen, die weitere Reaktionen eingehen ^[77]. Daneben sind natürlich sowohl beim Phloroglucin als auch beim Resorcin oxidative Kopplungen zu den entsprechenden chinoiden Systemen zu berücksichtigen ^[78-83].

Um die Stöchiometrie der Redoxreaktion zu untersuchen, wurde die Titration auch mit Hydrochinon durchgeführt. Bei der Oxidation des Hydrochinons zum Chinon ist zu bedenken, dass dabei 2 Äquivalente Elektronen zur Reduktion des Cu(II) zur Verfügung stehen.

Aus der Grafik ist ersichtlich, dass die Extinktion bei 570 nm bis zur Zugabe von 0.6 Äquivalenten Hydrochinon stark ansteigt. Danach steigt sie nur noch geringfügig. Bei Zugabe von Lutidin ist das Ergebnis noch deutlicher. Nach Zugabe von 0.6 Äquivalenten Hydrochinon bleibt die Extinktion hier konstant bzw. sinkt sogar leicht. Wiederum ist die Oxidierbarkeit des Substrates bei Basenzugabe erhöht.

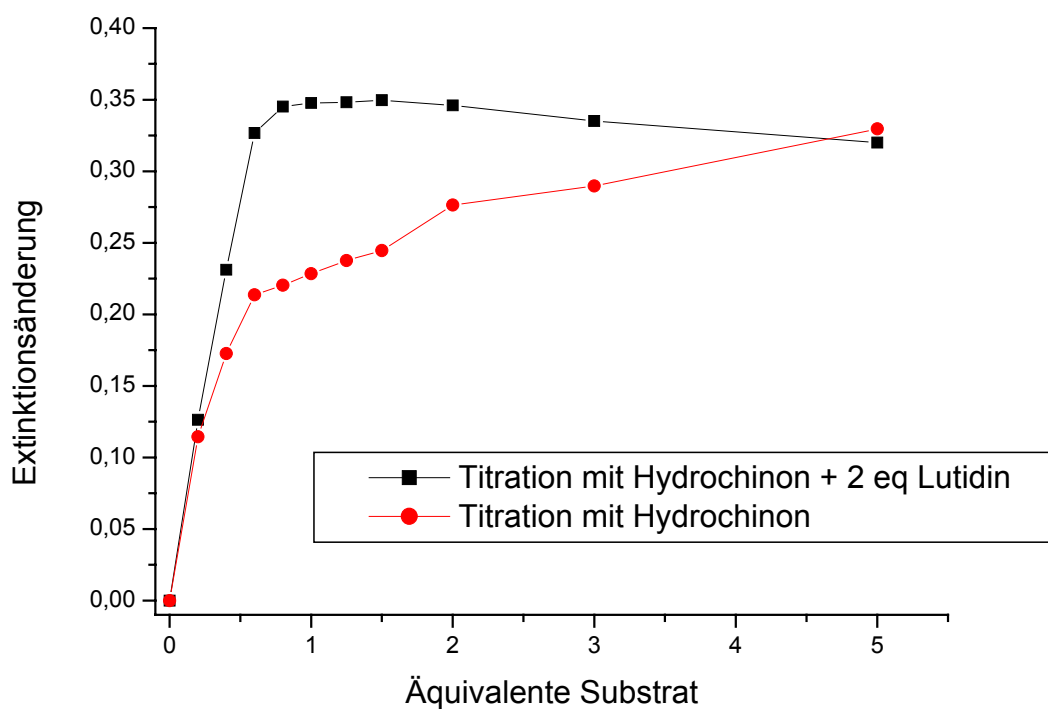


Abb. 6.11: Extinktionsänderung bei 570 nm der spektrophotometrischen Titration von $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$ (10^{-4} M, Methanol) in Abhängigkeit von der Zugabe von Hydrochinon und verschiedenen Mengen Base, zur besseren Vergleichbarkeit sind nicht Extinktionen, sondern relative Extinktionsänderungen angegeben

Diese Titrations belegen, dass eines der Cu(II)-Ionen des in der Lösung vorliegenden vierkernigen Metallkomplexes quantitativ durch Hydrochinon zu Cu(I) reduzierbar ist. Was mit den beiden anderen funktionellen Cu(II)-Ionen geschieht, ob sie abstrahiert werden oder im Komplex verbleiben, ist unklar. Für ersteres spricht jedoch die annähernde Übereinstimmung der aus den Titrations mit Hydrochinon bzw. Cu(I) erhaltenen Endspektren (siehe Kap. 5.4.1). Für Cu(I)-Komplexe Bipyridin-ähnlicher Liganden sind Banden im Bereich 500 nm typisch für tetraedrische Komplexe der Zusammensetzung $L_2Cu(I)$. Eine tetraedrische Umgebung durch zwei Chelateinheiten kann das Komplexfragment $[(L^3-3H)CoCu^I]$ dadurch erreichen, dass es zu $[(L^3-3H)Co]_2Cu^I_2$ dimerisiert. Dabei könnte durch Selbstorganisation eine stabile Struktur entstehen, die den Lehn'schen Doppelhelikaten aus Cu(I) und Bis(bipyridyl)-Liganden ähnelt. [87-89]

Die maximale Extinktionssteigerung von 0.35 im Falle des Hydrochinons liegt in derselben Größenordnung wie die Extinktionssteigerung bei Zugabe von Resorcin und Lutidin. Dies bedeutet, dass auch Resorcin in der Lage ist, die vorliegende Menge an Katalysator quantitativ zu reduzieren. Jedoch ist dazu bei Resorcin ein Überschuss von drei Äquivalenten notwendig, während bei Hydrochinon stöchiometrische Mengen (0.5 Äquivalente) ausreichen.

Die Verwendung von $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$ als Oxidationskatalysator scheiterte an zwei Problemen. So gelang es zum einen nicht, die Oxidation derart zu gestalten, dass definierte Oxidationsprodukte erhalten werden konnten (Ausnahme Hydrochinon/Chinon). Selbst die in der Literatur beschriebenen Kopplungsprodukte konnten massenspektroskopisch nicht nachgewiesen werden.

Zum anderen gelang die Reoxidation des Cu(I) weder durch Rühren der Reaktionslösungen an Luft, noch unter reinem Sauerstoff noch durch Zugabe des Oxidationsmittels H_2O_2 , weder in der leicht sauren Reaktionslösung noch unter Basenzugabe. Damit können Redoxreaktionen nur stöchiometrisch durchgeführt werden.

Dies unterstreicht die hohe Stabilität des Cu(I)-Komplexes von $[(L^3-3H)Co]$.

6.4 Versuche zu Templatreaktionen an $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$

Als potenzielle Substrate für Templatreaktionen an $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$ wurden Verbindungen eingesetzt, die einerseits koordinierende und andererseits reaktive Gruppen enthielten.

Ein Beispiel war die Umsetzung von Pyridin-2-aldehyd bzw. Pyridin-3-aldehyd mit Lysin, mit dem Ziel, eine templatgesteuerte Imin-Bildung zu erreichen. Es konnte jedoch keine komplexbedingte Umsetzung beobachtet werden.

Weiterhin wurde die Reaktion von Lysin mit Glutaminsäure-5-methylester untersucht. Durch Chelatkoordination der Aminocarboxylat-Gruppen am Metall wäre so eine selektive δ - δ -Kopplung zum Peptid ohne notwendige Schutzgruppen möglich.

Ein Produkt dieser Reaktion konnte zwar unter bestimmten Bedingungen vereinzelt massenspektrometrisch nachgewiesen werden, jedoch waren diese Experimente nicht zuverlässig reproduzierbar.

Auch Experimente mit dem Substrat Asparaginsäuremethylester lieferten keine besseren Ergebnisse. Eine Reaktion, die von $[(L^3-3H)CoCu_3]^{6+}$ katalysiert wird, konnte damit nicht gefunden werden.

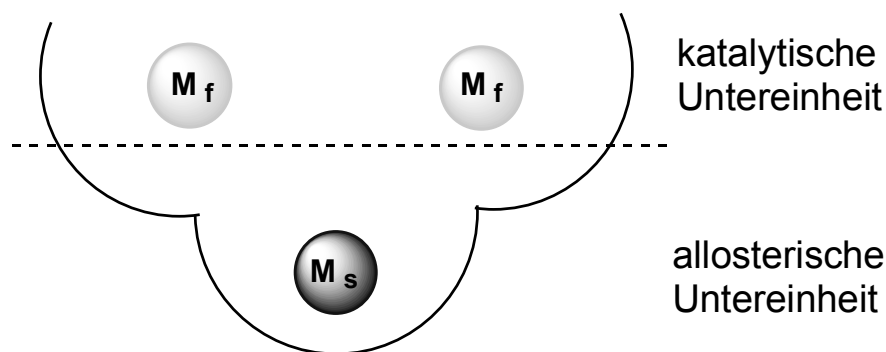
7. Zusammenfassung

Die Aktivität vieler Enzyme beruht darauf, dass sie zwei oder mehr Metallionen beinhalten. Diese sind sowohl an der selektiven Bindung wie auch der darauf folgenden Umsetzung der Substrate beteiligt. Wichtige Faktoren für die Aktivität sind dabei die Intermetallabstände und die relative Orientierung der Koordinationspolyeder zueinander.

Ein zentraler Aspekt der Steuerbarkeit der Enzymaktivität ist die allosterische Regulation durch nicht kovalent gebundene, außerhalb des aktiven Zentrums befindliche Effektoren (Metallionen oder kleine Moleküle).

Ein vielzitiertes Beispiel für ein solches Enzym ist die Alkalische Phosphatase. Sie besitzt im aktiven Zentrum zwei funktionelle Zink-Ionen. Der allosterische Effektor besteht hier aus einem Mg^{2+} -Ion, durch dessen Entfernung bzw. Austausch die Aktivität ausgeschaltet werden kann.

Vor kurzem wurde in der Arbeitsgruppe Krämer der erste Prototyp eines synthetischen allosterischen Katalysators beschrieben, der durch eine dinukleare, katalytische Untereinheit mit funktionellen Metallionen M_f und eine allosterische Untereinheit mit einem strukturellen Metallion M_s charakterisiert ist.



Im Rahmen der Arbeit wurden nun weitere, potenziell allosterisch regulierbare Systeme auf Basis der neuen Liganden $L^1 - L^3$ synthetisiert.

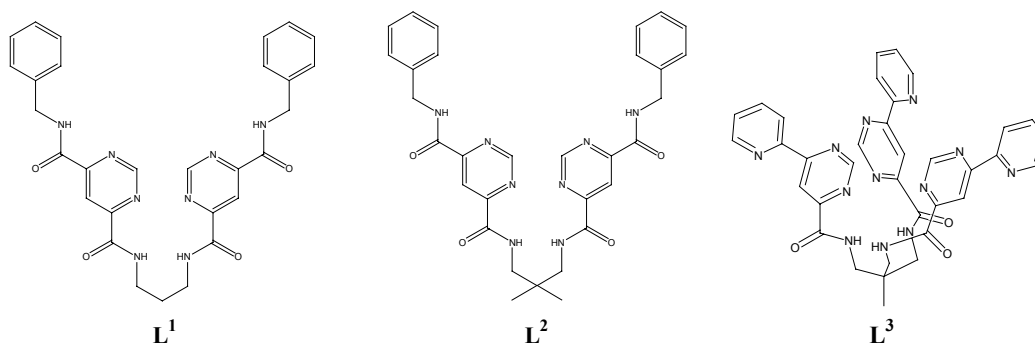


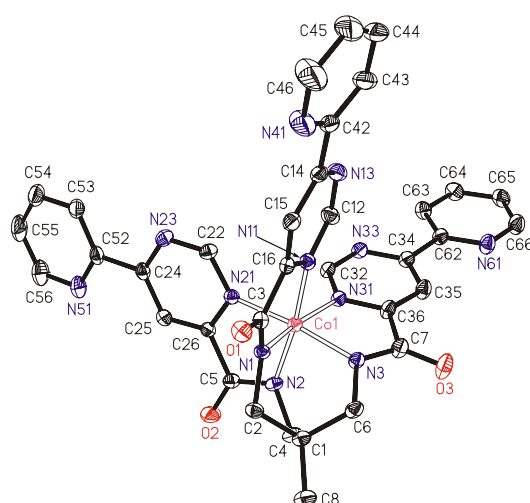
Abb. 7.1: Dargestellte Liganden

L^1 und L^2 wurden ausgehend von Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure dargestellt, die zunächst zum Monobenzylamid umgesetzt werden konnte.

L^3 war aus 6-Pyridyl-pyrimidin-4-carbonsäure und 2-Aminomethyl-2-methylpropan-1,3-diamin zugänglich.

Es konnte gezeigt werden, dass L^1 und L^2 nur unter bestimmten Bedingungen in der Lage sind, sowohl ein strukturelles als auch funktionelle Metallionen zu komplexieren. Unter den für die geplanten katalytischen Untersuchungen relevanten Bedingungen koordiniert dieser Liganden keine funktionellen Metalle.

Die Struktur von L^3 konnte röntgenographisch gesichert werden, ebenso wie die des Kobalt(III)komplexes $[(L^3-3H)Co]$, in dem das Metallion in einer leicht verzerrten oktaedrischen Koordination vorliegt.

Abb. 7.2: Kristallstruktur von $[(L^3-3H)Co] \cdot 1.5 C_6H_5NO_2$

In $[(L^3-3H)Co]$ stehen die drei Pyridyl-Pyrimidin-Ebenen nahezu senkrecht aufeinander. Dies ist ein wesentlicher Unterschied zu früher strukturell beschriebenen „zweiarmigen“

Analoga von L^3 , deren Komplexe mit einem quadratisch planaren strukturellen Metallion coplanare Pyridyl-Pyrimidin-Einheiten aufweisen.

$[(L^3-3H)Co]$ und der *in situ* hergestellte Komplex $[(L^3-2H)Cu]$ wurden in wässriger Lösung mit Cu^{2+} -Ionen zu mehrkernigen Komplexen umgesetzt und die katalytische Aktivität bei der Spaltung des aktivierten Phosphodiesters 2-Hydroxypropyl-*p*-nitrophenylphosphat (HPNP) untersucht.

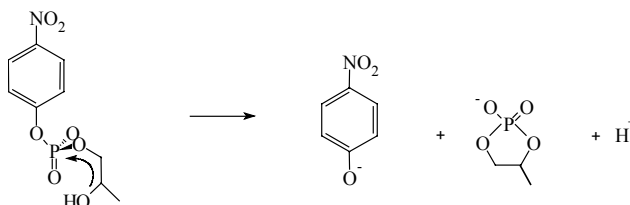


Abb. 7.3: Spaltung von HPNP

Mit Cu als allosterischem Metallion wird eine hohe Aktivität beobachtet, eine Auswertung nach Michaelis-Menten lieferte die katalyserelevanten Parameter $k_{cat} = 5.0 \cdot 10^{-3} s^{-1}$ (Geschwindigkeitskonstante für die Umsetzung des katalysatorgebundenen Substrats) und $K_{HPNP} = 345 M^{-1}$ (Substratbindungskonstante).

Dagegen wird mit $[(L^3-3H)Co]$ nur eine 500-fach langsamere Aktivität beobachtet, die den in der Lösung vorhandenen freien Cu^{2+} -Ionen zugeordnet werden kann.

Durch den Wechsel des allosterischen Metallions kann also die katalytische Aktivität an bzw. abgeschaltet werden. Dies wird als Folge der unterschiedlichen Präorganisation (Coplanarität der Pyridyl-Pyrimidin-Untereinheiten im Falle von strukturellem Cu(II) gegen orthogonale Stellung im Falle von Co(III)) der funktionellen Cu(II)-Ionen in $[(L^3-3H)Co]Cu_3$ und $[(L^3-3H)Cu]Cu_3$ interpretiert.

Der dreikernige Cu-Komplex von L^3Co hat interessante Rezeptoreigenschaften gegenüber Aminosäuren. Die Wechselwirkung mit Aminosäuren konnte indirekt durch Spektrophotometrie verfolgt werden. Der dreikernige Cu(II)-Komplex von L^3Co zeigt eine charakteristische UV/Vis-Absorption, wird aber in verdünnter Lösung nicht quantitativ gebildet und kann durch bestimmte Aminosäuren stabilisiert werden.

So bildet sich mit L-Alanin der dreikernige Kupferkomplex $[(L^3-3H)Co]Cu_3Ala_3$, nicht aber mit Phenylalanin, dessen $-CH_2-Ph$ -Seitenkette offenbar zu sperrig ist.

Mit Lysin ist der Komplex $[(L^3-3H)Co]Cu_3Lys_2$ besonders stabil, was darauf hindeutet, dass die Aminogruppen der Seitenketten an das dritte Cu-Ion koordinieren.

8. Experimenteller Teil

8.1 Spektroskopie und Analytik

Elementaranalysen:

Die Elementaranalysen wurden im mikroanalytischen Labor des Organisch-Chemischen Institutes der Universität Heidelberg durchgeführt.

NMR-Spektroskopie:

Die 200 MHz ^1H -Spektren wurden an der Universität Heidelberg mit dem Gerät Avance 200 der Firma Bruker angefertigt.

Die chemischen Verschiebungen sind relativ zu den Restwasserstoffsignalen der deuterierten Lösungsmittel (7.24 ppm für CDCl_3 , 2.49 ppm für DMSO-d_6 oder wenn dieses nicht möglich war, in Relation zu Tetramethylsilan angegeben) .

MALDI- bzw. LDI-Massenspektrometrie:

Diese Messungen wurden auf dem Flugzeitmassenspektrometer Bruker MALDI TOF BIFLEX II am Organisch-Chemischen Institut oder am BIFLEX III am Anorganisch-Chemischen Institut der Universität Heidelberg durchgeführt.

Als Matrix für MALDI-Messungen wurden Lösungen von Sinapinsäure, Dithranol 3,5-Dihydroxybenzoesäure, oder 9-Nitroanthracen in Aceton verwendet.

ESI-Massenspektrometrie:

Die ESI-massenspektrometrischen Untersuchungen wurden entweder im Organisch-Chemischen Institut der Universität Heidelberg mit einem Finnigan TSQ-400 oder im Anorganisch-Chemischen Institut mit einem Q-Tof Ultima der Firma Waters angefertigt.

EI-Massenspektrometrie:

Die Massenspektren wurden im Organisch-Chemischen Institut der Universität Heidelberg mit einem VG ZAB-2F oder Finnigan TSQ-700 angefertigt. Die Elektronenenergie betrug dabei 70eV.

FAB-Massenspektrometrie:

Die FAB-massenspektrometrischen Untersuchungen wurden im Organisch-Chemischen Institut der Universität Heidelberg mit einem JEOL JMS-700 durchgeführt. Als Matrix wurde wenn nicht anders beschrieben 3-Nitrobenzylalkohol (NBA) verwendet. An diesem Gerät wurden auch CI-Spektren mit *i*-Butan aufgenommen.

Infrarotspektroskopie:

Die IR-Spektren, die einen Wellenzahlbereich von 4000 - 400 cm^{-1} erfassen, wurden an einem BIO-RAD Excalibur FTS 3000 FT-IR-Spektrometer aufgenommen. Als Trägersubstanz der Preßlinge diente Kaliumbromid.

UV/VIS-Spektroskopie:

Die photometrischen Titrations und kinetischen Messungen erfolgten mit einem Specord S100 UV/VIS-Spektrophotometer der Firma Carl Zeiss.

Röntgenstrukturanalysen:

Die Messung der Reflexintensitäten erfolgte mit einem Bruker AXS CCD Smart 1000 Diffraktometer mit Mo- K_{α} -Strahlung und Graphitmonochromator. Nach Absorptionskorrektur mit SADABS wurde die Strukturlösung und -verfeinerung mit dem Programmpaket SHELXTL-PLUS im Anorganisch-Chemischen Institut der Universität Heidelberg durchgeführt.

Chromatographie:

Zur Säulenchromatographie wurde Merck 60 Kieselgel (0.040-0.063 mm) oder Aluminiumoxid der Aktivitätsstufe 2 verwendet, die R_f -Werte wurden mit Macherey-Nagel Polygram SIL G/UV₂₅₄ bzw. Polygram ALOX G/UV₂₅₄ DC-Platten ermittelt. Detektion fand mit Hilfe von UV-Licht der Wellenlänge 254 nm statt. Die verwendeten Laufmittel sind beim jeweiligen Versuch mit angegeben.

Reaktionskinetische Analyse durch High-Throughput-Screening:

Ein Teil der kinetischen Untersuchungen wurde in Mikrotiterplatten mit einem Spektrophotometer „Spectrafluor plus“ der Firma Tecan durchgeführt. Die Reaktionslösungen

wurden mit einem Pipettierroboter (Genesis 150 workstation) der Firma Tecan hergestellt. Diese Messungen wurden ebenfalls am Anorganisch- Chemischen Institut der Universität Heidelberg durchgeführt.

8.2 Umgang mit feuchtigkeitsempfindlichen Substanzen

Alle Reaktionen, bei denen feuchtigkeitsempfindliche Reagenzien wie Natriummethanolat eingesetzt wurden, wurden in unter Ölpumpenvakuum ausgeheizten Apparaturen durchgeführt. Als Schutzgasatmosphäre wurde N_2 (99.996 %) oder Ar (99.996 %) verwendet.

8.3 Chemikalien

Die eingesetzten wasserfreien Lösungsmittel wurden bei der Firma Sigma-Aldrich erworben. Deuterierte Lösungsmittel wurden von der Firma Deutero GmbH bezogen

8.4 Arbeitsvorschriften

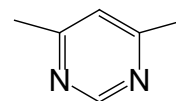
8.4.1 Synthese der Liganden L^1 , L^2 und ihrer Vorstufen

8.4.1.1 Darstellung von 4,6-Dimethylpyrimidin ^[21]

In einem 1000 mL Zweihalskolben mit Rückflusskühler und Tropftrichter wurden 250 g (5.55 mol) Formamid mit 7 g Wasser vorgelegt. Bei einer Ölbadtemperatur von 195 °C wurde innerhalb von 2 Stunden eine Mischung aus 67 g (0.67 mol) Acetylaceton und 95 g (2.11 mol) Formamid zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde noch weitere 5 Stunden unter Rückfluß gerührt. Während der Reaktion färbte sich die Lösung von hellgelb zu tief orange. Nach beendeter Reaktion wurde die Lösung auf 80 °C abgekühlt und mit einer Lösung von 20 g Natriumhydroxid in 100 mL Wasser versetzt. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nun wurde mit 3 mal 150 mL $CHCl_3$ extrahiert und 1 Stunde über $MgSO_4$ getrocknet. Anschließend wurde am Rotationsverdampfer das Lösungsmittel entfernt. Man erhielt eine

orange Lösung. Das Rohprodukt wurde einer zweifachen Destillation unterworfen. Zur Destillation betrug die Ölbadtemperatur 180 °C. Die erste Fraktion wurde verworfen. Nach Anlegen eines leichten Vakuums (200 – 500 mbar) wurde das farblos bis leicht gelbliche Produkt erhalten. Dieses wurde nochmals wie oben beschrieben destilliert. Die Verbindung wurde als farblose Flüssigkeit erhalten.

$C_6H_8N_2$, $M = 108.14$ g/mol



Ausbeute: 26 g (0.24 mmol, 36 % d Th.)

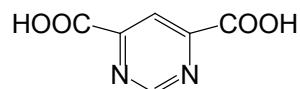
1H -NMR (200 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 6.97$ (s, 1H, Pm); 8.85 (s, 1H, Pm); 2.45 (s, 6H, CH_3).

8.4.1.2 Darstellung von Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure ^[22]

In einem 1000 mL Becherglas wurden 5.1 g (47.2 mmol) 4,6-Dimethylpyrimidin in 600 mL Wasser gelöst und mit 2.5 g NaOH versetzt. Diese Lösung wurde auf 75 °C erwärmt. Innerhalb einer Stunde wurden in 4 Portionen 31.8 g (0.20 mol) $KMnO_4$ zugegeben.

Die dunkelviolette Suspension wurde weitere 4 Stunden bei 75 °C gerührt, nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde anschließend über Nacht gerührt. Die Suspension wurde wieder auf 75 °C erwärmt und viermal mit 1 mL Formamid innerhalb einer Stunde versetzt, um überschüssiges $KMnO_4$ zu reduzieren. Vom entstandenen Braunstein wurde heiß filtriert und dieser mit 300 mL Wasser und 1 g NaOH bei 75 °C für 1 Stunde gerührt und erneut filtriert. Die erhaltenen farblosen Lösungen werden am Rotationsverdampfer auf 200 mL eingeeengt. Anschließend wurde mittels konz. HCl der pH-Wert auf 1 eingestellt. Es wurde noch 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt, wobei ein weißer Feststoff ausfiel. Dieser wurde im Exikkator über $CaCl_2$, anschließend im HV getrocknet. Die Verbindung wurde als weißer Feststoff erhalten.

$C_6H_4N_2O_2$, $M = 168.11$ g/mol



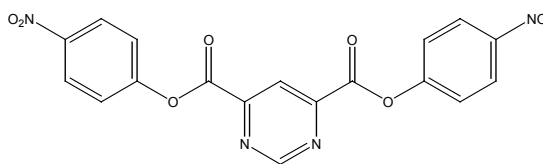
Ausbeute: 2 g (11.89 mmol, 25.2 % d. Th.)

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO): d = 9.22 (s, 1H, Pm); 8.26 (s, 1H, Pm).

8.4.1.3 Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure-bis-(4-nitrophenyl)ester ^[37]

1.28 g Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure (7.61 mmol) werden in 35 ml DMF gelöst und unter Eiskühlung mit 4.05 ml Benzolsulfonsäurechlorid (16.5 mmol) innerhalb einer Stunde versetzt. Nach einer Stunde rühren werden 2.55 g *p*-Nitrophenol (18.33 mmol) zugegeben. Man lässt die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur erwärmen und rührt 2 Tage. Es wird vom unlöslichen Niederschlag abfiltriert und dann in 80 ml Wasser gegeben. Dabei fällt das Produkt als leicht gelblicher Niederschlag an und wird abfiltriert. Zur Reinigung wird in 100 ml Chloroform gelöst und mit einer wässrigen Natriumcarbonat-Lösung gewaschen.

Ausbeute: 1.91 g (4.65 mmol, 61% d.Th.)



$\text{C}_{18}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_8$: $M = 410.29$ g/mol

Elementaranalyse:

$\text{C}_{18}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_8 \cdot \text{H}_2\text{O}$

	C	H	N
berechnet	50.48	2.82	13.08
gefunden	50.94	2.77	12.63

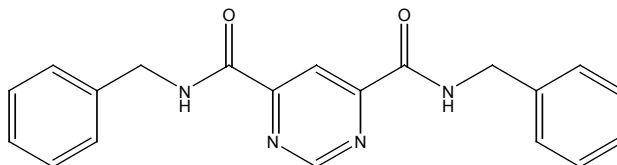
$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): 9.78 (d, 1H, $J_{2,5} = 1.2$ Hz, Pm), 8.94 (d, 1 H, $J_{2,5} = 1.2$ Hz, Pm), 8.39 (d, 4 H, $J_{2,3} = 8.7$ Hz, Ph-3), 7.52 (d, 4 H, $J_{2,3} = 8.7$ Hz, Ph-2).

8.4.1.4 Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure-bis-benzylamid

1.37 g Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure (8.15 mmol) werden mit 1.37 g 1,1'-Carbonyldiimidazol (8.45 mmol) in 140 ml DMF abs. suspendiert und 2 h bei 100° gerührt. Dann werden 850 ml Benzylamin (8.09 mmol) zugegeben und bei 100° für 20 h gerührt. Es wird vom Niederschlag

abfiltriert und das Lösungsmittel weitgehend abrotiert. Nach Zugabe von 100 ml Wasser wird der entstandene gelbe Niederschlag abfiltriert und mit Wasser gewaschen und getrocknet

Ausbeute: 0.31 g (0.895 mmol, 22.1 % d. Th.)



$C_{20}H_{18}N_4O_2$: M = 346.38 g/mol

Elementaranalyse:

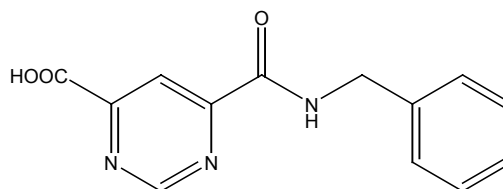
$C_{20}H_{18}N_4O_2$

	C	H	N
gefunden	69.44	5.41	15.73
berechnet	69.35	5.24	16.17

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO): 9.70 (t, 2 H, J = 6.3 Hz, NH), 9.46 (s, 1 H, Pm), 8.47 (s, 1 H, Pm), 7.38-7.17 (m, 10 H, Ph), 4.52 (d, 4 H, J = 6.3 Hz, CH₂)

8.4.1.5 6-Benzylcarbamoyl-pyrimidin-4-carbonsäure ^[36]

0.50 g Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure (2.97 mmol) werden mit 0.50 g 1,1'-Carbonyldiimidazol (3.08 mmol) in 50 ml abs. DMF bei 100° für 2 h gerührt. Danach werden 310 ml Benzylamin (2.95 mmol) tropfenweise zugegeben und für 16 h bei 100° gerührt. Die Reaktionsmischung wird vom unlöslichen abfiltriert, anschließend einrotiert und mit 30 ml Wasser versetzt. Das ausgefallene Diamid wird abfiltriert und die wässrige Lösung anschließend mit Salzsäure auf pH 2 gebracht. Dabei fällt das gewünschte Produkt als weißgelber Niederschlag aus, der abfiltriert und mit Wasser gewaschen wird.



Ausbeute: 0.17 g (0.66 mmol, 22.4 % d. Th.)

$C_{13}H_{11}N_3O_3$: $M = 257.24 \text{ g/mol}$

Elementaranalyse:

$C_{13}H_{11}N_3O_3$

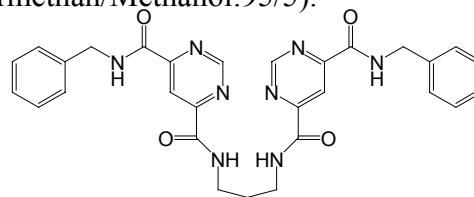
	C	H	N
gefunden	60.43	4.41	16.38
berechnet	60.70	4.31	16.33

1H -NMR (200 MHz, DMSO): 9.73 (t, 1 H, $J = 6.4 \text{ Hz}$, NH), 9.50 (s, 1 H, Pm), 8.42 (s, 1 H, Pm), 7.35-7.20 (m, 5 H, Ph), 4.52 (d, 2 H, $J = 6.4 \text{ Hz}$, CH_2)

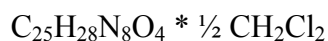
8.4.1.6 Bis-N-[4-(N-benzylformamid)-pyrimidin-6-carbonyl]-1,3-diaminopropan (L^1)

In 10 mL DMF wurden 1.2 g (4.6 mmol) 6-Benzylcarbamoyl-pyrimidin-4-carbonsäure gelöst. Nach Zugabe von 0.75 g (4.6 mmol) 1,1'-Carbonyldiimidazol wurde die Mischung für 1.5 Stunden auf $100 \text{ }^\circ\text{C}$ erhitzt. Nun wurden 0.17 g (2.3 mmol) 1,3-Diaminopropan zugegeben und für weitere 10 Stunden bei $100 \text{ }^\circ\text{C}$ gerührt. Nach Abkühlen der Lösung wurden 10 mL Wasser zugegeben, dabei fiel ein weißer Feststoff aus, der verworfen wurde. Die Lösung wurde mit Chloroform extrahiert. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt konnte als gelber Feststoff erhalten werden. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch (Kieselgel, Eluent: Dichlormethan/Methanol:95/5).

$C_{25}H_{28}N_8O_4$, $M = 552.6 \text{ g/mol}$



Ausbeute: 0.74 g (1.34 mmol, 58.1 % d. Th.).

Elementaranalyse

	C	H	N
gefunden	59.89	4.96	18.99
berechnet	59.54	4.91	18.83

¹H-NMR (200 MHz, DMSO): 9.69 (t, 2H, J = 6.0 Hz, NH), 9.45 (s, 2 H, Pm), 9.29 (t, 2 H, J = 6.0 Hz, NH), 8.46 (s, 2 H, Pm), 7.36-7.19 (m, 10 H, Ph), 4.52 (d, 4 H, J = 6.2 Hz, Ph-CH₂), 3.40 (m, 4 H, a-CH₂), 1.81 (t, 2 H, J_{2,3} = 6.2 Hz, b-CH₂)

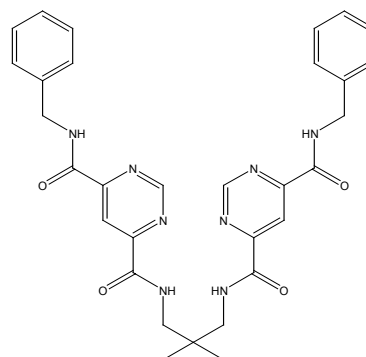
MS (FAB+) m/z (%): 553 (100) [M⁺+H], 575 (50) [M⁺+Na].

8.4.1.7 Bis-N-[4-(N-benzylformamid)-pyrimidin-6-carbonyl]-1,3-diamino-2,2-dimethylpropan (L²)

In 40 mL DMF wurden 0.39 g (1.4 mmol) 6-Benzylcarbamoyl-pyrimidin-4-carbonsäure gelöst. Nach Zugabe von 0.23 g (1.4 mmol) 1,1'-Carbonyldiimidazol wurde die Mischung für 1.5 Stunden auf 100 °C erhitzt. Nun wurden 0.072 g (0.7 mmol) 1,3-Diamino-2,2-dimethylpropan zugegeben und für weitere 10 Stunden bei 100 °C gerührt. Nach Abkühlen der Lösung wurden 10 mL Wasser zugegeben, dabei fiel ein weißer Feststoff aus, der verworfen wurde. Die Lösung wurde mit Chloroform gewaschen. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt konnte als gelber Feststoff erhalten werden. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch (Kieselgel, Eluent: Dichlormethan/Methanol:95/5).

Ausbeute: 0.07 g (0.12 mmol, 17.2 % d. Th.)

$\text{C}_{31}\text{H}_{32}\text{N}_8\text{O}_4$: M = 580.64 g/mol



$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO): 9.61 (t, 2 H, $J = 6.0$ Hz, NH), 9.39 (s, 2 H, Pm), 9.35 (t, 2 H, $J = 6.0$ Hz, NH), 8.39 (s, 2 H, Pm), 7.23-7.10 (m, 10 H, Ph), 4.45 (d, 4 H, $J = 6.0$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 3.04 (d, 4 H, $J = 6.0$ Hz, $\alpha\text{-CH}_2$), 1.11 (s, 6 H, CH_3)

MS (FAB+) m/z (%): 581.5 (52) $[\text{M}+\text{H}]$, 603.5 (25) $[\text{M}+\text{Na}]$

8.4.2 Synthese von L^3 und dessen Vorstufen

8.4.2.1 Synthese des 2-Aminomethyl-2-methylpropan-1,3-diamin (1,1,1-Tris(aminomethyl)ethan, TAME)

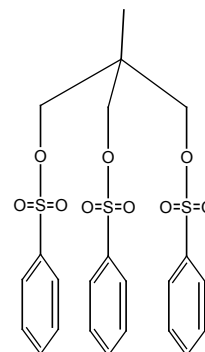
8.4.2.1.1 Synthese von 1,3-Bis-benzolsulfonyloxy-2-benzolsulfonyloxymethyl-2-methylpropan ^[43]

Zu einer Lösung von 12.6 g 2-Hydroxymethyl-2-methyl-propan-1,3-diol (0.1049 mol) in 55 ml Pyridin werden bei 10° innerhalb von 3 Stunden 48 ml Benzolsulfonsäurechlorid (0.196 mol) zuge tropft. Danach wird für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zur Reaktionsmischung wird langsam ein Gemisch von 100 ml Wasser, 200 ml Methanol und 80 ml konz. Salzsäure gegeben. Dabei fällt das Produkt weiß aus. Dieses wird abfiltriert und mit Wasser und wenig Methanol gewaschen. Anschließend wird im Vakuum für mehrere Stunden getrocknet.

Ausbeute: 49.6 g (0.0918 mol, 87.6 % d. Th.)

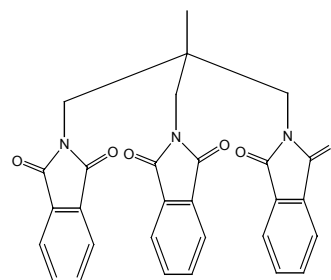
$\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_9\text{S}_3$, $M = 540.63$ g/mol

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 8.0 - 7.4 (m, 15 H, ph), 3.85 (s, 6 H, CH_2), 0.90 (s, 2 H, CH_3)



8.4.2.1.2 Synthese von 2-Methyl-1,3-diphtalimido-2-phthalimidomethylpropan ^[44]

14.5 g 1,3-Bis-benzolsulfonyloxy-2-benzolsulfonyloxymethyl-2-methylpropan (26.82 mmol) werden in 165 ml absolutem DMF unter Schutzgasatmosphäre gelöst. 115 g Kaliumphthalimid werden zugegeben und bei 170° für 3 Stunden gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das ausgefallene Produkt abfiltriert und zuerst mit Methanol/DMF 1:1 dann mit Wasser gewaschen. Zur Trocknung wurde zuerst mit Methanol, dann mit Diethylether gewaschen und für mehrere Stunden im Vakuum getrocknet. Das Produkt fällt mit 1/3 DMF im Kristall an.



Ausbeute: 3.67 g (7.24 mmol, 27 % d. Th.)

$C_{29}H_{21}N_3O_6$, $M = 507.49$ g/mol

1H -NMR ($CDCl_3$): 7.90 (m, 12 H, ph), 3.87 (s, 6 H, CH_2), 0.98 (s, 3 H, CH_3)

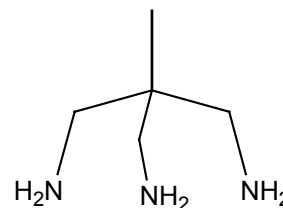
8.4.2.1.3 Synthese von 2-Aminomethyl-2-methylpropan-1,3-diamin (1,1,1-Tris(aminomethyl)ethan, TAME) ^[45]

Eine Mischung aus 9.6 g 2-Methyl-1,3-diphtalimido-2-phthalimidomethylpropan (18 mmol) und 12.8 g KOH in 20 ml Wasser werden in einem Autoklaven bei 200° für 16 Stunden erhitzt (ca. 25 bar Druck). Die farblose Lösung wird mit Salzsäure auf pH 3 gebracht und mit 1 l Wasser verdünnt. Diese Lösung wird auf eine Kationentauschersäule (protonierte Form) aufgebracht. Zuerst wird mit Wasser gewaschen, dann mit 1 N HCl, um Verunreinigungen zu entfernen. Das Hydrochlorid des Triamins wird schließlich mit 3 N HCl von der Säule gewaschen. Die Produktfraktionen werden einrotiert und mit wenig Wasser:Methanol 1:2 gewaschen.

Die freie Base wird durch äquivalente Zugabe von Natronlauge freigesetzt und dann aus der wässrigen Lösung mit Chloroform extrahiert. Nach Abrotieren des organischen Lösungsmittels erhält man das viskose gelbliche Produkt.

Ausbeute: 1.68 g (16.4 mmol, 79.6 % d. Th.)

$C_5H_{15}N_3$, $M = 117,19$ g/mol

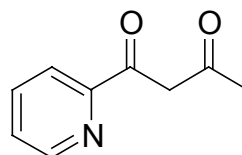


8.4.2.2 Synthese von L³

8.4.2.2.1 Synthese von 1-Pyridin-2-yl-butan-1,3-dion ^[46]

In einer ausgeheizten Apparatur wird unter Stickstoff bei 0°C eine Mischung aus 15.1g (0.1 mol) Pyridin-2-carbonsäureethylester (Ethylpicolinat) und 6.97g (0.12 mol) absolutem Aceton zu einer Suspension aus Natriumethylat (0.96%, 70.9g, 0.1 molar) in 25 ml THF abs. getropft. Nach Beendigung der Zugabe wird die Mischung zunächst eine halbe Stunde bei Raumtemperatur gerührt und danach 2 h refluxiert. Nach der Hydrolyse des Natriumsalzes mit 7.2 g (0.12 mol) Essigsäure und 45 ml Wasser wird das THF abdestilliert. Der ölige Rückstand samt wäßrigem Überstand werden mit viermal 70 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten Etherphasen werden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das erhaltene Öl wird danach im Vakuum (95-7°C, 0.3 Torr) destilliert und man erhält das Produkt als beige-weißen Feststoff.

Ausbeute: 11.9 g (72.9 mmol, 73% d. Theorie)



Elementaranalyse ($C_9H_9NO_2$: 163.2 g/mol)

	C	H	N
berechnet.	66.25	5.56	8.58
gefunden.	66.20	5.57	8.57

MS(EI) m/z (%): 78 (80) $[C_5H_4N]^+$, 148 (100) $[M-CH_3]^+$, 163.0 (59) $[M]^+$

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 200.13 MHz): 8.65(ddd, Py-6), 8.07(dt, 1H, Py-3), 7.83(td, $J_{3,4}=7.8$ Hz, $J_{4,6}=1.7$ Hz, 1H, Py-4), 7.40 (ddd, $J_{3,5}=1.0$ Hz, $J_{4,5}=7.7$ Hz, $J_{5,6}=4.8$ Hz, 1H, Py-5), 6.82(s, 1H, C-H enol), 2.23 (s, 3H, CH_3)

8.4.2.2.2 Synthese von 4-Methyl-6-pyridin-2-yl-pyrimidin in Anlehnung an Lafferty/Case ^[47,48]

Diese Verbindung wird nach einer modifizierten Literaturmethode von *Lafferty et al.* synthetisiert. Eine Mischung aus 6.8 g 1-Pyridin-2-yl-butan-1,3-dion (41.7 mmol) und 75 ml Formamid wird 6 h gerade zum Rückfluß erhitzt (Das Ölbad sollte eine Temperatur von 210°C nicht überschreiten !). Nach dem Abkühlen werden 200 ml Wasser zugegeben und das Formamid abdestilliert. Im Rückstand verbleibt Picolylamid als Nebenprodukt. Das Destillat wird mit 100ml Wasser versetzt und viermal mit 250 ml Chloroform extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden mit ges. Natriumchlorid-Lsg. gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Elutionsmittel Aceton/Hexan 1/10, $R_f= 0.65$) gereinigt.

Ausbeute: 3.0 g (17.5 mmol, 42% d. Theorie)

Elementaranalyse ($\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N}_3$: 171.2 g/mol)

	C	H	N
berechnet.	70.16	5.30	24.54
gefunden	70.20	5.34	24.58

MS(EI): 171.0 (100) $[\text{M}]^+$

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 200.13 MHz): 9.14(s, Pym-2), 8.70(d, Py-6), 8.46(d, 1H, Py-3), 7.85(td, $J_{3,4}=7.8$ Hz, $J_{4,6}=1.7$ Hz, 1H, Py-4), 7.39 (ddd, $J_{3,5}=0.9$ Hz, $J_{4,5}=7.8$ Hz, $J_{4,5}=4.8$ Hz, 1H, Py-5), 2.62(s, 3H, CH_3)

8.4.2.2.3 Synthese von 6-Pyridin-2-yl-pyrimidin-4-carbonsäure ^[49]

Die Oxidation von 4-Methyl-6-pyridin-2-yl-pyrimidin kann analog zu einer Vorschrift von Sakamoto et. Al durchgeführt werden.

Eine Mischung aus 1.0 g 4-Methyl-6-pyridin-2-yl-pyrimidin (5.84 mmol) und 1.04 g Selendioxid (9.37mmol, 1.6 Äquivalente) in 15 ml absolutem Pyridin wird 6 h refluxiert. Nach dem Abkühlen filtriert man das Selen ab, entfernt das Pyridin am Rotationsverdampfer und nimmt den Rückstand mit 8 ml 1N Natronlauge auf. Nach dem Waschen mit 15 ml Dichlormethan gibt man 8 ml 1N Salzsäure hinzu wodurch ein schmutzig weißer Feststoff ausfällt, der nach dem Waschen mit Wasser im Trockenschrank getrocknet wird (130°C, 3h). Der resultierende Feststoff ist in Methanol, Ethanol und heißem Wasser nicht jedoch in heißem Chloroform löslich.

Ausbeute: 1.01 g (5.02 mmol, 86% d. Theorie)

Elementaranalyse (C₁₀H₇N₃O₂ : 201.2 g/mol)

	C	H	N
berechnet	59.70	3.51	20.89
gefunden	59.53	3.55	20.95

MS(EI): 201.0 (45) [M]⁺, 157.0(100) [M-CO₂]⁺

¹H-NMR(d₆-DMSO, 200.13 MHz): 7.62 (ddd, $J_{3,5}=0.9$ Hz, $J_{4,5}=7.7$ Hz, $J_{4,6}=4.8$ Hz, 1H, Py-5), 8.06(td, $J_{3,4}=7.7$ Hz, $J_{4,6}=1.7$ Hz, 1H, Py-4), 8.49(d, 1H, Py-3), 8.83(ddd, 1H, Py-6), 8.80(d, $J_{2,5}=1.2$ Hz, 1H, Pym-5), 9.45(s, Pym-2)

8.4.2.2.4 Synthese von Tris-N-(4(2-pyridyl)-pyrimidin-6-carbonyl)-2-amino-methylethan (L³)

Zu einer Suspension von 1.50 g 6-Pyridin-2-yl-pyrimidin-4-carbonsäure (7.50 mmol) in einem Gemisch aus 120 ml THF abs. und 30 ml DMF abs. gibt man 1.35 g 1,1'-Carbonyldiimidazol (8.4 mmol) zu und erhitzt eine Stunde unter Rückfluß.

Nach einer Stunde gibt man 0.28 g 2-Aminomethyl-2-methylpropan-1,3-diamin (2.4 mmol) in etwas THF zu und erhitzt weitere 12 Stunden unter Rückfluss. Das Lösungsmittel wird abrotiert und der Rückstand in Chloroform aufgenommen. Nach dem Abfiltrieren wird die Chloroformphase mit NH₄Cl und NaCl_{sat} gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und einrotiert.

Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisation aus Aceton und Ethanol.

C₃₅H₃₀N₁₂O₃, M = 666.69 g/mol

Ausbeute: 0.496 g (0.744 mmol, 31 % d. Th.)

Elementaranalyse: C₃₅H₃₀N₁₂O₃

	C	H	N
berechnet	63.05	4.54	25.21
gefunden	62.93	4.57	25.30

¹H-NMR (CDCl₃, 200.13 MHz): δ = 9.42 (d, 3 H, Pym-2/5), 9.26 (t, 3 H, NH), 9.23 (d, J_{2,5} = 1.2 Hz, 3 H, Pym-2/5), 8.79 (ddd, 3 H, Py-6), 8.51 (dt, 3 H, Py-3), 7.89 (td, J_{3,4} = 7.9 Hz, J_{4,6} = 1.7 Hz, 3 H, Py-4), 7.44 (ddd, J_{4,5} = 7.9 Hz, J_{5,6} = 4.8 Hz, J_{3,5} = 1.0 Hz, 3 H, Py-5), 3.44 (d, ³J = 6,8 Hz, 6 H, CH₂), 1.62 (s, 3 H, CH₃)

8.4.3. Darstellung von [(L³-3H)Co]

Zu einer Suspension von 200 mg L³ (0.30 mmol) in 10 ml Methanol gibt man 88 mg Co(NO₃)₂ · 6H₂O (0.30 mmol) und 0.9 ml 1 N NaOH (0.9 mmol) und rührt lebhaft 24 h an Luft. Anschließend rotiert man die Reaktionslösung ein und extrahiert den Rückstand mehrfach mit jeweils 20 ml CH₂Cl₂ unter Rückflüssen.

Die organischen Extrakte werden vereinigt, einrotiert und in wenig Chloroform gelöst. Weitere Aufreinigung erfolgt durch präparative Chromatographie auf SiO₂ mit CHCl₃:MeOH 98:2.

Ausbeute: 149 mg (= 69 % der Theorie)

C₃₅H₂₇N₁₂O₃Co, M = 722.60

Elementaranalyse C₃₅H₂₇N₁₂O₃Co·H₂O

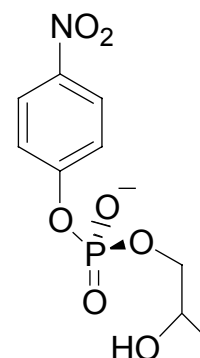
	C	H	N
berechnet	56.76	3.95	22.69
gefunden	56.67	4.08	22.11

¹H-NMR (CDCl₃, 200.13 MHz): δ = 9.21 (3 H), 8.83 (3H), 8.44 (3H), 8.03 (3 H), 7.91 (3 H), 7.51 (3 H), 3.60 (6 H, CH₂), 1.62 (s, 3 H, CH₃)

8.4.4 Synthese von 2-Hydroxypropyl-*p*-nitrophenylphosphat (HPNP)^[86]

Aus einer Lösung von 3.58 g (9.65 mmol) *p*-Nitrophenylphosphat-Dinatriumsalz in 20 ml H₂O wird mit Hilfe einer mit Protonen beladene Austauschersäule (Amberlite IR-120) die freie Säure dargestellt. Das saure, hellgelbe Eluat wird mit konzentrierter NH₃-Lösung auf pH 8 eingestellt. Anschließend wird die Reaktionslösung mit zusätzlich 40 ml (57 mmol) Propylenoxid 2 Tage lang unter Rückfluss auf 35°C erwärmt. Danach wird das überschüssige Propylenoxid am

Rotationsverdampfer entfernt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch auf eine mit Protonen beladene Kationenaustauschersäule gegeben. Das erhaltene saure Eluat wird mit carbonatfreier $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -Lösung neutralisiert (pH 7) und bei Raumtemperatur im Ölpumpenvakuum auf 20 ml eingengt. Reste an freiem Edukt (*p*-Nitrophenylphosphat) werden als Bariumsalz durch die Zugabe von 40 ml Ethanol gefällt und abfiltriert. Das Filtrat wird am Rotationsverdampfer auf 10 ml eingengt und die so konzentrierte Lösung wird unter Rühren zu 300 ml eines Gemisches aus Aceton und Ethanol (10/1) getropft. Der anfallende weiße Feststoff wird abfiltriert und im Ölpumpenvakuum getrocknet.



Ausbeute: 1.57 g (4.56 mmol) 42% d. Theorie

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 300.13 MHz):

δ [ppm]: 1.00 (d, 3H, $\text{CH}_3\text{CHOHCH}_2\text{R}$), 3.72 (m, 1H, $\text{CH}_3\text{CHOHCH}_2\text{R}$), 3.85 (m, 2H, $\text{CH}_3\text{CHOHCH}_2\text{R}$), 7.20 (d, 2H_{ar}), 8.06 (d, 2H_{ar})

8.5 Herstellung der Lösungen für UV/Vis-spektroskopische, massenspektrometrische und reaktionskinetische Untersuchungen

8.5.1 UV/VIS-spektroskopische Untersuchungen

8.5.1.1 Stammlösungen der Liganden L^1 - L^3

Für die spektrophotometrische Titration der Liganden L^1 und L^3 mit verschiedenen Metallsalzen wurden Stammlösungen verwendet, die 10^{-3} M waren. Als Lösungsmittel wurde entweder Chloroform, Methylenchlorid oder DMSO verwendet. Die Lösungen wurden zu Beginn der Titrations mit dem entsprechenden Lösungsmittel auf 10^{-4} M verdünnt.

8.5.1.2 Stammlösungen der Metallsalze

Für die spektrophotometrische Titration der Liganden L^1 und L^3 wurden folgende

Stammlösungen verwendet: 10^{-3} M $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, CuCl_2 , $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$ oder $\text{Pd}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2$ in den bei der entsprechenden Titration angegebenen Lösungsmittel DMSO, Methanol oder Acetonitril.

Die Metallsalzlösungen wurden unverdünnt zutitriert, so dass 1 Äquivalent 100 μl entspricht.

Die UV-Spektren sind bei Cu^{2+} , Ni^{2+} und Co^{2+} nach 5 bis 10 Minuten bei Raumtemperatur, für Pd^{2+} nach 30 Minuten konstant.

8.5.1.3 Titrationsen von $[(\text{L}^3\text{-3H})\text{Co}]$ mit Metallsalzen

Für diese Titrationsen wurde eine 10^{-3} M Metallkomplex-Lösung in Chloroform verwendet. Diese wurde vor den Titrationsen mit weiteren Metallsalzen mit Methanol auf eine Konzentration von 10^{-4} M verdünnt. Die Metallsalze ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{Cu}(\text{OAc})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$ oder $\text{Pd}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2$) wurden in Form einer 10^{-3} M Stammlösung des Metalls in Methanol zutitriert. Im Falle der Titration mit Tetrakis(acetonitril)-Kupfer(I)-hexafluorophosphat wurde für das Metallsalz das Lösungsmittel Acetonitril verwendet.

8.5.1.4 Titrationsen von Metallkomplexen von L^3 mit Aminosäuren

Für diese Titrationsen wurde eine 10^{-3} M Stammlösung von $[(\text{L}^3\text{-3H})\text{Co}]$ in Chloroform mit 3 bzw. 4 Äquivalenten $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ Stammlösung (10^{-3} M in Methanol) versetzt und das 5 fache Volumen an Methanol zugefügt. Diese Lösung wurde nach 2 Stunden zur Trockene eingeeengt und der Rückstand mit Methanol aufgenommen und auf eine Konzentration von 10^{-4} M gebracht. Diese Lösung wurde mit einer 10^{-3} M Aminosäurelösung in Methanol titriert, die pro Säurefunktion der Aminosäure ein Äquivalent Triethylamin enthielt.

8.5.1.5 Titration einer Lösung von $[(\text{L}^3\text{-3H})\text{Co}]$ und verschiedenen Äquivalenten Aminosäure mit einer $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ -Lösung

Eine 10^{-3} M Stammlösung von $[(\text{L}^3\text{-3H})\text{Co}]$ in Chloroform wurde mit einer entsprechenden Stammlösung von einer Aminosäure in Methanol, die pro Säuregruppe der Aminosäure ein

Äquivalent Triethylamin enthielt, versetzt und mit Methanol auf 10^{-4} M verdünnt. Zu dieser Lösung wurde eine $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ Stammlösung in Methanol zutitriert.

8.5.2 Präparation der Lösungen für MALDI- und ESI-MS

Die bei den spektrophotometrischen Untersuchungen erhaltenen Lösungen wurden für ESI Untersuchungen mit Methanol auf $5 \cdot 10^{-6}$ M verdünnt und mit 0.5 % Ameisensäure angesäuert.

Die für das MALDI-MS bestimmten Proben wurden mit gesättigten Lösungen der entsprechenden Matrix auf 10^{-5} M verdünnt, sodass das Verhältnis Matrix:Substrat 1000:1 betrug.

8.5.3. Katalytische Phosphodiestererspaltung

8.5.3.1 Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Cu-Konzentration

Für die Untersuchung der Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Konzentration der Kupferionen wurden folgende Stammlösungen verwendet: 1 mM Lösung von L^3 in DMSO, 2 mM $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 0.2 M MOPS-Puffer (pH 6.8) und 5 mM HPNP in Wasser.

Daraus werden geeignete Mengen zu 2ml einer Reaktionslösung der folgenden Endkonzentrationen zusammenpipettiert: 0.1 mM L^3 , 0.1 bis 1.0 mM Cu^{2+} (1 bis 10 Äquivalente Cu^{2+}), 20 mM MOPS-Puffer (pH 6.9, 200 Äquivalente) und 0.5 mM HPNP (5 Äquivalente) in Wasser:DMSO 3:1, wobei Fehlmengen durch Zugabe der reinen Lösungsmittel ergänzt werden.

Die Zugabe des Substrates selbst startet als letzte Zugabe die Reaktion bei 25°C. Diese wird durch Aufnahme der Änderung der Absorption bei 400 nm verfolgt und dem pH entsprechend ausgewertet.

8.5.3.2 Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit vom pH-Wert

Die pH-Abhängigkeit wird unter Verwendung unterschiedlicher Puffersubstanzen untersucht. Zunächst werden daher folgende Stammlösungen angesetzt: 1 mM Lösung von L^3 in DMSO,

2 mM $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 0.2 M Puffer (optional: MES (bis pH 6.65, 2-(N-Morpholino)ethansulfonsäure-natriumsalz), MOPS (pH > 6.7, 3-(N-Morpholino)propansulfonsäure-natriumsalz)) und 5 mM HPNP in Wasser.

Daraus werden geeignete Mengen zu 2ml einer Reaktionslösung der folgenden Endkonzentrationen zusammenpipettiert: 0.1 mM L^3 , 0.7 mM Cu^{2+} (7 Äquivalente Cu^{2+}), 20 mM eines Puffers (200 Äquivalente) und 0.5 mM HPNP in Wasser:DMSO 3:1, wobei Fehlmengen durch weiteres reines Lösungsmittel ergänzt werden. Die Zugabe des Substrates selbst startet als letzte Zugabe die Reaktion bei 25°C. Diese wird durch Aufnahme der Änderung der Absorption bei 400 nm verfolgt und dem pH entsprechend ausgewertet. Der pH-Wert wird vor und nach der Reaktion kontrolliert.

8.5.3.3 Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Substratkonzentration (Michaelis-Menten-Kinetik)

Die Untersuchungen zur Bestimmung von k_{cat} und K_M werden in Mikrotiterplatten durchgeführt. Der Pipettierroboter stellt dabei die Reaktionslösungen her.

Es werden folgende Stammlösungen verwendet: 0.4 mM $[(\text{L}^3\text{-2H})\text{Cu}_4]^{6+}$ (aus L^3 *in situ* mit 7 Äquivalenten Cu^{2+} gebildet) in DMSO, 0.2 M MOPS-Puffer (pH 6.8) und 10 mM HPNP in Wasser.

Das Protokoll des Pipettierroboters beginnt mit der Erstellung einer Verdünnungsreihe von HPNP (0.8 mM bis 10 mM). Danach werden nacheinander angemessene Mengen der Komponenten (Komplexlösung, Puffer und Substrat) zu 200 μl Reaktionsvolumen zusammenpipettiert. Die Reaktion wird durch die Zugabe des Substrates gestartet und läuft bei 25°C ab. Die Konzentrationen in den Reaktionslösungen betragen: 0.1 mM $[(\text{L}^3\text{-2H})\text{Cu}_4]^{6+}$, 20 mM Puffer, zwischen 0.2 und 2.5 mM HPNP in Wasser:DMSO 3:1. Die Umesterung von HPNP wird spektrophotometrisch bei einer Wellenlänge von 405 nm

($\epsilon = 19500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ für *p*-Nitrophenolat) verfolgt. Die Gesamtkonzentration des Spaltungsproduktes wird unter Berücksichtigung des pH-abhängigen Gleichgewichtes zwischen *p*-Nitrophenol und *p*-Nitrophenolat bei pH 6.8 ($\text{pK}_s = 7.15$) berechnet.

8.5.3.4 Kompetitive Anionenbindung durch Kupfer(II)-Komplexe von L^3

Die Untersuchungen werden ähnlich denen zur Michaelis-Menten-Kinetik mit Hilfe des Pipettierroboters in Mikrotiterplatten durchgeführt. Die HPNP-Konzentration bleibt hier jedoch in allen Fällen gleich.

Folgende Stammlösungen werden hergestellt: 0.4 mM $[(L^3-2H)Cu_4]^{6+}$ (*in situ* aus L^3 mit 7 Äquivalenten Cu^{2+} gebildet) in DMSO, 0.2 M MOPS-Puffer (pH 6.8) und 5 mM HPNP in Wasser. Die Inhibitoren werden als 4, 5, 10 und 20 mM wäßrige Lösungen angeboten. Dabei kommen folgende Metallsalze zum Einsatz: Kaliumdihydrogenphosphat, Kaliumchlorid, Kaliumnitrat, Kaliumoxalat, Kaliumperhenat, Natriumacetat, Natriumchlorid, Natriumfluorid, Natriumhydrogencarbonat, Natriumperchlorat, Natriumsulfat und Natriumtetrafluoroborat.

Der Pipettierroboter gibt angemessene Mengen Komplex, Puffer, Wasser und Inhibitor zusammen, so daß die Reaktion durch Zugabe von HPNP in einem Reaktionsvolumen von 200 μ l gestartet wird. Die Konzentrationen in den Reaktionslösungen bei 25°C betragen: 0.1 mM $[(L^3-H)Cu_4]^{6+}$, 20 mM Puffer, 0.5 mM HPNP und zwischen 0.01 mM bis 5 mM inhibierendes Anion (0.1 bis 50 Äquivalente bezogen auf den Metallkomplex) in Wasser:DMSO 3:1. Die Umesterung von HPNP wird auch hier spektrophotometrisch bei einer Wellenlänge von 405 nm ($\epsilon = 19500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ für *p*-Nitrophenolat) verfolgt. Die Gesamtkonzentration des Spaltungsproduktes wird unter Berücksichtigung des pH-abhängigen Gleichgewichtes zwischen *p*-Nitrophenol und *p*-Nitrophenolat bei pH 6.8 ($pK_s = 7.15$) berechnet.

A. Anhang

A.1 Strukturparameter für $C_{35}H_{30}N_{12}O_3 (L^3) * H_2O$

Tab. A.1.1: Atomkoordinaten ($\times 10^4$) und äquivalente isotrope Temperaturfaktoren [$\text{\AA}^2 \times 10^3$] mit Standardabweichung für Ligand L^3 .

	x	y	z	U(eq)		x	y	z	U(eq)
O(1)	9167(3)	12102(1)	8078(1)	48(1)	C(14)	10369(3)	14968(2)	8040(2)	40(1)
O(3)	5467(3)	8942(1)	7652(1)	48(1)	C(15)	9774(3)	14027(2)	8039(2)	39(1)
O(2)	7582(2)	8003(1)	4660(1)	47(1)	C(16)	10225(3)	13415(2)	7387(2)	38(1)
O(4)	11989(6)	8800(5)	7044(4)	124(3)	C(22)	2409(4)	6767(2)	5465(3)	64(1)
O(5)	11931(12)	7854(9)	7549(7)	152(6)	C(24)	3408(3)	5803(2)	4448(2)	40(1)
N(1)	10023(3)	11838(1)	6695(2)	37(1)	C(25)	4859(3)	6468(2)	4493(2)	38(1)
N(2)	6772(3)	8600(1)	5966(2)	39(1)	C(26)	4978(3)	7279(2)	5078(2)	38(1)
N(3)	7037(3)	10381(2)	7789(2)	37(1)	C(32)	8034(4)	10348(2)	10558(2)	52(1)
N(11)	11130(3)	13693(2)	6745(2)	44(1)	C(34)	6441(3)	8928(2)	10511(2)	38(1)
N(13)	11340(3)	15263(2)	7431(2)	50(1)	C(35)	6074(3)	8888(2)	9559(2)	37(1)
N(21)	3758(3)	7440(2)	5573(2)	52(1)	C(36)	6761(3)	9635(2)	9158(2)	38(1)
N(23)	2172(3)	5957(2)	4941(2)	55(1)	C(42)	9920(3)	15669(2)	8724(2)	44(1)
N(31)	7765(3)	10381(2)	9651(2)	45(1)	C(43)	10973(4)	16520(2)	9002(3)	60(1)
N(33)	7437(3)	9675(2)	11023(2)	48(1)	C(44)	10455(6)	17136(2)	9641(3)	72(1)
N(41)	8463(3)	15421(2)	9041(2)	52(1)	C(45)	8953(6)	16909(2)	9940(3)	70(1)
N(51)	4366(3)	4795(2)	3338(2)	51(1)	C(46)	7995(5)	16046(2)	9631(3)	65(1)
N(61)	4919(3)	7391(2)	10478(2)	51(1)	C(52)	3177(3)	4893(2)	3880(2)	40(1)
C(1)	8125(3)	10275(2)	6278(2)	33(1)	C(53)	1830(4)	4192(2)	3909(2)	48(1)
C(2)	9888(3)	10831(2)	6704(2)	35(1)	C(54)	1696(4)	3362(2)	3350(2)	52(1)
C(3)	9751(3)	12385(2)	7413(2)	37(1)	C(55)	2894(4)	3260(2)	2800(2)	55(1)
C(4)	8334(3)	9248(2)	6309(2)	36(1)	C(56)	4219(4)	3985(2)	2813(2)	58(1)
C(5)	6572(3)	8006(2)	5205(2)	36(1)	C(62)	5781(3)	8157(2)	11013(2)	38(1)
C(6)	6710(3)	10519(2)	6820(2)	35(1)	C(63)	6089(3)	8222(2)	11961(2)	42(1)
C(7)	6367(3)	9627(2)	8123(2)	38(1)	C(64)	5557(4)	7459(2)	12386(2)	48(1)
C(8)	7613(4)	10467(2)	5287(2)	38(1)	C(65)	4702(4)	6659(2)	11853(2)	50(1)
C(12)	11628(4)	14609(2)	6805(2)	52(1)	C(66)	4398(4)	6668(2)	10919(2)	54(1)

Tab. A.1.2: Bindungsabstände [\AA] mit Standardabweichung für Ligand L^3 .

O(1)-C(3) 1.228(3)	N(11)-C(12) 1.333(4)	C(1)-C(8) 1.519(4)	C(14)-C(15) 1.390(3)
O(3)-C(7) 1.236(3)	N(13)-C(14) 1.335(3)	C(1)-C(2) 1.533(3)	C(14)-C(42) 1.491(4)
O(2)-C(5) 1.222(3)	N(13)-C(12) 1.336(4)	C(1)-C(4) 1.535(3)	C(15)-C(16) 1.376(4)
O(4)-O(5) 1.625(13)	N(21)-C(22) 1.332(4)	C(1)-C(6) 1.538(3)	C(15)-H(7) 0.94(3)
O(4)-H(1O4) 1.0021	N(21)-C(26) 1.333(3)	C(2)-H(2A) 0.98(3)	C(22)-H(16) 1.01(3)
O(4)-H(1O5) 1.4134	N(23)-C(22) 1.328(4)	C(2)-H(2B) 0.96(3)	C(24)-C(25) 1.392(3)
O(5)-H(1O5) 1.0377	N(23)-C(24) 1.340(4)	C(3)-C(16) 1.505(3)	C(24)-C(52) 1.480(4)
N(1)-C(3) 1.333(3)	N(31)-C(32) 1.331(4)	C(4)-H(13A) 0.98(3)	C(25)-C(26) 1.385(4)
N(1)-C(2) 1.460(3)	N(31)-C(36) 1.341(3)	C(4)-H(13B) 1.00(3)	C(25)-H(18) 0.95(3)
N(1)-H(1N) 0.87(3)	N(33)-C(32) 1.324(3)	C(5)-C(26) 1.514(3)	C(32)-H(27) 1.04(3)
N(2)-C(5) 1.332(3)	N(33)-C(34) 1.349(3)	C(6)-H(24A) 0.98(2)	C(34)-C(35) 1.387(4)
N(2)-C(4) 1.447(3)	N(41)-C(42) 1.331(4)	C(6)-H(24B) 1.01(2)	C(34)-C(62) 1.482(3)
N(2)-H(5N) 0.81(3)	N(41)-C(46) 1.334(4)	C(7)-C(36) 1.512(4)	C(35)-C(36) 1.374(3)
N(3)-C(7) 1.326(3)	N(51)-C(56) 1.336(4)	C(8)-H(35A) 0.95(3)	C(35)-H(29) 0.96(3)
N(3)-C(6) 1.453(3)	N(51)-C(52) 1.342(4)	C(8)-H(35B) 1.01(3)	C(42)-C(43) 1.390(4)
N(3)-H(9N) 0.84(3)	N(61)-C(66) 1.340(3)	C(8)-H(35C) 0.99(3)	C(43)-C(44) 1.392(5)
N(11)-C(16) 1.334(3)	N(61)-C(62) 1.347(3)	C(12)-H(5) 0.94(3)	C(43)-H(12) 0.99(3)

C(44)-C(45) 1.346(6)	C(53)-C(54) 1.385(4)	C(56)-H(20) 0.99(3)	C(65)-C(66) 1.365(4)
C(44)-H(11) 0.87(4)	C(53)-H(23) 1.01(3)	C(62)-C(63) 1.377(4)	C(65)-H(32) 0.96(3)
C(45)-C(46) 1.380(5)	C(54)-C(55) 1.357(5)	C(63)-C(64) 1.376(4)	C(66)-H(31) 0.90(3)
C(45)-H(10) 0.95(4)	C(54)-H(22) 0.96(3)	C(63)-H(34) 0.95(3)	
C(46)-H(9) 1.03(4)	C(55)-C(56) 1.385(4)	C(64)-C(65) 1.380(4)	
C(52)-C(53) 1.385(4)	C(55)-H(21) 0.89(3)	C(64)-H(33) 0.90(3)	

Tab. A.1.3: Bindungswinkel [$^{\circ}$] mit Standardabweichung für Ligand L^3

O(5)-O(4)-H(104) 75.1	N(2)-C(5)-C(26) 113.9(2)	C(35)-C(34)-C(62) 122.0(2)
O(5)-O(4)-H(105) 39.2	N(3)-C(6)-C(1) 114.4(2)	C(36)-C(35)-C(34) 117.6(2)
H(104)-O(4)-H(105) 46.4	N(3)-C(6)-H(24A) 107.1(14)	C(36)-C(35)-H(29) 122.4(16)
O(4)-O(5)-H(105) 59.3	C(1)-C(6)-H(24A) 112.1(14)	C(34)-C(35)-H(29) 120.1(16)
C(3)-N(1)-C(2) 121.3(2)	N(3)-C(6)-H(24B) 107.4(13)	N(31)-C(36)-C(35) 122.5(2)
C(3)-N(1)-H(1N) 119.9(18)	C(1)-C(6)-H(24B) 109.7(13)	N(31)-C(36)-C(7) 118.2(2)
C(2)-N(1)-H(1N) 116.9(18)	H(24A)-C(6)-H(24B) 105.8(19)	C(35)-C(36)-C(7) 119.3(2)
C(5)-N(2)-C(4) 123.4(2)	O(3)-C(7)-N(3) 124.6(2)	N(41)-C(42)-C(43) 123.3(3)
C(5)-N(2)-H(5N) 116.5(19)	O(3)-C(7)-C(36) 119.5(2)	N(41)-C(42)-C(14) 115.5(2)
C(4)-N(2)-H(5N) 119.2(19)	N(3)-C(7)-C(36) 115.9(2)	C(43)-C(42)-C(14) 121.3(3)
C(7)-N(3)-C(6) 123.4(2)	C(1)-C(8)-H(35A) 112.4(16)	C(42)-C(43)-C(44) 117.5(4)
C(7)-N(3)-H(9N) 120(2)	C(1)-C(8)-H(35B) 108.9(17)	C(42)-C(43)-H(12) 119.4(16)
C(6)-N(3)-H(9N) 117(2)	H(35A)-C(8)-H(35B) 107(2)	C(44)-C(43)-H(12) 123.0(16)
C(16)-N(11)-C(12) 114.8(2)	C(1)-C(8)-H(35C) 109.6(16)	C(45)-C(44)-C(43) 119.8(3)
C(14)-N(13)-C(12) 116.0(2)	H(35A)-C(8)-H(35C) 110(2)	C(45)-C(44)-H(11) 127(3)
C(22)-N(21)-C(26) 115.3(3)	H(35B)-C(8)-H(35C) 109(2)	C(43)-C(44)-H(11) 113(3)
C(22)-N(23)-C(24) 116.7(2)	N(11)-C(12)-N(13) 127.6(3)	C(44)-C(45)-C(46) 118.6(4)
C(32)-N(31)-C(36) 115.0(2)	N(11)-C(12)-H(5) 115.4(18)	C(44)-C(45)-H(10) 122(2)
C(32)-N(33)-C(34) 115.9(2)	N(13)-C(12)-H(5) 116.9(18)	C(46)-C(45)-H(10) 119(2)
C(42)-N(41)-C(46) 117.0(3)	N(13)-C(14)-C(15) 121.1(3)	N(41)-C(46)-C(45) 123.7(4)
C(56)-N(51)-C(52) 117.7(2)	N(13)-C(14)-C(42) 118.7(2)	N(41)-C(46)-H(9) 119(2)
C(66)-N(61)-C(62) 116.2(2)	C(15)-C(14)-C(42) 120.2(2)	C(45)-C(46)-H(9) 117(2)
C(8)-C(1)-C(2) 110.9(2)	C(16)-C(15)-C(14) 117.3(2)	N(51)-C(52)-C(53) 122.5(3)
C(8)-C(1)-C(4) 110.2(2)	C(16)-C(15)-H(7) 120.3(17)	N(51)-C(52)-C(24) 115.3(2)
C(2)-C(1)-C(4) 105.6(2)	C(14)-C(15)-H(7) 122.3(17)	C(53)-C(52)-C(24) 122.2(3)
C(8)-C(1)-C(6) 108.1(2)	N(11)-C(16)-C(15) 122.9(2)	C(52)-C(53)-C(54) 118.7(3)
C(2)-C(1)-C(6) 111.6(2)	N(11)-C(16)-C(3) 117.9(2)	C(52)-C(53)-H(23) 115.1(17)
C(4)-C(1)-C(6) 110.49(19)	C(15)-C(16)-C(3) 119.2(2)	C(54)-C(53)-H(23) 126.1(17)
N(1)-C(2)-C(1) 115.2(2)	N(23)-C(22)-N(21) 127.3(3)	C(55)-C(54)-C(53) 119.0(3)
N(1)-C(2)-H(2A) 110.0(14)	N(23)-C(22)-H(16) 118.7(18)	C(55)-C(54)-H(22) 125(2)
C(1)-C(2)-H(2A) 110.2(14)	N(21)-C(22)-H(16) 113.9(18)	C(53)-C(54)-H(22) 116(2)
N(1)-C(2)-H(2B) 108.0(14)	N(23)-C(24)-C(25) 120.8(3)	C(54)-C(55)-C(56) 119.3(3)
C(1)-C(2)-H(2B) 110.2(14)	N(23)-C(24)-C(52) 117.1(2)	C(54)-C(55)-H(21) 124(2)
H(2A)-C(2)-H(2B) 102(2)	C(25)-C(24)-C(52) 122.0(2)	C(56)-C(55)-H(21) 116(2)
O(1)-C(3)-N(1) 124.5(2)	C(26)-C(25)-C(24) 117.2(2)	N(51)-C(56)-C(55) 122.8(3)
O(1)-C(3)-C(16) 119.5(2)	C(26)-C(25)-H(18) 121.2(15)	N(51)-C(56)-H(20) 116.6(16)
N(1)-C(3)-C(16) 115.9(2)	C(24)-C(25)-H(18) 121.6(15)	C(55)-C(56)-H(20) 120.5(16)
N(2)-C(4)-C(1) 114.3(2)	N(21)-C(26)-C(25) 122.6(2)	N(61)-C(62)-C(63) 123.1(2)
N(2)-C(4)-H(13A) 107.2(15)	N(21)-C(26)-C(5) 117.4(2)	N(61)-C(62)-C(34) 115.4(2)
C(1)-C(4)-H(13A) 111.4(15)	C(25)-C(26)-C(5) 120.0(2)	C(63)-C(62)-C(34) 121.5(2)
N(2)-C(4)-H(13B) 110.2(14)	N(33)-C(32)-N(31) 128.0(3)	C(64)-C(63)-C(62) 118.9(3)
C(1)-C(4)-H(13B) 108.2(14)	N(33)-C(32)-H(27) 117.0(16)	C(64)-C(63)-H(34) 120.9(18)
H(13A)-C(4)-H(13B) 105(2)	N(31)-C(32)-H(27) 114.8(16)	C(62)-C(63)-H(34) 120.2(18)
O(2)-C(5)-N(2) 124.9(2)	N(33)-C(34)-C(35) 121.0(2)	C(63)-C(64)-C(65) 119.1(3)
O(2)-C(5)-C(26) 121.1(2)	N(33)-C(34)-C(62) 117.0(2)	C(63)-C(64)-H(33) 124(2)

C(65)-C(64)-H(33)	117(2)	C(64)-C(65)-H(32)	123.2(19)	C(65)-C(66)-H(31)	121(2)
C(66)-C(65)-C(64)	118.0(3)	N(61)-C(66)-C(65)	124.7(3)		
C(66)-C(65)-H(32)	119(2)	N(61)-C(66)-H(31)	115(2)		

Tab. A.1.4: Anisotrope Temperaturfaktoren [\AA^2] mit Standardabweichung für Ligand L³

	U11	U22	U33	U23	U13	U12		U11	U22	U33	U23	U13	U12
O(1)	74(1)	27(1)	44(1)	-1(1)	30(1)	-8(1)	C(14)	35(1)	30(1)	54(2)	10(1)	2(1)	-2(1)
O(3)	69(1)	34(1)	41(1)	-1(1)	27(1)	-11(1)	C(15)	41(1)	28(1)	49(2)	6(1)	12(1)	-3(1)
O(2)	53(1)	44(1)	39(1)	-7(1)	23(1)	-16(1)	C(16)	36(1)	31(1)	46(2)	7(1)	10(1)	-1(1)
O(4)	65(3)	172(7)	132(5)	-3(5)	2(3)	35(4)	C(22)	50(2)	46(2)	104(3)	12(2)	42(2)	-1(1)
O(5)	106(7)	207(14)	120(8)	8(8)	24(6)	-57(7)	C(24)	35(1)	39(1)	46(2)	18(1)	3(1)	1(1)
N(1)	45(1)	32(1)	37(1)	4(1)	18(1)	-2(1)	C(25)	39(1)	39(2)	35(1)	11(1)	9(1)	-2(1)
N(2)	48(1)	29(1)	44(1)	4(1)	27(1)	-2(1)	C(26)	37(1)	36(1)	42(2)	16(1)	10(1)	0(1)
N(3)	50(1)	29(1)	36(1)	3(1)	21(1)	-1(1)	C(32)	62(2)	45(2)	45(2)	8(1)	10(1)	-13(1)
N(11)	41(1)	40(1)	53(1)	17(1)	17(1)	0(1)	C(34)	36(1)	38(1)	42(2)	9(1)	13(1)	3(1)
N(13)	42(1)	38(1)	69(2)	17(1)	8(1)	-4(1)	C(35)	44(1)	32(1)	37(2)	4(1)	16(1)	0(1)
N(21)	47(1)	37(1)	77(2)	11(1)	30(1)	1(1)	C(36)	44(1)	31(1)	41(2)	4(1)	23(1)	2(1)
N(23)	42(1)	43(1)	83(2)	17(1)	19(1)	0(1)	C(42)	44(2)	24(1)	59(2)	6(1)	-6(1)	0(1)
N(31)	56(1)	35(1)	43(1)	5(1)	17(1)	-6(1)	C(43)	57(2)	27(2)	86(2)	5(2)	-8(2)	-6(1)
N(33)	52(1)	46(1)	43(1)	8(1)	9(1)	-10(1)	C(44)	85(3)	22(2)	91(3)	-5(2)	-27(2)	0(2)
N(41)	57(2)	32(1)	63(2)	-9(1)	10(1)	1(1)	C(45)	81(3)	43(2)	78(3)	-15(2)	-11(2)	16(2)
N(51)	51(1)	46(1)	52(2)	6(1)	9(1)	-12(1)	C(46)	72(2)	45(2)	74(2)	-13(2)	10(2)	8(2)
N(61)	54(1)	48(1)	45(1)	13(1)	10(1)	-14(1)	C(52)	36(1)	39(2)	44(2)	16(1)	-1(1)	-3(1)
C(1)	39(1)	28(1)	33(1)	4(1)	14(1)	1(1)	C(53)	38(2)	40(2)	64(2)	17(1)	3(1)	-2(1)
C(2)	41(1)	33(1)	33(1)	2(1)	14(1)	4(1)	C(54)	42(2)	39(2)	72(2)	12(2)	2(2)	-5(1)
C(3)	43(1)	29(1)	38(1)	2(1)	15(1)	-4(1)	C(55)	58(2)	42(2)	57(2)	5(2)	-1(2)	-6(1)
C(4)	44(2)	32(1)	33(2)	2(1)	15(1)	4(1)	C(56)	59(2)	54(2)	56(2)	2(2)	13(2)	-10(2)
C(5)	43(1)	32(1)	34(1)	7(1)	14(1)	-1(1)	C(62)	31(1)	45(2)	41(2)	13(1)	11(1)	1(1)
C(6)	43(2)	29(1)	38(1)	6(1)	17(1)	3(1)	C(63)	39(1)	49(2)	39(2)	10(1)	11(1)	2(1)
C(7)	52(2)	29(1)	38(2)	4(1)	24(1)	3(1)	C(64)	46(2)	60(2)	41(2)	19(2)	12(1)	4(1)
C(8)	42(2)	38(2)	36(2)	8(1)	13(1)	0(1)	C(65)	45(2)	52(2)	56(2)	28(2)	14(1)	1(1)
C(12)	47(2)	48(2)	65(2)	24(2)	22(2)	0(1)	C(66)	56(2)	49(2)	52(2)	14(2)	9(1)	-14(2)

Tab. A.1.5: Koordinaten der Wasserstoffatome ($\times 10^4$) und anisotropen Temperaturfaktoren ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) für Ligand L³

	x	y	z	U(eq)					
H(24A)	5580(3)	10157(17)	6556(16)	31(6)	H(1N)	10540(4)	12079(19)	6276(19)	46(8)
H(2A)	10230(3)	10682(17)	7333(18)	35(7)	H(35B)	6520(4)	10040(20)	5010(20)	62(9)
H(18)	5750(3)	6366(17)	4146(17)	35(7)	H(12)	12030(4)	16669(19)	8728(18)	45(8)
H(24B)	6570(3)	11193(17)	6785(15)	30(6)	H(22)	690(4)	2910(20)	3360(20)	74(10)
H(13A)	8750(3)	9120(17)	6938(19)	37(7)	H(35C)	8530(4)	10341(19)	4930(19)	53(8)
					H(16)	1510(4)	6900(20)	5850(20)	66(9)
					H(32)	4330(4)	6090(20)	12110(20)	69(10)
					H(34)	6700(4)	8780(20)	12310(20)	54(8)
					H(31)	3830(4)	6160(20)	10550(20)	63(10)
					H(21)	2870(4)	2760(20)	2410(20)	68(10)
					H(9N)	7700(4)	10810(20)	8140(20)	63(10)
					H(33)	5840(4)	7420(20)	13000(20)	68(10)
					H(9)	6910(5)	15860(30)	9920(30)	88(12)
					H(11)	11200(5)	17640(30)	9820(30)	89(12)
					H(10)	8560(5)	17300(30)	10390(30)	86(12)
					H(1O4)	13155	8612	7042	50
					H(1O5)	13049	8335	7647	50

Tab. A.1.6: Torsionswinkel [°] für den Liganden L³

C(3)-N(1)-C(2)-C(1)	93.8(3)	C(62)-C(34)-C(35)-C(36)	-179.4(2)
C(8)-C(1)-C(2)-N(1)	57.1(3)	C(32)-N(31)-C(36)-C(35)	-0.6(4)
C(4)-C(1)-C(2)-N(1)	176.4(2)	C(32)-N(31)-C(36)-C(7)	178.9(2)
C(6)-C(1)-C(2)-N(1)	-63.5(3)	C(34)-C(35)-C(36)-N(31)	0.5(4)
C(2)-N(1)-C(3)-O(1)	-9.5(4)	C(34)-C(35)-C(36)-C(7)	-179.0(2)
C(2)-N(1)-C(3)-C(16)	169.8(2)	O(3)-C(7)-C(36)-N(31)	178.8(2)
C(5)-N(2)-C(4)-C(1)	113.8(3)	N(3)-C(7)-C(36)-N(31)	-1.2(4)
C(8)-C(1)-C(4)-N(2)	-62.5(3)	O(3)-C(7)-C(36)-C(35)	-1.7(4)
C(2)-C(1)-C(4)-N(2)	177.8(2)	N(3)-C(7)-C(36)-C(35)	178.3(2)
C(6)-C(1)-C(4)-N(2)	57.0(3)	C(46)-N(41)-C(42)-C(43)	2.2(4)
C(4)-N(2)-C(5)-O(2)	-8.4(4)	C(46)-N(41)-C(42)-C(14)	-177.8(3)
C(4)-N(2)-C(5)-C(26)	169.1(2)	N(13)-C(14)-C(42)-N(41)	153.5(3)
C(7)-N(3)-C(6)-C(1)	-97.8(3)	C(15)-C(14)-C(42)-N(41)	-26.2(4)
C(8)-C(1)-C(6)-N(3)	-179.2(2)	N(13)-C(14)-C(42)-C(43)	-26.6(4)
C(2)-C(1)-C(6)-N(3)	-57.0(3)	C(15)-C(14)-C(42)-C(43)	153.7(3)
C(4)-C(1)-C(6)-N(3)	60.2(3)	N(41)-C(42)-C(43)-C(44)	-0.3(5)
C(6)-N(3)-C(7)-O(3)	3.7(4)	C(14)-C(42)-C(43)-C(44)	179.8(3)
C(6)-N(3)-C(7)-C(36)	-176.2(2)	C(42)-C(43)-C(44)-C(45)	-2.2(5)
C(16)-N(11)-C(12)-N(13)	0.8(4)	C(43)-C(44)-C(45)-C(46)	2.6(5)
C(14)-N(13)-C(12)-N(11)	-3.5(5)	C(42)-N(41)-C(46)-C(45)	-1.8(5)
C(12)-N(13)-C(14)-C(15)	3.0(4)	C(44)-C(45)-C(46)-N(41)	-0.7(6)
C(12)-N(13)-C(14)-C(42)	-176.7(2)	C(56)-N(51)-C(52)-C(53)	0.0(4)
N(13)-C(14)-C(15)-C(16)	-0.1(4)	C(56)-N(51)-C(52)-C(24)	179.8(3)
C(42)-C(14)-C(15)-C(16)	179.6(2)	N(23)-C(24)-C(52)-N(51)	174.7(2)
C(12)-N(11)-C(16)-C(15)	2.6(4)	C(25)-C(24)-C(52)-N(51)	-6.8(4)
C(12)-N(11)-C(16)-C(3)	-174.8(2)	N(23)-C(24)-C(52)-C(53)	-5.5(4)
C(14)-C(15)-C(16)-N(11)	-2.9(4)	C(25)-C(24)-C(52)-C(53)	173.0(2)
C(14)-C(15)-C(16)-C(3)	174.4(2)	N(51)-C(52)-C(53)-C(54)	-0.7(4)
O(1)-C(3)-C(16)-N(11)	168.4(2)	C(24)-C(52)-C(53)-C(54)	179.6(2)
N(1)-C(3)-C(16)-N(11)	-11.0(4)	C(52)-C(53)-C(54)-C(55)	0.6(4)
O(1)-C(3)-C(16)-C(15)	-9.1(4)	C(53)-C(54)-C(55)-C(56)	0.1(5)
N(1)-C(3)-C(16)-C(15)	171.5(2)	C(52)-N(51)-C(56)-C(55)	0.7(5)
C(24)-N(23)-C(22)-N(21)	-1.5(5)	C(54)-C(55)-C(56)-N(51)	-0.8(5)
C(26)-N(21)-C(22)-N(23)	1.5(5)	C(66)-N(61)-C(62)-C(63)	-1.6(4)
C(22)-N(23)-C(24)-C(25)	0.0(4)	C(66)-N(61)-C(62)-C(34)	176.4(2)
C(22)-N(23)-C(24)-C(52)	178.5(3)	N(33)-C(34)-C(62)-N(61)	-174.4(2)
N(23)-C(24)-C(25)-C(26)	1.3(4)	C(35)-C(34)-C(62)-N(61)	5.0(4)
C(52)-C(24)-C(25)-C(26)	-177.2(2)	N(33)-C(34)-C(62)-C(63)	3.5(4)
C(22)-N(21)-C(26)-C(25)	-0.1(4)	C(35)-C(34)-C(62)-C(63)	-177.0(3)
C(22)-N(21)-C(26)-C(5)	-177.5(3)	N(61)-C(62)-C(63)-C(64)	2.7(4)
C(24)-C(25)-C(26)-N(21)	-1.2(4)	C(34)-C(62)-C(63)-C(64)	-175.1(2)
C(24)-C(25)-C(26)-C(5)	176.2(2)	C(62)-C(63)-C(64)-C(65)	-1.3(4)
O(2)-C(5)-C(26)-N(21)	-165.6(2)	C(63)-C(64)-C(65)-C(66)	-1.1(4)
N(2)-C(5)-C(26)-N(21)	16.7(3)	C(62)-N(61)-C(66)-C(65)	-1.0(5)
O(2)-C(5)-C(26)-C(25)	16.9(4)	C(64)-C(65)-C(66)-N(61)	2.3(5)
N(2)-C(5)-C(26)-C(25)	-160.8(2)		
C(34)-N(33)-C(32)-N(31)	0.4(5)		
C(36)-N(31)-C(32)-N(33)	0.1(5)		
C(32)-N(33)-C(34)-C(35)	-0.5(4)		
C(32)-N(33)-C(34)-C(62)	179.0(3)		
N(33)-C(34)-C(35)-C(36)	0.1(4)		

Tab. A.1.7: Bindungsabstände und –winkel [\AA and $^\circ$] der Wasserstoffbrückenbindungen für Ligand \mathbf{L}^3 .

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	\angle (DHA)
N(2)-H(5N)...O(3)	0.81(3)	2.18(3)	2.870(3)	143(2)
N(1)-H(1N)...O(2)#1	0.87(3)	2.19(3)	2.968(3)	149(2)
N(3)-H(9N)...O(1)	0.84(3)	2.10(3)	2.790(3)	139(3)
O(4)-H(1O4)...O(3)#2	1.00	1.90	2.747(5)	140.8
O(5)-H(1O5)...O(3)#2	1.04	2.00	3.009(9)	162.8

Verwendete Symmetrieeoperationen #1 $-x+2, -y+2, -z+1$ #2 $x+1, y, z$

A.2 Strukturparameter für $[(\mathbf{L}^3\text{-3H})\text{Co}]^* 1.5 \text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$

Tab. A.2.1: Atomkoordinaten ($\times 10^4$) und äquivalente isotrope Temperaturfaktoren [$\text{\AA}^2 \times 10^3$] mit Standardabweichung für Komplex $[(\mathbf{L}^3\text{-3H})\text{Co}]$.

	x	y	z	U(eq)
Co(1)	4260(1)	1572(1)	2433(1)	15(1)
O(1)	5188(1)	2061(1)	986(1)	31(1)
O(2)	6581(2)	325(1)	3558(1)	34(1)
O(3)	1768(1)	-367(1)	2200(1)	22(1)
N(1)	5084(1)	1466(1)	1855(1)	17(1)
N(2)	5163(1)	582(1)	2825(1)	18(1)
N(3)	3321(1)	543(1)	2104(1)	16(1)
N(11)	3467(1)	2592(1)	1960(1)	16(1)
N(13)	2026(2)	3732(1)	1649(1)	21(1)
N(21)	5291(1)	2467(1)	2897(1)	17(1)
N(23)	5987(1)	4000(1)	3287(1)	19(1)
N(31)	3213(1)	1624(1)	2947(1)	17(1)
N(33)	2414(2)	2218(1)	3697(1)	25(1)
N(41)	2345(2)	4830(2)	355(1)	30(1)
N(51)	7877(2)	3604(1)	4559(1)	27(1)
N(61)	-71(2)	882(2)	3773(1)	48(1)
C(1)	4981(2)	-348(2)	1958(1)	19(1)
C(2)	5640(2)	529(2)	1777(1)	21(1)
C(3)	4815(2)	2065(2)	1423(1)	20(1)
C(4)	5194(2)	-411(2)	2591(1)	20(1)
C(5)	5925(2)	854(2)	3248(1)	22(1)
C(6)	3739(2)	-175(2)	1748(1)	18(1)
C(7)	2453(2)	309(2)	2331(1)	17(1)
C(8)	5355(2)	-1313(2)	1719(1)	26(1)
C(12)	2555(2)	3096(2)	2013(1)	19(1)
C(14)	2460(2)	3906(2)	1194(1)	19(1)
C(15)	3419(2)	3424(2)	1105(1)	21(1)
C(16)	3890(2)	2752(2)	1498(1)	18(1)
C(22)	5352(2)	3458(2)	2906(1)	18(1)
C(24)	6621(2)	3510(2)	3701(1)	19(1)
C(25)	6631(2)	2472(2)	3721(1)	24(1)
C(26)	5956(2)	1972(2)	3305(1)	21(1)
C(32)	3175(2)	2228(2)	3376(1)	23(1)
C(34)	1610(2)	1536(2)	3581(1)	22(1)
C(35)	1555(2)	900(2)	3128(1)	21(1)
C(36)	2379(2)	968(2)	2815(1)	17(1)
C(42)	1879(2)	4643(2)	800(1)	22(1)
C(43)	936(2)	5118(2)	904(1)	26(1)
	x	y	z	U(eq)
C(44)	473(2)	5851(2)	537(1)	35(1)
C(45)	959(3)	6064(2)	88(1)	40(1)
C(46)	1877(3)	5530(2)	8(1)	39(1)
C(52)	7293(2)	4114(2)	4139(1)	20(1)
C(53)	7303(2)	5150(2)	4105(1)	23(1)
C(54)	7941(2)	5679(2)	4523(1)	26(1)
C(55)	8543(2)	5163(2)	4960(1)	27(1)
C(56)	8489(2)	4135(2)	4958(1)	30(1)
C(62)	788(2)	1467(2)	3951(1)	28(1)
C(63)	939(2)	1977(2)	4453(1)	34(1)
C(64)	158(3)	1842(2)	4792(1)	42(1)
C(65)	-727(3)	1254(3)	4609(1)	59(1)
C(66)	-826(3)	801(4)	4099(1)	67(1)
N(71)	6883(3)	3467(3)	1512(2)	30(1)
O(71)	6347(3)	3726(3)	1871(2)	41(1)
O(72)	6665(3)	3731(3)	1032(2)	38(1)
C(71)	7799(5)	2834(5)	1687(2)	24(1)
C(72)	7857(6)	2207(6)	2139(2)	24(1)
C(73)	8749(7)	1568(6)	2277(3)	37(2)
C(74)	9583(7)	1557(7)	1963(4)	41(3)
C(75)	9526(6)	2185(8)	1511(3)	43(3)
C(76)	8634(6)	2823(6)	1373(2)	25(1)
N(71A)	10309(4)	2114(3)	1317(2)	30(1)
O(71A)	11128(3)	1600(3)	1452(2)	34(1)

O(72A)	10180(4)	2671(4)	912(2)	54(1)	N(81)	11241(3)	1590(3)	528(2)	34(1)
C(71A)	9479(7)	2096(9)	1650(4)	29(2)	O(81)	11059(4)	2411(3)	322(2)	46(1)
C(72A)	9539(9)	1392(8)	2067(5)	33(2)	O(82)	11924(3)	1446(3)	950(2)	41(1)
C(73A)	8710(10)	1340(7)	2383(4)	49(3)	C(81)	10613(3)	773(3)	238(2)	65(1)
C(74A)	7822(8)	1991(8)	2283(4)	81(5)	C(82)	9870(3)	930(4)	-246(2)	73(1)
C(75A)	7763(7)	2695(7)	1866(4)	85(5)	C(83)	10746(4)	-132(4)	485(2)	74(1)
C(76A)	8591(8)	2747(7)	1550(3)	65(4)					

Tab. A.2.2: Bindungsabstände [\AA] mit Standardabweichung für Komplex $[(\text{L}^3\text{-3H})\text{Co}]$.

Co(1)-N(2)	1.8898(17)	C(1)-C(8)	1.530(3)	C(43)-H(43)	0.90(3)	C(75)-C(76)	1.3900
Co(1)-N(1)	1.8921(17)	C(1)-C(4)	1.539(3)	C(44)-C(45)	1.377(4)	C(75)-H(75)	0.9500
Co(1)-N(3)	1.8937(17)	C(1)-C(2)	1.542(3)	C(44)-H(44)	0.90(3)	C(76)-H(76)	0.9500
Co(1)-N(11)	1.9508(17)	C(1)-C(6)	1.546(3)	C(45)-C(46)	1.382(4)	N(71A)-O(71A)	
Co(1)-N(31)	1.9604(17)	C(2)-H(2A)	0.95(3)	C(45)-H(45)	0.96(3)		1.221(6)
Co(1)-N(21)	1.9675(17)	C(2)-H(2B)	0.99(2)	C(46)-H(46)	0.99(3)	N(71A)-O(72A)	
O(1)-C(3)	1.241(3)	C(3)-C(16)	1.505(3)	C(52)-C(53)	1.396(3)		1.237(6)
O(2)-C(5)	1.237(3)	C(4)-H(4A)	0.94(3)	C(53)-C(54)	1.380(3)	N(71A)-C(71A)	
O(3)-C(7)	1.245(2)	C(4)-H(4B)	1.01(3)	C(53)-H(53)	0.89(3)		1.418(8)
N(1)-C(3)	1.331(3)	C(5)-C(26)	1.511(3)	C(54)-C(55)	1.384(3)	O(71A)-O(82)	1.719(6)
N(1)-C(2)	1.464(3)	C(6)-H(6A)	0.98(2)	C(54)-H(54)	0.94(3)	C(71A)-C(72A)	1.3900
N(2)-C(5)	1.328(3)	C(6)-H(6B)	0.99(2)	C(55)-C(56)	1.385(4)	C(71A)-C(76A)	1.3900
N(2)-C(4)	1.459(3)	C(7)-C(36)	1.502(3)	C(55)-H(55)	1.01(3)	C(72A)-C(73A)	1.3900
N(3)-C(7)	1.328(3)	C(8)-H(8A)	0.98(3)	C(56)-H(56)	0.94(3)	C(72A)-H(72A)	0.9500
N(3)-C(6)	1.459(3)	C(8)-H(8B)	0.97(3)	C(62)-C(63)	1.398(4)	C(73A)-C(74A)	1.3900
N(11)-C(12)	1.338(3)	C(8)-H(8C)	1.02(3)	C(63)-C(64)	1.392(4)	C(73A)-H(73A)	0.9500
N(11)-C(16)	1.350(3)	C(12)-H(12)	1.00(2)	C(63)-H(63)	1.02(3)	C(74A)-C(75A)	1.3900
N(13)-C(12)	1.327(3)	C(14)-C(15)	1.399(3)	C(64)-C(65)	1.359(5)	C(74A)-H(74A)	0.9500
N(13)-C(14)	1.344(3)	C(14)-C(42)	1.482(3)	C(64)-H(64)	0.99(3)	C(75A)-C(76A)	1.3900
N(21)-C(22)	1.336(3)	C(15)-C(16)	1.377(3)	C(65)-C(66)	1.383(5)	C(75A)-H(75A)	0.9500
N(21)-C(26)	1.358(3)	C(15)-H(15)	0.95(3)	C(65)-H(65)	0.88(4)	C(76A)-H(76A)	0.9500
N(23)-C(22)	1.331(3)	C(22)-H(22)	0.91(2)	C(66)-H(66)	0.94(4)	N(81)-O(81)	1.220(6)
N(23)-C(24)	1.345(3)	C(24)-C(25)	1.398(3)	N(71)-O(72)	1.219(5)	N(81)-O(82)	1.235(6)
N(31)-C(32)	1.341(3)	C(24)-C(52)	1.485(3)	N(71)-O(71)	1.243(5)	N(81)-C(81)	1.458(5)
N(31)-C(36)	1.351(3)	C(25)-C(26)	1.377(3)	N(71)-C(71)	1.420(7)	C(81)-C(83)	1.359(7)
N(33)-C(32)	1.326(3)	C(25)-H(25)	0.94(3)	C(71)-C(72)	1.3900	C(81)-C(82)	1.389(6)
N(33)-C(34)	1.344(3)	C(32)-H(32)	0.97(2)	C(71)-C(76)	1.3900	C(82)-C(83)#1	1.385(5)
N(41)-C(46)	1.335(3)	C(34)-C(35)	1.399(3)	C(72)-C(73)	1.3900	C(82)-H(82)	1.02(4)
N(41)-C(42)	1.346(3)	C(34)-C(62)	1.480(3)	C(72)-H(72)	0.9500	C(83)-C(82)#1	1.385(5)
N(51)-C(56)	1.338(3)	C(35)-C(36)	1.379(3)	C(73)-C(74)	1.3900	C(83)-H(83)	0.94(4)
N(51)-C(52)	1.342(3)	C(35)-H(35)	0.95(3)	C(73)-H(73)	0.9500		
N(61)-C(62)	1.331(4)	C(42)-C(43)	1.388(3)	C(74)-C(75)	1.3900		
N(61)-C(66)	1.336(4)	C(43)-C(44)	1.393(3)	C(74)-H(74)	0.9500		

Tab. A.2.3: Bindungswinkel [$^\circ$] mit Standardabweichung für Komplex $[(\text{L}^3\text{-3H})\text{Co}]$

N(2)-Co(1)-N(1)	89.27(8)	N(1)-Co(1)-N(21)	96.11(7)	C(7)-N(3)-Co(1)	118.04(14)
N(2)-Co(1)-N(3)	88.07(7)	N(3)-Co(1)-N(21)	169.01(7)	C(6)-N(3)-Co(1)	119.23(13)
N(1)-Co(1)-N(3)	89.48(7)	N(11)-Co(1)-N(21)	97.00(7)	C(12)-N(11)-C(16)	117.02(18)
N(2)-Co(1)-N(11)	172.38(8)	N(31)-Co(1)-N(21)	91.92(7)	C(12)-N(11)-Co(1)	129.87(15)
N(1)-Co(1)-N(11)	83.20(7)	C(3)-N(1)-C(2)	118.24(18)	C(16)-N(11)-Co(1)	112.98(14)
N(3)-Co(1)-N(11)	93.05(7)	C(3)-N(1)-Co(1)	117.73(14)	C(12)-N(13)-C(14)	117.16(18)
N(2)-Co(1)-N(31)	95.14(7)	C(2)-N(1)-Co(1)	119.24(14)	C(22)-N(21)-C(26)	116.91(18)
N(1)-Co(1)-N(31)	171.29(7)	C(5)-N(2)-C(4)	119.97(18)	C(22)-N(21)-Co(1)	130.55(14)
N(3)-Co(1)-N(31)	83.17(7)	C(5)-N(2)-Co(1)	118.77(14)	C(26)-N(21)-Co(1)	112.11(13)
N(11)-Co(1)-N(31)	92.49(7)	C(4)-N(2)-Co(1)	119.74(13)	C(22)-N(23)-C(24)	117.41(18)
N(2)-Co(1)-N(21)	82.57(7)	C(7)-N(3)-C(6)	119.38(17)	C(32)-N(31)-C(36)	117.17(18)

C(32)-N(31)-Co(1)	130.43(15)	N(23)-C(24)-C(52)	117.42(18)	C(66)-C(65)-H(65)	117(3)
C(36)-N(31)-Co(1)	112.29(13)	C(25)-C(24)-C(52)	121.40(19)	N(61)-C(66)-C(65)	123.4(4)
C(32)-N(33)-C(34)	116.79(19)	C(26)-C(25)-C(24)	117.4(2)	N(61)-C(66)-H(66)	113(3)
C(46)-N(41)-C(42)	117.2(2)	C(26)-C(25)-H(25)	119.2(17)	C(65)-C(66)-H(66)	123(3)
C(56)-N(51)-C(52)	116.9(2)	C(24)-C(25)-H(25)	123.3(17)	O(72)-N(71)-O(71)	123.6(4)
C(62)-N(61)-C(66)	116.5(3)	N(21)-C(26)-C(25)	121.43(19)	O(72)-N(71)-C(71)	120.0(4)
C(8)-C(1)-C(4)	109.49(18)	N(21)-C(26)-C(5)	114.63(18)	O(71)-N(71)-C(71)	116.4(4)
C(8)-C(1)-C(2)	109.28(18)	C(25)-C(26)-C(5)	123.88(19)	C(72)-C(71)-C(76)	120.0
C(4)-C(1)-C(2)	109.25(17)	N(33)-C(32)-N(31)	126.0(2)	C(72)-C(71)-N(71)	122.4(4)
C(8)-C(1)-C(6)	110.19(18)	N(33)-C(32)-H(32)	116.4(14)	C(76)-C(71)-N(71)	117.6(4)
C(4)-C(1)-C(6)	109.46(17)	N(31)-C(32)-H(32)	117.5(14)	C(71)-C(72)-C(73)	120.0
C(2)-C(1)-C(6)	109.16(17)	N(33)-C(34)-C(35)	121.3(2)	C(71)-C(72)-H(72)	120.0
N(1)-C(2)-C(1)	109.83(17)	N(33)-C(34)-C(62)	118.0(2)	C(73)-C(72)-H(72)	120.0
N(1)-C(2)-H(2A)	112.4(16)	C(35)-C(34)-C(62)	120.7(2)	C(74)-C(73)-C(72)	120.0
C(1)-C(2)-H(2A)	110.5(16)	C(36)-C(35)-C(34)	117.8(2)	C(74)-C(73)-H(73)	120.0
N(1)-C(2)-H(2B)	107.9(14)	C(36)-C(35)-H(35)	120.8(17)	C(72)-C(73)-H(73)	120.0
C(1)-C(2)-H(2B)	108.7(15)	C(34)-C(35)-H(35)	121.4(17)	C(73)-C(74)-C(75)	120.0
H(2A)-C(2)-H(2B)	107(2)	N(31)-C(36)-C(35)	120.78(19)	C(73)-C(74)-H(74)	120.0
O(1)-C(3)-N(1)	127.8(2)	N(31)-C(36)-C(7)	115.38(18)	C(75)-C(74)-H(74)	120.0
O(1)-C(3)-C(16)	120.70(19)	C(35)-C(36)-C(7)	123.78(19)	C(76)-C(75)-C(74)	120.0
N(1)-C(3)-C(16)	111.32(18)	N(41)-C(42)-C(43)	123.6(2)	C(76)-C(75)-H(75)	120.0
N(2)-C(4)-C(1)	109.86(17)	N(41)-C(42)-C(14)	115.7(2)	C(74)-C(75)-H(75)	120.0
N(2)-C(4)-H(4A)	108.5(16)	C(43)-C(42)-C(14)	120.7(2)	C(75)-C(76)-C(71)	120.0
C(1)-C(4)-H(4A)	107.5(16)	C(42)-C(43)-C(44)	117.9(2)	C(75)-C(76)-H(76)	120.0
N(2)-C(4)-H(4B)	112.0(14)	C(42)-C(43)-H(43)	120.9(16)	C(71)-C(76)-H(76)	120.0
C(1)-C(4)-H(4B)	111.2(14)	C(44)-C(43)-H(43)	121.1(16)	O(71A)-N(71A)-O(72A)	123.1(5)
H(4A)-C(4)-H(4B)	108(2)	C(45)-C(44)-C(43)	118.9(3)	O(71A)-N(71A)-C(71A)	118.6(5)
O(2)-C(5)-N(2)	128.6(2)	C(45)-C(44)-H(44)	124.8(19)	O(72A)-N(71A)-C(71A)	118.3(6)
O(2)-C(5)-C(26)	120.82(19)	C(43)-C(44)-H(44)	116.2(19)	N(71A)-O(71A)-O(82)	114.9(4)
N(2)-C(5)-C(26)	110.53(18)	C(44)-C(45)-C(46)	119.2(2)	C(72A)-C(71A)-C(76A)	120.0
N(3)-C(6)-C(1)	109.29(16)	C(44)-C(45)-H(45)	119(2)	C(72A)-C(71A)-N(71A)	119.2(7)
N(3)-C(6)-H(6A)	109.9(14)	C(46)-C(45)-H(45)	122(2)	C(76A)-C(71A)-N(71A)	120.7(7)
C(1)-C(6)-H(6A)	108.2(14)	N(41)-C(46)-C(45)	123.3(3)	C(71A)-C(72A)-C(73A)	120.0
N(3)-C(6)-H(6B)	110.8(14)	N(41)-C(46)-H(46)	117.6(19)	C(71A)-N(71A)-H(72A)	120.0
C(1)-C(6)-H(6B)	110.8(14)	C(45)-C(46)-H(46)	119.1(19)	C(73A)-C(72A)-H(72A)	120.0
H(6A)-C(6)-H(6B)	107.7(19)	N(51)-C(52)-C(53)	123.2(2)	C(72A)-C(73A)-C(74A)	120.0
O(3)-C(7)-N(3)	128.49(19)	N(51)-C(52)-C(24)	115.96(19)	C(72A)-C(73A)-H(73A)	120.0
O(3)-C(7)-C(36)	120.47(18)	C(53)-C(52)-C(24)	120.81(19)	C(74A)-C(73A)-H(73A)	120.0
N(3)-C(7)-C(36)	111.02(17)	C(54)-C(53)-C(52)	118.6(2)	C(75A)-C(74A)-C(73A)	120.0
C(1)-C(8)-H(8A)	109.8(17)	C(54)-C(53)-H(53)	121.7(17)	C(75A)-C(74A)-H(74A)	120.0
C(1)-C(8)-H(8B)	110.0(17)	C(52)-C(53)-H(53)	119.7(17)	C(73A)-C(74A)-H(74A)	120.0
H(8A)-C(8)-H(8B)	108(2)	C(53)-C(54)-C(55)	118.8(2)	C(74A)-C(75A)-C(76A)	120.0
C(1)-C(8)-H(8C)	110.1(15)	C(53)-C(54)-H(54)	120.2(17)	C(74A)-C(75A)-H(75A)	120.0
H(8A)-C(8)-H(8C)	110(2)	C(55)-C(54)-H(54)	120.9(17)	C(76A)-C(75A)-H(75A)	120.0
H(8B)-C(8)-H(8C)	109(2)	C(54)-C(55)-C(56)	118.7(2)	C(75A)-C(76A)-C(71A)	120.0
N(13)-C(12)-N(11)	125.7(2)	C(54)-C(55)-H(55)	119.9(15)	C(75A)-C(76A)-H(76A)	120.0
N(13)-C(12)-H(12)	116.8(14)	C(56)-C(55)-H(55)	121.4(15)	C(71A)-C(76A)-H(76A)	120.0
N(11)-C(12)-H(12)	117.4(14)	N(51)-C(56)-C(55)	123.8(2)	O(81)-N(81)-O(82)	122.9(5)
N(13)-C(14)-C(15)	121.31(19)	N(51)-C(56)-H(56)	115.3(18)	O(81)-N(81)-C(81)	115.8(4)
N(13)-C(14)-C(42)	116.51(19)	C(55)-C(56)-H(56)	120.9(18)	O(82)-N(81)-C(81)	121.3(4)
C(15)-C(14)-C(42)	122.16(19)	N(61)-C(62)-C(63)	124.0(2)	N(81)-O(82)-O(71A)	101.3(3)
C(16)-C(15)-C(14)	117.25(19)	N(61)-C(62)-C(34)	115.0(2)	C(83)-C(81)-C(82)	122.1(4)
C(16)-C(15)-H(15)	122.6(16)	C(63)-C(62)-C(34)	121.0(2)	C(83)-C(81)-N(81)	116.4(4)
C(14)-C(15)-H(15)	120.2(16)	C(64)-C(63)-C(62)	117.8(3)	C(82)-C(81)-N(81)	121.4(4)
N(11)-C(16)-C(15)	121.47(19)	C(64)-C(63)-H(63)	123.4(17)	C(83)#1-C(82)-C(81)	118.6(5)
N(11)-C(16)-C(3)	114.60(18)	C(62)-C(63)-H(63)	118.7(17)	C(83)#1-C(82)-H(82)	122(3)
C(15)-C(16)-C(3)	123.58(19)	C(65)-C(64)-C(63)	118.3(3)	C(81)-C(82)-H(82)	119(3)
N(23)-C(22)-N(21)	125.63(19)	C(65)-C(64)-H(64)	119.3(18)	C(81)-C(83)-C(82)#1	119.3(5)
N(23)-C(22)-H(22)	117.2(15)	C(63)-C(64)-H(64)	122.3(19)	C(81)-C(83)-H(83)	120(3)
N(21)-C(22)-H(22)	117.1(15)	C(64)-C(65)-C(66)	119.9(3)	C(82)#1-C(83)-H(83)	120(3)
N(23)-C(24)-C(25)	121.17(19)	C(64)-C(65)-H(65)	123(2)		

Verwendete Symmetrieoperationen #1 -x+2,-y,-z

Tab. A.2.4: Anisotrope Temperaturfaktoren [\AA^2] mit Standardabweichung für Komplex $[(\text{L}^3\text{-3H})\text{Co}]$

	U11	U22	U33	U23	U13	U12							
Co(1)	14(1)	14(1)	16(1)	-1(1)	2(1)	-1(1)	C(43)	29(1)	23(1)	24(1)	-3(1)	-5(1)	5(1)
O(1)	34(1)	38(1)	24(1)	3(1)	14(1)	11(1)	C(44)	36(1)	29(1)	34(1)	-2(1)	-10(1)	10(1)
O(2)	35(1)	19(1)	39(1)	1(1)	-16(1)	2(1)	C(45)	49(2)	34(1)	30(1)	10(1)	-12(1)	3(1)
O(3)	19(1)	25(1)	24(1)	-2(1)	4(1)	-6(1)	C(46)	44(2)	41(2)	28(1)	12(1)	-3(1)	1(1)
N(1)	15(1)	16(1)	23(1)	-1(1)	6(1)	1(1)	C(52)	16(1)	21(1)	23(1)	-3(1)	0(1)	-2(1)
N(2)	18(1)	13(1)	21(1)	-1(1)	1(1)	0(1)	C(53)	24(1)	22(1)	23(1)	-1(1)	1(1)	-4(1)
N(3)	15(1)	15(1)	16(1)	-4(1)	2(1)	0(1)	C(54)	28(1)	22(1)	27(1)	-5(1)	3(1)	-7(1)
N(11)	15(1)	16(1)	17(1)	-3(1)	2(1)	-2(1)	C(55)	24(1)	31(1)	25(1)	-7(1)	0(1)	-5(1)
N(13)	21(1)	16(1)	25(1)	2(1)	5(1)	3(1)	C(56)	27(1)	30(1)	28(1)	-3(1)	-6(1)	1(1)
N(21)	15(1)	16(1)	19(1)	-1(1)	1(1)	0(1)	C(62)	27(1)	37(1)	23(1)	7(1)	10(1)	14(1)
N(23)	18(1)	17(1)	23(1)	-2(1)	1(1)	-1(1)	C(63)	44(2)	33(1)	29(1)	5(1)	17(1)	14(1)
N(31)	18(1)	16(1)	16(1)	1(1)	3(1)	0(1)	C(64)	45(2)	55(2)	31(1)	7(1)	20(1)	22(1)
N(33)	34(1)	23(1)	21(1)	1(1)	9(1)	5(1)	C(65)	34(2)	113(3)	34(2)	6(2)	21(1)	13(2)
N(41)	34(1)	33(1)	21(1)	7(1)	-1(1)	1(1)	C(66)	28(2)	139(4)	38(2)	-8(2)	16(1)	-10(2)
N(51)	25(1)	23(1)	28(1)	-1(1)	-6(1)	0(1)	N(71)	27(2)	23(2)	38(2)	4(2)	2(2)	-7(2)
N(61)	22(1)	95(2)	29(1)	-5(1)	12(1)	-1(1)	O(71)	36(2)	38(2)	53(2)	2(2)	18(2)	3(2)
	U11	U22	U33	U23	U13	U12	O(72)	35(2)	34(2)	41(2)	13(2)	-6(2)	-9(2)
C(1)	17(1)	15(1)	25(1)	-3(1)	5(1)	1(1)	C(71)	20(3)	26(3)	25(2)	-6(2)	0(2)	-5(2)
C(2)	17(1)	17(1)	30(1)	-3(1)	8(1)	1(1)	C(72)	16(3)	16(2)	38(3)	-1(2)	3(2)	-6(2)
C(3)	19(1)	22(1)	20(1)	-2(1)	6(1)	2(1)	C(73)	40(5)	24(3)	41(4)	8(3)	-10(3)	-8(3)
C(4)	20(1)	12(1)	27(1)	-3(1)	1(1)	1(1)	C(74)	30(4)	44(5)	41(6)	-15(4)	-15(3)	9(4)
C(5)	21(1)	16(1)	26(1)	0(1)	-2(1)	-1(1)	C(75)	44(5)	47(5)	35(5)	-13(4)	-3(4)	7(3)
C(6)	18(1)	18(1)	19(1)	-4(1)	4(1)	-2(1)	C(76)	19(3)	32(3)	22(3)	-5(2)	-4(2)	-2(2)
C(7)	16(1)	17(1)	16(1)	1(1)	1(1)	-1(1)	N(71A)	36(2)	29(2)	22(2)	3(2)	-4(2)	-11(2)
C(8)	24(1)	20(1)	33(1)	-6(1)	7(1)	3(1)	O(71A)	31(2)	31(2)	39(2)	-1(2)	4(2)	-3(2)
C(12)	20(1)	17(1)	23(1)	2(1)	7(1)	1(1)	O(72A)	71(3)	49(3)	34(2)	21(2)	-12(2)	-15(2)
C(14)	22(1)	18(1)	17(1)	-1(1)	-1(1)	-2(1)	C(71A)	25(3)	31(4)	23(4)	-12(3)	-15(2)	2(3)
C(15)	24(1)	24(1)	16(1)	0(1)	4(1)	2(1)	C(72A)	29(4)	44(5)	22(3)	-2(3)	-2(3)	-14(3)
C(16)	17(1)	20(1)	16(1)	-2(1)	3(1)	0(1)	C(73A)	40(5)	65(7)	47(5)	-30(5)	18(4)	-28(5)
C(22)	16(1)	16(1)	21(1)	0(1)	1(1)	1(1)	C(74A)	52(6)	76(10)	123(12)	-62(9)	39(8)	-37(6)
C(24)	16(1)	18(1)	22(1)	-2(1)	1(1)	-1(1)	C(75A)	29(5)	37(6)	176(16)	-32(9)	-21(7)	8(4)
C(25)	24(1)	19(1)	25(1)	0(1)	-4(1)	-1(1)	C(76A)	74(8)	36(5)	65(7)	-15(5)	-45(6)	6(5)
C(26)	19(1)	16(1)	25(1)	2(1)	-2(1)	0(1)	N(81)	25(2)	33(2)	43(2)	-6(2)	6(2)	5(2)
C(32)	30(1)	19(1)	20(1)	-1(1)	5(1)	1(1)	O(81)	50(2)	34(2)	51(2)	-3(2)	-5(2)	14(2)
C(34)	25(1)	24(1)	20(1)	6(1)	8(1)	11(1)	O(82)	36(2)	39(2)	43(2)	-3(2)	-7(2)	-1(2)
C(35)	19(1)	23(1)	21(1)	5(1)	6(1)	4(1)	C(81)	43(2)	76(3)	82(3)	-47(2)	28(2)	-28(2)
C(36)	18(1)	18(1)	16(1)	2(1)	1(1)	2(1)	C(82)	57(2)	75(3)	91(3)	-38(3)	29(2)	-24(2)
C(42)	26(1)	19(1)	19(1)	-1(1)	-4(1)	0(1)	C(83)	49(2)	85(3)	91(3)	-43(3)	22(2)	-22(2)

Tab. A.2.5: Koordinaten der Wasserstoffatome ($\times 10^4$) und anisotropen Temperaturfaktoren ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) für Komplex $[(\text{L}^3\text{-3H})\text{Co}]$

	x	y	z	U(eq)					
H(72)	7287	2214	2354	62(6)	H(2B)	5660(20)	458(18)	1379(10)	19(6)
H(73)	8788	1139	2586	62(6)	H(4A)	5910(20)	-674(19)	2701(10)	22(6)
H(74)	10193	1121	2057	62(6)	H(4B)	4660(20)	-876(19)	2725(10)	19(6)
H(75)	10096	2177	1296	62(6)	H(6A)	3357(19)	-808(18)	1758(9)	14(6)
H(76)	8594	3252	1064	62(6)	H(6B)	3609(19)	59(17)	1360(10)	14(6)
H(72A)	10146	947	2135	62(6)	H(8A)	6160(20)	-1360(20)	1797(11)	33(8)
H(73A)	8751	859	2668	62(6)	H(8B)	5120(20)	-1320(20)	1323(12)	30(7)
H(74A)	7256	1955	2500	62(6)	H(8C)	5020(20)	-1910(20)	1887(11)	27(7)
H(75A)	7156	3140	1798	62(6)	H(12)	2240(19)	2982(18)	2354(10)	17(6)
H(76A)	8550	3228	1265	62(6)		x	y	z	U(eq)
H(2A)	6380(20)	516(19)	1967(10)	23(7)	H(15)	3710(20)	3552(19)	779(11)	26(7)
					H(22)	4931(19)	3790(18)	2625(9)	13(6)

H(25)	7090(20)	2110(20)	3997(11)	28(7)	H(55)	9010(20)	5540(20)	5270(11)	28(7)
H(32)	3738(19)	2738(18)	3454(9)	15(6)	H(56)	8890(20)	3760(20)	5250(12)	37(8)
H(35)	980(20)	420(20)	3044(11)	32(7)	H(63)	1630(30)	2400(20)	4559(12)	43(9)
H(43)	610(20)	4932(19)	1188(10)	20(6)	H(64)	220(20)	2170(20)	5157(13)	42(8)
H(44)	-160(20)	6120(20)	601(11)	31(7)	H(65)	-1230(30)	1100(30)	4810(15)	67(11)
H(45)	650(30)	6580(20)	-162(13)	50(9)	H(66)	-1390(40)	340(30)	3968(17)	81(14)
H(46)	2210(30)	5660(20)	-322(13)	47(9)	H(82)	9830(40)	1620(30)	-425(19)	93(16)
H(53)	6900(20)	5450(20)	3815(11)	25(7)	H(83)	11290(40)	-230(30)	797(17)	74(13)
H(54)	8000(20)	6370(20)	4498(11)	34(8)					

Tab. A.2.6. Torsionswinkel [°] für [(L³-3H)Co].

N(2)-Co(1)-N(1)-C(3)	-178.38(16)	N(11)-Co(1)-N(21)-C(26)	176.84(15)
N(3)-Co(1)-N(1)-C(3)	93.55(16)	N(31)-Co(1)-N(21)-C(26)	84.10(15)
N(11)-Co(1)-N(1)-C(3)	0.42(16)	N(2)-Co(1)-N(31)-C(32)	94.75(19)
N(31)-Co(1)-N(1)-C(3)	61.1(5)	N(1)-Co(1)-N(31)-C(32)	-145.1(4)
N(21)-Co(1)-N(1)-C(3)	-95.93(16)	N(3)-Co(1)-N(31)-C(32)	-177.8(2)
N(2)-Co(1)-N(1)-C(2)	26.56(16)	N(11)-Co(1)-N(31)-C(32)	-85.04(19)
N(3)-Co(1)-N(1)-C(2)	-61.52(16)	N(21)-Co(1)-N(31)-C(32)	12.05(19)
N(11)-Co(1)-N(1)-C(2)	-154.65(16)	N(2)-Co(1)-N(31)-C(36)	-89.08(14)
N(31)-Co(1)-N(1)-C(2)	-93.9(5)	N(1)-Co(1)-N(31)-C(36)	31.0(6)
N(21)-Co(1)-N(1)-C(2)	109.00(16)	N(3)-Co(1)-N(31)-C(36)	-1.65(14)
N(1)-Co(1)-N(2)-C(5)	104.49(17)	N(11)-Co(1)-N(31)-C(36)	91.12(14)
N(3)-Co(1)-N(2)-C(5)	-166.01(17)	N(21)-Co(1)-N(31)-C(36)	-171.79(14)
N(11)-Co(1)-N(2)-C(5)	95.4(6)	C(3)-N(1)-C(2)-C(1)	-124.0(2)
N(31)-Co(1)-N(2)-C(5)	-83.04(17)	Co(1)-N(1)-C(2)-C(1)	30.9(2)
N(21)-Co(1)-N(2)-C(5)	8.23(17)	C(8)-C(1)-C(2)-N(1)	163.03(18)
N(1)-Co(1)-N(2)-C(4)	-61.45(16)	C(4)-C(1)-C(2)-N(1)	-77.2(2)
N(3)-Co(1)-N(2)-C(4)	28.06(16)	C(6)-C(1)-C(2)-N(1)	42.5(2)
N(11)-Co(1)-N(2)-C(4)	-70.5(6)	C(2)-N(1)-C(3)-O(1)	-18.5(3)
N(31)-Co(1)-N(2)-C(4)	111.02(16)	Co(1)-N(1)-C(3)-O(1)	-173.81(19)
N(21)-Co(1)-N(2)-C(4)	-157.71(17)	C(2)-N(1)-C(3)-C(16)	157.13(17)
N(2)-Co(1)-N(3)-C(7)	95.09(16)	Co(1)-N(1)-C(3)-C(16)	1.8(2)
N(1)-Co(1)-N(3)-C(7)	-175.63(15)	C(5)-N(2)-C(4)-C(1)	-135.8(2)
N(11)-Co(1)-N(3)-C(7)	-92.46(15)	Co(1)-N(2)-C(4)-C(1)	29.9(2)
N(31)-Co(1)-N(3)-C(7)	-0.32(15)	C(8)-C(1)-C(4)-N(2)	162.87(18)
N(21)-Co(1)-N(3)-C(7)	63.6(4)	C(2)-C(1)-C(4)-N(2)	43.2(2)
N(2)-Co(1)-N(3)-C(6)	-64.16(15)	C(6)-C(1)-C(4)-N(2)	-76.2(2)
N(1)-Co(1)-N(3)-C(6)	25.12(15)	C(4)-N(2)-C(5)-O(2)	-15.1(4)
N(11)-Co(1)-N(3)-C(6)	108.29(15)	Co(1)-N(2)-C(5)-O(2)	179.0(2)
N(31)-Co(1)-N(3)-C(6)	-159.57(16)	C(4)-N(2)-C(5)-C(26)	162.06(19)
N(21)-Co(1)-N(3)-C(6)	-95.6(4)	Co(1)-N(2)-C(5)-C(26)	-3.8(2)
N(2)-Co(1)-N(11)-C(12)	-178.0(5)	C(7)-N(3)-C(6)-C(1)	-125.99(19)
N(1)-Co(1)-N(11)-C(12)	172.88(19)	Co(1)-N(3)-C(6)-C(1)	33.0(2)
N(3)-Co(1)-N(11)-C(12)	83.77(19)	C(8)-C(1)-C(6)-N(3)	161.81(18)
N(31)-Co(1)-N(11)-C(12)	0.48(19)	C(4)-C(1)-C(6)-N(3)	41.3(2)
N(21)-Co(1)-N(11)-C(12)	-91.77(19)	C(2)-C(1)-C(6)-N(3)	-78.2(2)
N(2)-Co(1)-N(11)-C(16)	6.3(6)	C(6)-N(3)-C(7)-O(3)	-17.0(3)
N(1)-Co(1)-N(11)-C(16)	-2.82(14)	Co(1)-N(3)-C(7)-O(3)	-176.18(17)
N(3)-Co(1)-N(11)-C(16)	-91.93(14)	C(6)-N(3)-C(7)-C(36)	161.22(17)
N(31)-Co(1)-N(11)-C(16)	-175.22(14)	Co(1)-N(3)-C(7)-C(36)	2.0(2)
N(21)-Co(1)-N(11)-C(16)	92.53(14)	C(14)-N(13)-C(12)-N(11)	-2.0(3)
N(2)-Co(1)-N(21)-C(22)	177.1(2)	C(16)-N(11)-C(12)-N(13)	0.6(3)
N(1)-Co(1)-N(21)-C(22)	88.64(19)	Co(1)-N(11)-C(12)-N(13)	-174.92(16)
N(3)-Co(1)-N(21)-C(22)	-151.1(3)	C(12)-N(13)-C(14)-C(15)	1.1(3)
N(11)-Co(1)-N(21)-C(22)	4.8(2)	C(12)-N(13)-C(14)-C(42)	-178.06(19)
N(31)-Co(1)-N(21)-C(22)	-87.97(19)	N(13)-C(14)-C(15)-C(16)	1.0(3)
N(2)-Co(1)-N(21)-C(26)	-10.84(15)	C(42)-C(14)-C(15)-C(16)	-179.94(19)
N(1)-Co(1)-N(21)-C(26)	-99.29(15)	C(12)-N(11)-C(16)-C(15)	1.6(3)
N(3)-Co(1)-N(21)-C(26)	20.9(5)	Co(1)-N(11)-C(16)-C(15)	177.93(16)

C(12)-N(11)-C(16)-C(3)	-171.80(18)	N(23)-C(24)-C(52)-C(53)	-3.1(3)
Co(1)-N(11)-C(16)-C(3)	4.5(2)	C(25)-C(24)-C(52)-C(53)	177.9(2)
C(14)-C(15)-C(16)-N(11)	-2.4(3)	N(51)-C(52)-C(53)-C(54)	-0.2(4)
C(14)-C(15)-C(16)-C(3)	170.46(19)	C(24)-C(52)-C(53)-C(54)	-180.0(2)
O(1)-C(3)-C(16)-N(11)	171.8(2)	C(52)-C(53)-C(54)-C(55)	-0.2(4)
N(1)-C(3)-C(16)-N(11)	-4.2(3)	C(53)-C(54)-C(55)-C(56)	0.6(4)
O(1)-C(3)-C(16)-C(15)	-1.5(3)	C(52)-N(51)-C(56)-C(55)	0.2(4)
N(1)-C(3)-C(16)-C(15)	-177.4(2)	C(54)-C(55)-C(56)-N(51)	-0.6(4)
C(24)-N(23)-C(22)-N(21)	-0.2(3)	C(66)-N(61)-C(62)-C(63)	0.8(5)
C(26)-N(21)-C(22)-N(23)	-1.7(3)	C(66)-N(61)-C(62)-C(34)	179.8(3)
Co(1)-N(21)-C(22)-N(23)	170.04(16)	N(33)-C(34)-C(62)-N(61)	170.8(2)
C(22)-N(23)-C(24)-C(25)	1.6(3)	C(35)-C(34)-C(62)-N(61)	-10.0(3)
C(22)-N(23)-C(24)-C(52)	-177.46(18)	N(33)-C(34)-C(62)-C(63)	-10.1(3)
N(23)-C(24)-C(25)-C(26)	-1.0(3)	C(35)-C(34)-C(62)-C(63)	169.0(2)
C(52)-C(24)-C(25)-C(26)	178.0(2)	N(61)-C(62)-C(63)-C(64)	1.8(4)
C(22)-N(21)-C(26)-C(25)	2.3(3)	C(34)-C(62)-C(63)-C(64)	-177.1(2)
Co(1)-N(21)-C(26)-C(25)	-170.96(18)	C(62)-C(63)-C(64)-C(65)	-2.4(4)
C(22)-N(21)-C(26)-C(5)	-175.01(19)	C(63)-C(64)-C(65)-C(66)	0.7(5)
Co(1)-N(21)-C(26)-C(5)	11.7(2)	C(62)-N(61)-C(66)-C(65)	-2.7(6)
C(24)-C(25)-C(26)-N(21)	-1.0(3)	C(64)-C(65)-C(66)-N(61)	2.1(7)
C(24)-C(25)-C(26)-C(5)	176.0(2)	O(72)-N(71)-C(71)-C(72)	-154.2(5)
O(2)-C(5)-C(26)-N(21)	171.8(2)	O(71)-N(71)-C(71)-C(72)	26.2(7)
N(2)-C(5)-C(26)-N(21)	-5.6(3)	O(72)-N(71)-C(71)-C(76)	22.8(7)
O(2)-C(5)-C(26)-C(25)	-5.4(4)	O(71)-N(71)-C(71)-C(76)	-156.8(5)
N(2)-C(5)-C(26)-C(25)	177.2(2)	C(76)-C(71)-C(72)-C(73)	0.0
C(34)-N(33)-C(32)-N(31)	0.2(3)	N(71)-C(71)-C(72)-C(73)	177.0(7)
C(36)-N(31)-C(32)-N(33)	2.6(3)	C(71)-C(72)-C(73)-C(74)	0.0
Co(1)-N(31)-C(32)-N(33)	178.62(16)	C(72)-C(73)-C(74)-C(75)	0.0
C(32)-N(33)-C(34)-C(35)	-2.8(3)	C(73)-C(74)-C(75)-C(76)	0.0
C(32)-N(33)-C(34)-C(62)	176.37(19)	C(74)-C(75)-C(76)-C(71)	0.0
N(33)-C(34)-C(35)-C(36)	2.4(3)	C(72)-C(71)-C(76)-C(75)	0.0
C(62)-C(34)-C(35)-C(36)	-176.72(19)	N(71)-C(71)-C(76)-C(75)	-177.1(7)
C(32)-N(31)-C(36)-C(35)	-2.9(3)	O(72A)-N(71A)-O(71A)-O(82)	-16.5(6)
Co(1)-N(31)-C(36)-C(35)	-179.61(15)	C(71A)-N(71A)-O(71A)-O(82)	165.6(6)
C(32)-N(31)-C(36)-C(7)	179.87(18)	O(71A)-N(71A)-C(71A)-C(72A)	-9.7(8)
Co(1)-N(31)-C(36)-C(7)	3.1(2)	O(72A)-N(71A)-C(71A)-C(72A)	172.3(5)
C(34)-C(35)-C(36)-N(31)	0.5(3)	O(71A)-N(71A)-C(71A)-C(76A)	172.8(6)
C(34)-C(35)-C(36)-C(7)	177.54(19)	O(72A)-N(71A)-C(71A)-C(76A)	-5.2(10)
O(3)-C(7)-C(36)-N(31)	174.95(18)	C(76A)-C(71A)-C(72A)-C(73A)	0.0
N(3)-C(7)-C(36)-N(31)	-3.4(2)	N(71A)-C(71A)-C(72A)-C(73A)	-177.6(9)
O(3)-C(7)-C(36)-C(35)	-2.2(3)	C(71A)-C(72A)-C(73A)-C(74A)	0.0
N(3)-C(7)-C(36)-C(35)	179.47(19)	C(72A)-C(73A)-C(74A)-C(75A)	0.0
C(46)-N(41)-C(42)-C(43)	1.6(3)	C(73A)-C(74A)-C(75A)-C(76A)	0.0
C(46)-N(41)-C(42)-C(14)	-176.4(2)	C(74A)-C(75A)-C(76A)-C(71A)	0.0
N(13)-C(14)-C(42)-N(41)	178.04(19)	C(72A)-C(71A)-C(76A)-C(75A)	0.0
C(15)-C(14)-C(42)-N(41)	-1.1(3)	N(71A)-C(71A)-C(76A)-C(75A)	177.5(9)
N(13)-C(14)-C(42)-C(43)	-0.1(3)	O(81)-N(81)-O(82)-O(71A)	89.8(5)
C(15)-C(14)-C(42)-C(43)	-179.2(2)	C(81)-N(81)-O(82)-O(71A)	-91.5(4)
N(41)-C(42)-C(43)-C(44)	-2.3(3)	N(71A)-O(71A)-O(82)-N(81)	-24.1(5)
C(14)-C(42)-C(43)-C(44)	175.7(2)	O(81)-N(81)-C(81)-C(83)	-175.2(4)
C(42)-C(43)-C(44)-C(45)	0.7(4)	O(82)-N(81)-C(81)-C(83)	6.0(6)
C(43)-C(44)-C(45)-C(46)	1.4(4)	O(81)-N(81)-C(81)-C(82)	0.8(6)
C(42)-N(41)-C(46)-C(45)	0.6(4)	O(82)-N(81)-C(81)-C(82)	-178.0(4)
C(44)-C(45)-C(46)-N(41)	-2.2(4)	C(83)-C(81)-C(82)-C(83)#1	-0.6(7)
C(56)-N(51)-C(52)-C(53)	0.2(3)	N(81)-C(81)-C(82)-C(83)#1	-176.4(4)
C(56)-N(51)-C(52)-C(24)	180.0(2)	C(82)-C(81)-C(83)-C(82)#1	0.6(7)
N(23)-C(24)-C(52)-N(51)	177.1(2)	N(81)-C(81)-C(83)-C(82)#1	176.6(4)
C(25)-C(24)-C(52)-N(51)	-2.0(3)		

Verwendete Symmetrieoperationen #1 -x+2,-y,-z

Literaturangaben

- [1] *CD-Römpp Chemie Lexikon V1.0*, Georg Thieme Verlag Stuttgart/ New York **1995**
- [2] W. Kaim, B. Schwederski, *Bioanorganische Chemie*, 3. Auflage, B. G. Teubner, Stuttgart **1995**
- [3] S. J. Lippard, J. M. Berg, *Bioanorganische Chemie*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford **1995**
- [4] T. Kreuzig, *Kurzlehrbuch Biochemie/ Biochemie Kurzlehrbuch zum Gegenstandskatalog*, 8. korr. Auflage, Jungjohann Verlagsgesellschaft, Neckarsulm **1994**
- [5] P. Karlson, D. Doenecke, J. Koolman, *Kurzes Lehrbuch zur Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler*, 14. neu bearbeitete Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart/ New York **1994**
- [6] D. Voet, J.G. Voet, *Biochemie*, 1. korrigierter Nachdruck 1994, der 1. Auflage 1992, VHC Weinheim **1994**, S. 353
- [7] E. I. Ochai, *J. Chem. Educ.* **1991**, 65, 943
- [8] T. Koike, E. Kimura, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 8935
- [9] F. Wiegand, K. H. Seifart, *Angew. Chem.* **1987**, 99, 206; *Int. Ed. Engl.* **1987**, 26, 218
- [10] N. Sträter, W. N. Lipscomb, T. Klabunde, B. Krebs, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 2158
- [11] E. Jarbi, M. B. Carr, R. D. Hausinger, P. A. Karplus, *Science* **1995**, 268, 1000
- [12] N. Sträter, T. Klabunde, P. Tucker, B. Krebs, *Science* **1995**, 268, 1489
- [13] E.E. Kim, H. W. Wyckoff, *J. Mol. Biol.* **1991**, 218, 449
- [14] J. Chin, *Acc. Chem. Res.* **1991**, 24, 145
- [15] P. Hendry, A. M. Sargeson, *Progr. Inorg. Chem.* **1990**, 38, 201
- [16] P.A. Sutton, D. A. Buckingham, *Acc. Chem. Res.* **1987**, 20, 357
- [17] D. J. Plocke, C. Levinthal, B. L. Vallee, *Biochemistry* **1962**, 3, 373
- [18] D. J. Plocke, C. Levinthal, B. L. Vallee, *Biochemistry* **1962**, 1, 1039
- [19] R. T. Simpson, B. Vallee, *Biochemistry* **1968**, 7, 4343
- [20] L. Stryer, *Biochemie*, Spektrum Akad. Verlag, Heidelberg, **1996**
- [21] H. Bredereck, R. Gompper, G. Morlock, *Chem. Ber.*, **1957**, 90, 942
- [22] R. R. Hunt, J. F. W. McOmie, E. R. Sayer, *J. Chem. Soc.*, **1959**, 525
- [23] Y. S. Klausner, M. Bodansky, *Synthesis*, **1972**, 453
- [24] J. C. Sheehan, G. P. Hess, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1955**, 77, 1067

- [25] J. C. Sheehan, G. P. Hess, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1956**, 78, 1367
- [26] J. C. Sheehan, D. D. H. Young, *J. Chem. Soc.*, **1958**, 80, 1154
- [27] B. Belleau, R. Martel, G. Lacasse, M. Menard, N. L. Weinberg, Y. G. Perron, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1968**, 90, 823
- [28] B. Belleau, G. Malek, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1968**, 90, 1651
- [29] Y. V. Mitin, O. V. Glinskaya, *Tetrahedron Lett.*, **1969**, 5267
- [30] Y. V. Mitin, G. P. Vlasov, *Dokl. Akad. Nauk.*, **1968**, 179, 353
- [31] T. H. Chan, L. T. L. Wong, *J. Org. Chem.*, **1970**, 36, 850
- [32] T. H. Chan, L. T. L. Wong, *J. Org. Chem.*, **1969**, 34, 2766
- [33] S. J. Lippard, *Science*, **1995**, 268, 996-7
- [34] E. Jabri, M. B. Carr, R. P. Hausinger, P. A. Karplus, *Science*, **1995**, 268, 998-1004
- [35] http://www.kle.nw.schule.de/gymgoch/faecher/biologie/stoffwec/enz_kin.htm
- [36] S. Yamada, Y. Takeuchi, *Tetrahedron Lett.*, **1971**, 3595
- [37] A. Ljungqvist, K. Folkers, *Acta. Chem. Scand.*, **1988**, 408
- [38] C. Caris, P. Baret, J.-L. Pierre, G. Serratrice, *Tetrahedron*, **1996**, 52(13), 4659
- [39] R. Paul, G. W. Anderson, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1960**, 82, 4596
- [40] H. A. Staab, A. Mannschreck, *Chem. Ber.*, **1995**, 1284
- [41] S. Ohta, A. Shimabayashi, M. Aono, M. Okamoto, *Synthesis*, **1982**, 10, 833
- [42] M. Albrecht, O. Blau, K. Witt, E. Wegelius, M. Nissinen, K. Rissanen, R. Fröhlich, *Synthesis*, **1999**, 10, 1819
- [43] E. B. Fleischer, A. E. Gebala, A. Levey, P. A. Tasker, *J. Org. Chem.*, **1971**, 36(20), 3042
- [44] R. J. Geue, G. H. Searle, *Aust. J. Chem.*, **1983**, 36, 927
- [45] N. Cherati, M. E. Brik, G. Kunesch, A. Gaudemer, *J. of Organometallic Chem.*, **1999**, 575, 149
- [46] K. Micko, *Monatsh. Chem.*, **1896**, 17, 442
- [47] J. J. Lafferty, F.H. Case, *J. Org. Chem.*, **1967**, 32, 1591
- [48] H. Bredereck, R. Gompper, G. Morlock, *Chem. Ber.*, **1957**, 90, 942
- [49] T. Sakamoto, T. Sakasai, H. Yamanaka, *Chem. Pharm. Bull.*, **1980**, 28(2), 571
- [50] I.O. Fritsky, R. Krämer, *Eur. J. Org. Chem.*, **2000**, 3505
- [51] K. P. Strotmeyer, *Dissertation*, Heidelberg **2003**
- [52] C. Wendelstorf, R. Krämer, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, **1997**, 36, 2791
- [53] J. H. Kim, J. Chin, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 9792

- [54] R. Ott, *Diplomarbeit*, Münster **1998**
- [55] R. A. Moss, K. G. Raganathan, *Chem. Commun.*, **1998**, 1871
- [56] R. A. Moss, H. Morales-Rojas, *Org. Lett.*, **1999**, *1*, 1791
- [57] U. Kühn, S. Warzeska, H. Pritzkow, R. Krämer, *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 8125
- [58] W. H. Chapman, R. Breslow, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5462.
- [59] J. R. Morrow, L. A. Buttrey, K. A. Berback, *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 17.
- [60] M. Wall, R. C. Hynes, J. Chin, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1696.
- [61] J. K. Bashkin, L.A. Jenkins, *Comments Inorg. Chem.* **1994**, *16*, 77.
- [62] D. M. Brown, D.A. Usher, *J. Chem. Soc.*, **1965**, 6558
- [63] R. Deters, *Diplomarbeit*, Münster **1996**.
- [64] J. R. Morrow, L. A. Buttrey, K. A. Berback, *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 17.
- [65] N. Bailey, A. Carrington, K. Lott, M. Symons, *J. Chem. Soc.*, **1960**, 290
- [66] D. Banerjea, T. Kaden, H. Sigel, *Inorg. Chem.* **1981**, *20*, 2586.
- [67] J. Zhao, B. Song, N. Saha, A. Saha, *Inorg. Chim. Acta* **1996**, *250*, 185.
- [68] A. McAuley, G. Nancollas, *Trans. Farad. Soc.* **1960**, *56*, 1165.
- [69] R. Zuehelke, D. Kester, *Marine Chem.* **1983**, *13*, 203. Unter Berücksichtigung der ionen- stärke-abhängigen Cu^{2+} -Bindungskonstante K (für Acetat) extrapolierter Wert für $\mu = 0.01$ M.
- [70] P. Hemmes, S. Petrucci, *J. Phys. Chem.* **1970**, *74*, 467.
- [71] S. Gifford, W. Cherry, *Inorg. Chem.* **1974**, *13*, 1434.
- [72] Amendola, V.; Fabrizzi, L.; Mangano, C.; Pallavicini, P.; Poggi, A.; Taglietti, A.; *Coord. Chem. Rev.* **2001**, *219-221*, 821.
- [73] K. Deal, J. N. Burstyn, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 2792.
- [74] J. Ackermann, F. Meyer, E. Kaifer, H. Pritzkow, *Chem. Eur. J.*, **2002**, *8*, 247
- [75] J. Gao, S. Zhong, *Chinese J. Chem.*, **2001**, *22*, 1011
- [76] M. Pascaly, M. Duda, F. Schweppe, K. Zurlinden, F. Müller, B. Krebs, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **2001**, 828
- [77] D. Wang, I. György, K. Hildenbrand. C. v. Sonntag, *J. Chem. Soc. Perkin trans. 2*, **1994**, 45
- [78] A. Camus, M. S. Garozzo, N. Marsich, M. Mari, *J. Mol. Cat. A*, **1996**, *12*, 353
- [79] T. Schmidt, W. Hartung, F. Wasgestian, *Inorg. Chim. Act.*, **1998**, *274*, 126
- [80] S. A. Bedell, A. E. Martell, *Inorg. Chem.*, **1983**, *22*, 364

- [81] O. A. Kholdeeva, A. V. Golovin, R. I. Maksimovskaya, I. V. Kozhevnikov., *J. Molec. Cat.*, **1992**, 75, 235
- [82] D. A. Rockcliffe, A. E. Martell, *J. Molec. Cat. A*, **1995**, 101
- [83] M. Shimizu, Y. Watanabe, H. Orita, T. Hayakawa, K. Takehira, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1992**, 65, 1522
- [84] I. Fritsky, R. Ott, R. Krämer, *Angewandte Chemie*, **2000**, 112, 3403
- [85] J. Sumaoka, Y. Azuma, M. Komiyama, *Chem. Eur. J.*, **1998**, 4, 205
- [86] D.M. Brown, D.A. Usher, *J. Chem. Soc.*, **1965**, 6558
- [87] D.P. Funeriu, Y.B. He, H.J. Bister, J.M Lehn, *Bulletin de la Societe Chimique de France*, **1996**, 673
- [88] J.M. Lehn, J.P. Sauvage, J. Simon, R. Ziessel, *Nouveau Journal de Chimie*, **1983**, 7, 413
- [89] M.M. Harding, J.M. Lehn, *Austr. J. Chem*, **1996**, 49, 1023
- [90] P.J. O'Brien, D. Herschlag, *Biochemistry*, **2002**, 41(9), 3207
- [91] I.O Fritsky, R. Ott, H. Pritzkow, r. Krämer, *Chem. Eur. J.*, **2001**, 7(6), 1221
- [92] L. Kovbasyuk, M. Hoppe, H. Pritzkow, R. Krämer, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2001**, 5, 1353-1360
- [93] M. Ray, R.N. Mukherjee, *Polyhedron*, **1992**, 11, 2929
- [94] E. Eichhorn, A. Rieker, B. Speiser, *Zeitschr. F. Naturf. B*, **1993**, 48b, 418
- [95] T. Ayers, S. Scott, J. Goins, N. Caylor, D. Hathcock, S.J. Slattery, D.L. Jameson, *Inorg. Chim. Act.*, **2000**, 7
- [96] K.P. Strotmeyer, I.O. Fritsky, R. Ott, H.Pritzkow, R. Krämer, *Supramol. Chem.*, **2003**, im Druck

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

An erster Stelle möchte ich meinem verstorbenen Bruder Frank danken, der mir gezeigt hat, dass die Welt nicht vollkommen finster ist und es am Ende auch des längsten Tunnels wieder ein Licht gibt. Danke – ohne dich ist der Tunnel sehr viel länger geworden!

Danken möchte ich auch all den Angestellten der Chemischen Institute. Zu nennen sind hier vor allem Frau A. Seith und Herr N. Nieth, die tagelang für mich Massenspektren aufgenommen haben, Herr Dr. J. Gross, der mir bei der Interpretation der Spektren wertvolle Hilfe leistete, Frau B. Termin, die auch die ausgefallensten NMR-Proben für mich gemessen hat und Herr H. Pritzkow, der mir bei der Auswertung der Kristallstrukturen eine unschätzbare Hilfe war. Selbstverständlich bedanke ich mich auch bei allen anderen, die nicht namentlich aufgeführt sind – dies würde den Rahmen sprengen.

Auch den technischen Angestellten aus meinem Arbeitskreis gilt mein Dank, hier vor allem Frau C. Dienemann, Frau K. Gabel.

Ein großes Danke an Herrn K.P. Strotmeyer, mit dem ich so manches mal über die Welt im Allgemeinen und unsere Chemie im Speziellen philosophieren konnte. Es hat Spaß gemacht, 20 Themen in 10 Minuten zu erörtern, das war glaube ich Weltrekord.

Danke an Frau L. Mokhir, mit der ich fast 4 Jahre lang ein Labor teilen durfte. Ich werde unsere Unterhaltungen in drei Sprachen und all die kleinen Neckereien vermissen.

Ein besonderes Danke an Frau U. Kühn, die vor allem im letzten halben Jahr unter mir „leiden“ musste und bei der ich alle meine Sorgen und Nöte der letzten Zeit abladen durfte.

Danke an Frau N. Amend, die im Rahmen ihrer Zulassungsarbeit einen Teil der UV-Messungen durchgeführt hat und mich mit ihren Ideen bereichert hat.

Für die Korrektur dieser Arbeit danke an Frau R. Roll, Frau U. Kühn und Herrn K.P. Strotmeyer. Die ersten Versionen waren leider etwas konfus. Man möge mir verzeihen.

Bei allen anderen Arbeitskreismitgliedern bedanke ich mich für die schöne Zeit, die ich mit ihnen verbringen durfte: sorgt dafür, dass der Fußballpokal in unserem Besitz bleibt.

Danke meinen Freunden, die mir in letzter Zeit die Kraft gegeben haben, diese Arbeit zu vollenden. Ihr hattet es wahrlich schwer mit mir.

Als letztes möchte ich meiner Mutter danken. Ohne ihre Unterstützung wäre diese Promotion absolut unmöglich gewesen. Sie hat dafür gesorgt, dass ich immer einen Platz hatte, den ich „Heimat“ nennen konnte. Sie hat mir damit mehr gegeben, als so manch anderem vergönnt ist.

Erklärungen gemäß § 7 (3) b) und c) der Promotionsordnung:

- a) ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorgelegte Dissertation selbst verfasst und mich dabei keiner anderen als der von mir ausdrücklich bezeichneten Quellen und Hilfen bedient habe,

- b) ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich an keiner anderen Stelle ein Prüfungsverfahren beantragt bzw. die Dissertation in dieser oder anderer Form bereits anderweitig als Prüfungsarbeit verwendet oder einer anderen Fakultät als Dissertation vorgelegt habe.

Heidelberg, den 22.10.2003

.....
(Markus Hoppe)