

Ein L^3ZnOH -Komplex als funktionelles Modell des Enzyms Carboanhydrase

Ralf Alsasser^a, Michael Ruf^a, Swiatoslaw Trofimenko^b und Heinrich Vahrenkamp^{*a}

Institut für Anorganische und Analytische Chemie der Universität Freiburg^a,
Albertstraße 21, W-7800 Freiburg, F.R.G.

Du Pont Polymers, Experimental Station, Building 302/216^b,
P.O. Box 80302, Wilmington, Delaware, 19880-0302, U.S.A.

Eingegangen am 6. November 1992

Key Words: Pyrazolylborate ligand / Zinc hydroxide complex / Enzyme model

An L^3ZnOH Complex as a Functional Model of the Enzyme Carbonic Anhydrase

The tridentate ligand hydrotris(3-*tert*-butyl-5-methylpyrazolyl)borate (L^3) reacts with zinc perchlorate hexahydrate to form L^3ZnOH (**1**) which is the first mononuclear neutral zinc hydroxide complex. **1** is a structural model of the enzyme carbonic anhydrase due to its tetrahedral coordination with three N-heterocycles and one OH ion as ligands. Its functional analogy to the enzyme involves (a) reversible uptake of CO_2 forming the unstable bicarbonate complex $L^3ZnOCOOH$ (**4**) in solution from which the dinuclear carbonate complex $L^3ZnOC(O)OZnL^3$ (**3**) crystallizes, (b) reaction with dialkyl

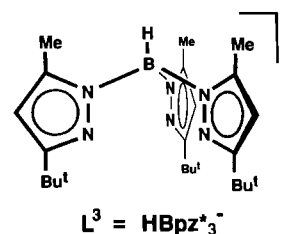
pyrocarbonates forming the complexes $L^3ZnOC(O)OR$ (**5**) which are stable esters of the bicarbonate complex and which are easily hydrolyzed to ROH , CO_2 , and L^3ZnOH , (c) thermal decarboxylation of the ethyl carbonate complex **5b** resulting in the ethanolate complex L^3ZnOEt (**6**) which is extremely sensitive to hydrolysis, (d) "inhibition" by small anions due to conversion of **1** into the complexes L^3ZnX (**7**; $X = Cl, CN, N_3, OAc$). The identity of the various L^3Zn derivatives is established by NMR methods and structure determinations.

Carboanhydrase ist eines der am besten untersuchten Enzyme^[1]. Ihre bemerkenswert einfache Funktion besteht in der Katalyse der hydrolytischen Umwandlung zwischen Kohlendioxid und Hydrogencarbonat, die normalerweise langsam, da kinetisch gehemmt, ist. An vielen Stellen im Körper, so auch in den roten Blutkörperchen als das biologische Gegenstück des Hämoglobins, sorgt sie damit für den raschen Umsatz bzw. die rasche Entfernung des körpereigenen Verbrennungsprodukts CO_2 . Ihr katalytisch aktives Zentrum besteht aus einem Zink-Ion, das tetraedrisch von drei Histidin-Imidazol-Gruppen und einem Wassermolekül umgeben ist. Als Teilschritte des Katalysezyklus werden die Deprotonierung des H_2O -Liganden und der Angriff des starken Nucleophils $[His_3ZnOH]^+$ an CO_2 unter Bildung eines Hydrogencarbonat-Liganden diskutiert, der dann unter Substitution durch ein neues Wassermolekül abgelöst wird^[1,2]. Da jedoch bis jetzt weder der Enzym-Substrat- (CO_2) -Komplex noch andere Intermediate des katalytischen Zyklus durch Strukturanalysen identifiziert sind, beruhen die Vorschläge zu seinem Verlauf bisher nur auf kinetischen, spektroskopischen und theoretischen Studien^[3].

Ansätze zur strukturellen Modellierung des Enzyms konnten in der Vergangenheit nicht die tetraedrische N_3ZnOH_2 -Koordinierung reproduzieren^[4], und Studien zur funktionellen Modellierung mit anderen Zink-Komplexen blieben zumeist auf Ester-Hydrolysen beschränkt^[5]. Die beste Annäherung an den Zustand im Enzym gelang bisher Kimura et al. mit dem Komplex $[(1,5,9\text{-Triazacyclododecan})ZnOH_2]^{2+}$, der nahe dem Neutralpunkt deprotoniert wird und die CO_2 -Hydratisierung katalysiert^[6]. Einen eindeutig charakterisierten einkernigen tetraedrischen L^3ZnOH -

Komplex gab es zu Beginn unserer Untersuchungen nicht, obgleich basische Salze eine normale Erscheinung in der anorganischen Chemie von Zink sind^[7] und obgleich eine Reihe Hydroxid-verbrückter Mehrkernkomplexe von Zink bekannt ist^[8].

Wir hatten gefunden, daß 3-substituierte Pyrazolylborat-Liganden sehr gut zur Stabilisierung tetraedrischer Zink-Komplexe mit N_3ZnX -Koordinierung geeignet sind^[9]. Unsere Versuche, auf gleiche Weise zu N_3ZnOH_2 - oder N_3ZnOH -Komplexen zu kommen, hatten jedoch überraschenderweise zur Zerlegung der Pyrazolylborate unter hydrolytischer Spaltung der B-N-Bindungen geführt^[8]. Wir waren deshalb bemüht, die Arbeiten auf solche Pyrazolylborate auszudehnen, bei denen durch Substituenten in 3- und 5-Stellung das Bor-Atom und das Zink-Ion schützend eingehüllt sind. Liganden dieser Art sind seit kurzem bekannt^[10,11]. Wir wählten daraus die Verbindung L^3 mit 3-*tert*-Butyl- und 5-Methyl-Substituenten aus.

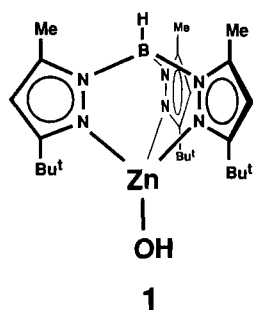


Die vorliegende Arbeit beschreibt unsere erfolgreichen Versuche, mit Zink-Komplexen des L^3 -Liganden ein strukturelles und funktionelles Modell des Enzyms Carboanhydrase zu entwickeln. Kurzmittelungen dazu^[12,13] wurden ge-

meinsam mit G. Parkin publiziert, der die Strukturanalysen von **1** und **3** sowie spektroskopische Untersuchungen beisteuerte. Er wird über seine Ergebnisse separat berichten.

Der Komplex L^3ZnOH

Während andere Pyrazolylborate $K[HBpz_3^*]$ mit $Zn(ClO_4)_2 \cdot 6 H_2O$ entweder unter Bildung der Bis(ligand)-Komplexe $Zn(HBpz_3^*)_2$ ($pz^* =$ Pyrazolyl, 3-Phenyl-, 3-Tolylpyrazolyl)^[9] oder unter B–N-Hydrolyse zu den Komplexen $[L'_3Zn-O(H)-ZnL'_5](ClO_4)_3$ ($L' =$ 3-Anisylpyrazol, 3-*tert*-Butylpyrazol)^[8] reagieren, ergibt sich mit dem hier verwendeten doppelt substituierten Pyrazolylborat-Liganden L^3 spontan die Bildung des Komplexes **1** vom gesuchten Typ L^3ZnOH . Die OH-Gruppe stammt dabei aus dem Kristallwasser von Zinkperchlorat; die Ausbeute an **1** wird aber durch Zugabe von KOH zur Reaktionslösung noch verbessert. Daß der Schutz des Pyrazolylborats durch doppelte Substitution der wesentliche Faktor zur Stabilisierung von **1** ist, konnten wir inzwischen durch Gewinnung weiterer Komplexe L^3ZnOH mit ähnlichem Substitutionsmuster belegen^[14].



1 ist an Hand seiner NMR-Daten (s. u., Tab. 1) leicht zu identifizieren. Im IR-Spektrum (Nujol) liegen die $\nu(OH)$ -Bande bei 3676 und die $\nu(BH)$ -Absorptionen bei 2543 und 2522 cm^{-1} . Damit ist **1** dem analogen Cobalt-Komplex^[15] sehr ähnlich. **1**, dessen Molekülstruktur von Parkin bestimmt wurde^[12], ist das bisher beste strukturelle Modell der Carboanhydrase. Die Koordinationsumgebung des Zink-Ions in **1** ist jedoch in der für Komplexe L^3ZnX typischen Weise^[9] gegenüber der tetraedrischen verzerrt, und der $Zn-O$ -Abstand von 185 pm ist deutlich kürzer als der für das aktive Zentrum der Carboanhydrase berechnete von 196 pm^[16] oder der mit 2.0 Å Auflösung für das Enzym ermittelte von ca. 210 pm^[17].

1 ist in Lösung nur mäßig stabil und neigt zur Zersetzung unter B–N-Spaltung. Beim Erhitzen im festen Zustand bis zur Sublimation zerfällt es vollständig unter Abgabe von 5-*tert*-Butyl-3-methylpyrazol. Diese Beobachtung bestätigt die bei den erfolglosen Syntheseversuchen zu L^3ZnOH -Komplexen angestellte Vermutung^[8], daß die Selbstzerstörung der intermediären Verbindungen L^3ZnOH der Grund für die Freisetzung der entsprechenden Pyrazole ist. Auch bei der Behandlung von **1** mit Perchlorsäure in Toluol werden die B–N-Bindungen gespalten. Ergebnis dieser Reaktion ist das 2:1-Gemisch der beiden (Pyrazol)zink-Komplexe **2a** und **b**, dessen Zusammensetzung sich durch Umkristallisa-

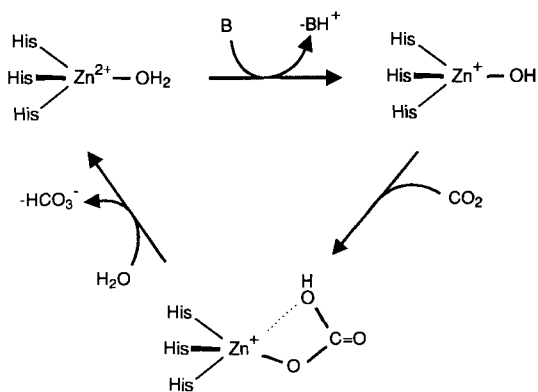
tion nicht ändert. Unter milden Hydrolyse-Bedingungen (Wasser, Methanol, Alkalihydroxide) ist **1** aber stabil.



CO_2 -Reaktionen von L^3ZnOH

Der auf Grund der biochemischen Untersuchungen vorgeschlagene Ablauf der katalytischen Hydratisierungen/Dehydratisierungen im aktiven Zentrum des Enzyms Carboanhydrase^[1] wird in Schema 1 wiedergegeben. Dabei wird durch His_3 die Protein-Umgebung des Zink-Ions und seine Koordination an drei Imidazol-Seitengruppen von Histidin-Einheiten symbolisiert.

Schema 1. Katalytischer Cyclus der Carboanhydrase



Durch die Isolierung von **1** war es nun möglich, einige der hierbei ablaufenden Reaktionen zu modellieren. Die erhaltenen Informationen beruhen im wesentlichen auf NMR-Messungen, die zunächst verwirrend waren, schließlich aber zur Identifizierung und Unterscheidung der in Tab. 1 angegebenen Spezies führten. Grund der Verwirrung war einmal, daß in verschiedenen Lösungsmitteln unterschiedliche Produktverteilungen entstehen und nur in $CDCl_3$ die wichtigste Spezies **4** in nennenswerten Konzentrationen vorliegt, zum anderen, daß die Substanzpaare **1/3**, **1/4** und **3/4** sich immer nur in ein oder zwei NMR-Signallagen unterscheiden und speziell **1** und **3** deckungsgleiche 1H -NMR-Spektren zeigen. Ohne Informationswert war dazu das 1H -NMR-Signal für die OH-Gruppe von **1**, das in $CDCl_3$ nur bei hohen Konzentrationen von **1** bei $\delta = 0.13$ auftaucht, aber dann, vermutlich durch H/D-Austausch mit dem Lösungsmittel, verschwindet.

Leitet man CO_2 in eine $CDCl_3$ -Lösung von **1** ein, so spalten im 1H -NMR-Spektrum die Pyrazol-H- und -*t*Bu-Signale zu zwei Signalen etwa gleicher Intensität auf, während die Lage der Methyl-Signale unverändert bleibt. Im ^{13}C -NMR-Spektrum bleiben die Lagen der Me- und *t*Bu-Signale unverändert, die Pyrazol-C-4- und -C-3-Signale werden im Verhältnis 1:1 aufgespalten, und neben dem C-3-Signal tauchen zwei ca. halb so intensive Signale auf. Zusätzlich beobachtet man im ^{13}C -NMR-Spektrum zwei neue Signale bei

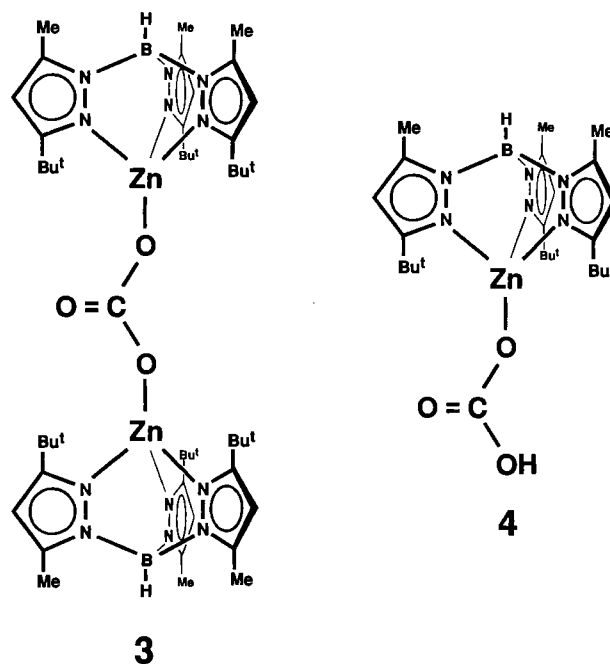
$\delta = 124.8$ (für das gelöste CO_2) und bei $\delta = 157.9$ (zu den anderen δ -Werten siehe Tab. 1). Damit liegt es nahe, daß neben noch vorhandenem **1** mindestens eine, eventuell zwei neue Substanzen in Lösung vorliegen.

Tab. 1. NMR-Daten ($CDCl_3$, int. TMS, δ -Werte) für **1**, **3** und **4**

	1		3		4	
	^{13}C	1H	^{13}C	1H	^{13}C	1H
C3	162.8		166.1		163.8	
C5	143.9		143.8		144.5	
C4-H	102.3	5.70	102.3	5.70	103.0	5.74
$\underline{C}(CH_3)_3$	31.5		31.5		31.5	
$C(\underline{C}H_3)_3$	30.4	1.30	30.4	1.30	30.5	1.26
CH_3	12.7	2.29	12.7	2.29	12.7	2.29
CO_3^{2-}			163.7			
HCO_3^-					157.9	

Eine dieser Substanzen ist durch die folgenden Beobachtungen eindeutig als der zweikernige μ -Carbonato-Komplex **3** identifiziert: Wird die Reaktionslösung im CO_2 -Strom bis zur Trockne verdampft, dann hinterbleibt nur eine Verbindung, deren 1H -NMR-Spektrum mit dem vom **1** deckungsgleich ist, deren ^{13}C -NMR-Spektrum sich aber bezüglich C-3 um 3.3 ppm von dem von **1** unterscheidet und ein zusätzliches Signal bei $\delta = 163.7$ zeigt. Letzteres läßt sich einem Carbonato-Liganden zuordnen^[18], was durch zwei neue IR-Banden (bei $\tilde{\nu} = 1587$ und 1311 cm^{-1} ; in Nujol) untermauert wird^[19,20]. Die Charakterisierung dieser Substanz als der Komplex **3** ist durch die Strukturanalyse von Parkin sichergestellt, der sie bei Reaktionsführung in Benzol kristallin erhielt^[13,21]. Die Strukturanalyse belegt die doppelt-einzählige Bindungsart des μ -Carbonato-Liganden, erlaubt aber wegen dessen Fehlordnung keine Diskussion der Zn–O- und C–O-Bindungslängen. **3** ist der erste eindeutig charakterisierte Carbonatozink-Komplex. Man kennt einige Cobalt-^[20] und Kupfer-Komplexe^[22] mit der gleichen M–O–C(O)–O–M-Verbrückung. Im verwandten μ -Carbonatobis(pyrazolylborato-Kupfer)-Komplex fungiert die CO_3^{2-} -Einheit aber als doppelt-zweizähliger Brückenligand^[23].

Die dritte Substanz in den CO_2 -Reaktionslösungen halten wir aufgrund der folgenden Befunde für den Hydrogencarbonato-Komplex **4**: Da die im 1H -NMR-Spektrum neu auftauchenden Signale nicht dem Zweikernkomplex **3** zuzuordnen sind, müssen sie zu einer weiteren Substanz gehören. Desgleichen sind drei der Signalaufspaltungen im ^{13}C -NMR-Spektrum nicht auf die Bildung von **3** zurückzuführen. Das stärkste Indiz zugunsten der Bildung von **4** ist das isolierte ^{13}C -NMR-Signal bei $\delta = 157.9$, das sich durch Vergleich mit den Signallagen für (Alkylcarbonato)zink-Komplexe (s.u.) dem Hydrogencarbonato-Liganden zuordnen läßt. Aus den NMR-Spektren ergibt sich – unter Berücksichtigung der Tatsache, daß **1** und **3** zumeist identische Signallagen haben –, daß in den CO_2 -gesättigten Lösungen **1**, **3** und **4** im ungefähren Mengenverhältnis 1 : 1 : 2 vorliegen.



Zwei NMR-Experimente erhärteten die Konstitutionszuordnung von **4**: Die quantitative Auswertung der ^{13}C -NMR-Signalintensitäten mit Hilfe der Reversed-Gated-Decoupling-Methode^[24] ergibt für C-3, C-4, C-5 und C(Hydrogencarbonat) ein Häufigkeitsverhältnis von 3 : 3 : 3 : 1, wie es der Formel entspricht. Und bei Verwendung von ^{13}C -markiertem CO_2 treten die Signale für gelöstes CO_2 ($\delta = 124.8$) und für den Hydrogencarbonat-Liganden ($\delta = 157.9$) mit stark erhöhter Intensität auf. Ein letztes Argument zugunsten der Bildung von **4** resultiert aus dem IR-Spektrum einer CO_2 -gesättigten Lösung von **1** in CCl_4 , die neben den $\nu(CO)$ -Banden von CO_2 und **3** (schwach) zwei Banden bei $\tilde{\nu} = 1694$ und 1310 cm^{-1} zeigt, die sich wiederum durch Vergleich mit (Alkylcarbonato)zink-Komplexen (s.u.) dem Hydrogencarbonato-Liganden zuordnen lassen.

Der Komplex **4** hat sich bis jetzt nicht isolieren lassen. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum hinterbleibt **1** mit einigen Prozenten **3**. Beim Einengen im CO_2 -Strom und beim Abkühlen unter einer CO_2 -Atmosphäre kristallisiert **3**. Die gleichen Verhältnisse herrschen in Dichlormethan, Methanol oder Benzol als Lösungsmittel, wobei in methanolischer Lösung **4** und in benzolischer Lösung **3** dominiert. Die leichte Rückreaktion zu **1** und die Weiterreaktion zu **3** deuten an, daß der Hydrogencarbonat-Ligand in **4** nicht ausreichend abgeschirmt ist. Dementsprechend scheinen analoge Hydrogencarbonat-Komplexe mit sterisch anspruchsvolleren Pyrazolylborat-Liganden stabiler zu sein^[14].

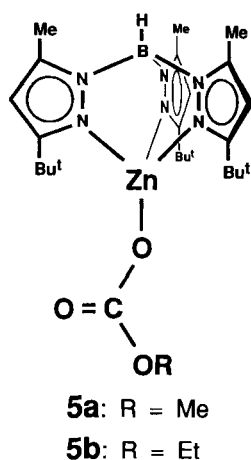
Die Umwandlung von **1** in **4** ist eine Einschleibungsreaktion; bei der Weiterreaktion von **4** mit **1** zu **3** wird ein Äquivalent Wasser abgespalten. Daß alle diese Reaktionen sehr leicht umkehrbar sind, ergibt sich nicht nur aus der Labilität von **4**, sondern auch aus der Hydrolyse-Empfindlichkeit von **3**. **3** ist nur in extrem trockenen Lösungsmitteln zu handhaben und wird im festen Zustand wie in Lösung durch den Zutritt von Luftfeuchtigkeit rasch wieder in **1** umgewandelt.

Auf diese Weise sind in Lösung durch Dosierung des Feuchtigkeits- und CO_2 -Gehalts die Mengenverhältnisse von **1**, **3** und **4** zu variieren und die Komplexe reversibel beliebig ineinander zu überführen.

Die Komplexe $\text{L}^3\text{ZnOC(O)OR}$ und L^3ZnOR

Die Nichtisolierbarkeit von **4** veranlaßte uns zu Versuchen, stabile Derivate davon in die Hand zu bekommen. Diese fanden sich in den Alkylcarbonat-Komplexen **5a** und **b**, die als Ester der Säure $\text{L}^3\text{ZnOC(O)OH}$ klassifiziert werden können. Ihre Bildung und Reaktivität steuerte weiter zum Modellcharakter von **1** für die Carboanhydrase bei.

Setzt man **1** mit einem Dialkylpyrocarbonat ROC(O)OC(O)OR ($\text{R} = \text{Me}, \text{Et}$) um, indem man dieses als Lösungsmittel verwendet, so wird in langsamer Reaktion das Pyrocarbonat durch **1** hydrolysiert, und es fallen in guten Ausbeuten die Komplexe **5** an. Als Nebenprodukt wird dabei der μ -Carbonato-Komplex **3** isoliert. Seine Bildung kann wie bei der Entstehung aus **1** und CO_2 durch einen erneuten Angriff von **1** auf das Intermediat, in diesem Fall **5a** bzw. **b**, gedeutet werden. Konstitution und Darstellungsweg etablieren damit die Verwandtschaft von **4** und **5**.



5a ist durch eine Kristallstrukturanalyse abgesichert, deren Ergebnis in Abb. 1 wiedergegeben ist. Auch diese Strukturanalyse krankt wie die mehrerer L^3ZnX -Komplexe (s. o. und Lit.^[9,13,14,21]) an einer Fehlordnung des X-Liganden. In der ZnOC(O)OR -Ebene liegen zwei OC(O)OR -Einheiten mit Besetzungsfaktoren von 0.7 und 0.3 vor; der O1-Zn-O1' -Winkel beträgt 26° . Abb. 1 gibt die dominierende Molekülform wieder. Die anderen molekularen Parameter bleiben durch diese Fehlordnung unbeeinflusst.

Der Methylcarbonato-Ligand ist einzähnig an das Zinkion gebunden, das sich hier wie üblich in stark trigonal verzerrter tetraedrischer Koordination befindet. Der Zn-O -Abstand von 188 pm entspricht denen in **1** (185 pm^[12]), **3** (185 pm^[21]) und $\text{L}^3\text{ZnOC(O)Me}$ (186 pm^[25]), ist somit für die L^3ZnOX -Situation typisch. Im Methylcarbonato-Komplex $\text{L}^4\text{ZnOC(O)OMe}$ ($\text{L}^4 = \text{Me}_4[14]\text{anN}_4$)^[26] ist er mit 196.5 pm dagegen charakteristisch länger, wie auch in anderen Carboxylatozink-Komplexen, z.B. in $\text{Zn(OAc)}_2(\text{Imidazol})_2$ mit 196 bzw. 198 pm^[27].

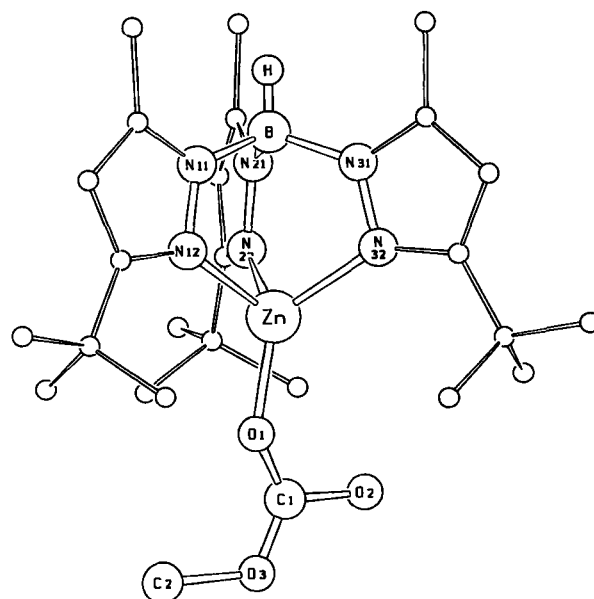


Abb. 1. Molekülstruktur von **5a**; ausgewählte Bindungslängen [pm] und -winkel [$^\circ$]: Zn-N12 204.4(4), Zn-N22 202.5(4), Zn-N32 203.4(4), Zn-O1 188.3(6), O1-C1 121(1), C1-O2 138(1), C1-O3 124(1), O3-C2 155(1); N12-Zn-N22 93.7(2), N12-Zn-N32 94.5(2), N22-Zn-N32 96.6(2), O1-Zn-N12 113.1(2), O1-Zn-N22 121.2(2), O1-Zn-N32 129.6(2), Zn-O1-C1 140.4(6), O1-C1-O2 116(1), O1-C1-O3 131(1), O2-C1-O3 114(1)

Die Zn-O1 -Bindung entspricht nicht der dreizähligen Achse des Pyrazolylborat-Liganden, die sich fast mit der O1-Zn-O1' -Winkelhalbierenden deckt. Entsprechend der Auslenkung von O1 in Richtung auf N12 sind die O-Zn-N -Winkel verschieden. Der Zn-O2 -Abstand von 328 pm ist außerhalb des Bereichs für eine zweizählige Koordination. Kürzer ist der nichtbindende Zn-O -Abstand in $\text{L}^3\text{ZnOC(O)Me}$ (295 pm^[25]), und noch kürzer der längere der beiden Zn-O -Abstände in $\text{HB(3-Phenyl-pz)}_3\text{ZnONO}_2$ (247 pm^[9]). Damit deutet sich für den L^3ZnOX -Strukturtyp ein kontinuierlicher Übergang von der einzähligen zur zweizähligen Koordination des OX -Liganden an. Die Abstände und Winkel im Alkylcarbonato-Liganden von **5a** entsprechen nur grob der Erwartung, z.B. ergibt sich für die C1-O2 -Doppelbindung der längste C-O -Abstand. Hier treten offensichtlich Verfälschungen durch die Fehlordnung auf, die eine Detaildiskussion verbieten.

Ein wichtiges Detail der Molekülstruktur von **5a** besteht darin, daß der Alkylcarbonato-Ligand durch die umgebenden *tert*-Butyl-Gruppen nicht ausreichend abgeschirmt wird. Dies macht seine Weiterreaktion mit **1** zu **3** verständlich. Dies kann auch die Empfindlichkeit des Hydrogencarbonato-Komplexes **4** erklären, der bis auf das Atom C2 mit **5a** deckungsgleich sein sollte. Es ist daraus abzuleiten, daß zur Stabilisierung eines Hydrogencarbonato-Komplexes die Substituenten in 3-Stellung des Pyrazolylborats vergrößert werden sollten.

Die spektroskopischen Daten der Komplexe **5** liefern die wichtigsten Grundlagen für die Identifizierung von **4**. In den NMR-Spektren (Tab. 2) entsprechen alle Banden für den L^3Zn -Molekülteil denen von **1**. Dazu kommen die Alkyl-

carbonat-Signale mit δ(¹³C)-Werten von ca. 158, ganz ähnlich dem von **4**. In den Komplexen [(Me₄[14]anN₄)Zn-OC(O)OR]⁺ liegen diese Signale ebenfalls bei δ = 158–159^[26]. Die IR-Banden für den OC(O)OR-Liganden (Tab. 3) liegen auch in einem charakteristischen Bereich, in den sich der Hydrogencarbonat-Ligand von **4** als Spezialfall eines OC(O)OR-Liganden genau einfügt.

Tab. 2. NMR-Daten (CDCl₃, int. TMS, δ-Werte) von **5a**, **b** und **6**

	5a		5b		6	
	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H
C3	164.4		163.8		163.3	
C5	145.7		144.5		143.7	
C4-H	103.5	5.92	102.9	5.81	102.8	5.71
C(CH ₃) ₃	31.9		31.6		32.0	
C(C(CH ₃) ₃) ₃	30.4	1.36	30.4	1.40	30.6	1.60
CH ₃	13.1	2.42	12.9	2.39	13.1	2.17
CO ₃ R	158.4		157.7			
O-R	54.0	3.68	62.2	3.73q ^a	62.0	4.78q ^b
			15.1	1.25t ^a	22.8	1.85t ^b

^a J = 7.3 Hz. – ^b J = 6.7 Hz.

Tab. 3. CO-Valenzschwingungen von **5a**, **b** und Vergleichssubstanzen (**4** in CCl₄, sonst in Nujol)

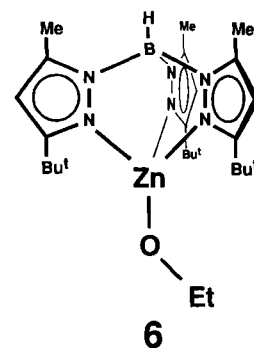
	ν_{as}	ν_s
L ³ Zn-O-COOH (4)	1694	1310
L ³ Zn-O-COOMe (5a)	1689	1280
L ³ Zn-O-COOEt (5b)	1684	1290
L ⁴ Zn-O-COOMe ^a	1676	1310
L ⁴ Zn-O-COOEt ^a	1660	1300

^a L⁴ = Me₄[14]anN₄^[26].

Die Alkylcarbonato-Komplexe **5** zeigen auch in ihrer Reaktivität Modellcharakter in bezug zur Carboanhydrase. So werden sie nicht nur von überschüssigem **1** an ihrer Kohlensäureester-Funktion unter Bildung von **3** gespalten (s. o.), sondern auch durch Spuren von Wasser zersetzt, wobei vermutlich über intermediäres **4** letztlich **1**, CO₂ und ROH gebildet werden. Wie bei **3** und **4** setzt so die sehr leicht verlaufende Hydrolyse das komplexgebundene Kohlensäure-Derivat wieder als CO₂ frei.

Die CO₂-Freisetzung aus **5b** läßt sich auch durch thermische Decarboxylierung herbeiführen. Wird eine Probe von **5b** an das Einlaßsystem eines Quadrupol-Massenspektrometers angeschlossen und erhitzt, so tritt oberhalb von 60°C ein sprunghafter Anstieg des CO₂-Massensignals bei m/z = 44 ein. Diese Beobachtung deutet darauf hin, daß aus **5b** unter CO₂-Eliminierung der Ethanolat-Komplex **6** entsteht.

Präparativ ist **6** durch Hochvakuum-Pyrolyse von **5b** bei 90°C zugänglich. Wegen seiner extremen Hydrolyse-Empfindlichkeit ist **6** nicht durch Umkristallisation zu reinigen. Seine NMR-Spektren (Tab. 2) belegen aber seine Konstitution. In seinem IR-Spektrum fehlen die CO-Valenzschwin-

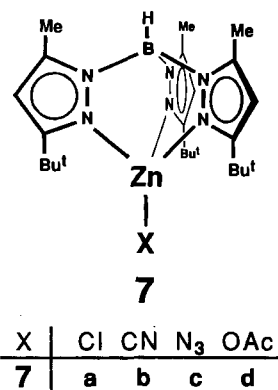


gungen von **5a** oder **4**, und seine ν(BH)-Bande (Exp. Teil) ist charakteristisch gegenüber denen von **1** oder **5a** verschoben. In Gegenwart von Feuchtigkeit geht **6** spontan und quantitativ in **1** und Ethanol über. Thermische und hydrolytische Zerlegung von **5** bzw. **6** vollenden also hier das Modell des katalytischen Cyclus der Zink-vermittelten Kohlensäure-Dehydratisierung.

Substitution der OH-Gruppe von L³ZnOH

Für das Enzym Carboanhydrase gibt es zahlreiche Inhibitoren^[1,2,28,29]. Deren bekannteste sind kleine nucleophile Anionen und die Substanzgruppe der Sulfonamide. Bei ihrer inhibierenden Wirkung wird entweder der Zugang zum aktiven Zentrum blockiert oder das Zink-gebundene Hydroxid-Ion ersetzt. Die Verfügbarkeit des Komplexes L³ZnOH (**1**) gab nun Gelegenheit, auch diesen Typ von Enzymreaktion modellhaft nachzuvollziehen.

Lösungen von **1** in Methanol reagieren rasch und in hohen Ausbeuten mit LiCl, KCN und NaN₃. Die Produkte der OH-Substitution **7a–c** fallen dabei praktisch analysenrein aus der Reaktionslösung aus. Die Substitution durch das Acetat-Ion, einen guten Liganden für L³Zn-Komplexe^[9,25], gelingt sogar, wenn dieses als Kupferacetat angeboten wird. Das entstehende **7d** ist aber über Mangan(II)-acetat oder Blei(II)-acetat nicht zugänglich, ebensowenig wie Metallnitrate oder -carbonate die Substitution der OH-Gruppe in **1** auslösen. Die Komplexe **7** sind über ihre ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren (Tab. 4) leicht zu identifizieren, die für den L³Zn-Teil in allen Belangen denen der zuvor beschriebenen L³Zn-Komplexe entsprechen.



Die Komplexe **7a–c** lassen sich mit KOH nicht wieder in **1** zurückverwandeln, was indirekt die Labilität von **1** be-

Tab. 4. NMR-Daten (CDCl_3 , int. TMS, δ -Werte) von **7a**–**d**

	7a		7b		7c	7d
	^1H		^{13}C			
C3			163.2			
C5			144.4			
C4-H	5.84	5.86	102.8		5.86	5.76
$\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$			31.7			
$\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$	1.43	1.45	30.9		1.43	1.29
CH_3	2.40	2.41	12.7		2.41	2.32
Zn-X			139.8			2.05

legt. Gegenüber Sulfonamiden scheint **1** aber inert zu sein: mit dem als Carboanhydrase-Inhibitor bekanntesten Vertreter dieser Verbindungsklasse, dem Acetazolamid^[1,28], von dem wir auch schon einen Zink-Komplex untersucht haben^[30], reagiert **1** nicht.

Diskussion

Mit Hilfe des Komplexes L^3ZnOH (**1**) als Carboanhydrase-Modell sind nun erstmals wesentliche Teilschritte der katalytischen Hydratisierung von CO_2 bzw. Dehydratisierung von HCO_3^- durch Isolierung von Zwischenstufen und deren Derivaten nachvollzogen. **1** ist durch die doppelte Substitution seines Pyrazolylborat-Liganden einerseits inert genug, um isoliert werden zu können, andererseits ist die sterische Hinderung in der Nachbarschaft des Zink-Ions nicht so groß, daß Reaktionen an diesem „aktiven Zentrum“ zu sehr beeinträchtigt werden.

Die Bedeutung von **1** als funktionelles Modell der Carboanhydrase liegt in der Umsetzung mit CO_2 zum labilen Hydrogencarbonat-Komplex **4**, der mit **1** zum Carbonatverbückten Zweikernkomplex **3** weiterreagiert und auch bei Versuchen zur Kristallisation in diesen übergeht. Reaktionen von Übergangsmetallkomplexen mit CO_2 und die Eigenschaften von Carbonato-Komplexen sind seit langem Gegenstand vieler Untersuchungen^[18,31]. Doch die ausschließliche Einschubung von CO_2 in eine $\text{M}-\text{OH}$ -Funktion ist dabei eine seltene Ausnahme, und die strukturanalytische Identifizierung von Hydrogencarbonat-Komplexen ist bis jetzt auf Beispiele aus der metallorganischen Chemie beschränkt geblieben^[32]. Die hohe Labilität von **3** und **4** und ihre leichte Rückumwandlung in **1** entsprechen dabei der Bedeutung von Zink für den enzymkatalysierten Vorgang. Denn von einem zu L^3ZnOH ähnlichen (Pyrazolylborato)-kupfer-Komplex $[\text{L}^3\text{Cu}(\mu\text{-OH})_2]$ wird CO_2 irreversibel zu einem entfernt mit **3** verwandten Komplex aufgenommen^[23], ganz analog zu der Tatsache, daß bei Ersatz von Zink durch Kupfer die Carboanhydrase inaktiv wird. In den molekularen Details scheinen jedoch die Zwischenstufen-Modelle **3** und **4** nicht dem biologischen Vorbild zu entsprechen: während für letzteres eine unsymmetrische Fünffach-Koordination des Zink-Ions angenommen wird (Schema 1), enthalten **4** (modelliert in **5**) und **3** einzählige Carbonat-Liganden und ein verzerrt tetraedrisch koordiniertes Zink-Ion.

Die Komplexe **5** und **6** bestärken die Identifizierung des nicht isolierbaren Komplexes **4**. Die Strukturanalyse von **5a** entspricht der Erwartung für einen Methylester von **4**, und die thermische Decarboxylierung von **5b** liefert in Form von **6** eine Verbindung, die sich als ein Ethylester von **1** klassifizieren läßt. Beide Verbindungen, speziell **6**, sind wieder sehr empfindlich gegen Wasser, von dem sie wie auch **3** und **4** in **1** zurückverwandelt werden. Damit ist ein nahezu komplettes Reaktionssystem zwischen Kohlensäure in ihren verschiedenen Veresterungs- und Dehydratisierungs- bzw. Deprotonierungsstufen und dem Hydroxozink-Komplex hergestellt.

Die Reaktivität in diesem System ist wesentlich mit dem Vorhandensein von $\text{Zn}-\text{O}$ -Bindungen verknüpft. In Gegenwart kleiner nucleophiler Anionen gehen diese zugunsten anderer Bindungen (in den Komplexen **7**) verloren, was analog zur Inhibierung des Enzyms durch solche Anionen ist. Im Zusammenhang damit steht unsere Beobachtung, daß Spezies wie **1**, **3** oder **4** ausgehend von den bequem zugänglichen Halogeno-Komplexen L^3ZnHal nicht zugänglich sind^[14]. Das katalytische System der Carboanhydrase basiert demnach wohl auch auf der Tatsache, daß das Zink-Ion als vorwiegend zu den weichen Säuren nach Pearson zählende Spezies zwar Sauerstoff-haltige Liganden noch akzeptiert, aber eben in Form labiler und nur mäßig stabiler Komplexe.

Das hier beschriebene Reaktionssystem $\text{L}^3\text{ZnOH}/\text{CO}_2$ erlaubt keine katalytische Hydratisierung von CO_2 , wie es für andere Zink-Komplexe mit dreizähligen Liganden beobachtet wurde^[5]. Letztere haben dafür jedoch den Nachteil, keine strukturellen Modelle der Carboanhydrase darzustellen. Die herausragende Eigenschaft von **1** und seinen Reaktionsprodukten ist dementsprechend, daß durch sie die wichtigsten Intermediate des Katalysezyklus repräsentiert sind und zur Untersuchung in Form kleiner Moleküle zur Verfügung stehen.

Diese Arbeit wurde von der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und dem *Fonds der Chemischen Industrie* unterstützt. Dr. W. Deck und Dipl.-Chem. A. Meißner steuerten wichtige NMR-Messungen bei. Besonderer Dank gebührt Prof. G. Parkin von der Columbia University, New York, für die Kooperation und zahlreiche fruchtbare Diskussionen sowie Prof. M. Binnewies für die Ermöglichung der MS-Untersuchungen.

Experimenteller Teil

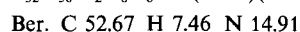
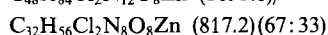
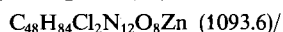
Die allgemeinen experimentellen Techniken waren wie beschrieben^[33]. Der Ligand L^3 wurde nach Literaturvorschrift^[11] gewonnen. Alle neuen Komplexe sind in Tab. 5 charakterisiert. IR-Spektren ($\tilde{\nu}$ -Werte [cm^{-1}]) wurden, wenn nicht anders angegeben, von Nujol-Suspensionen vermessen. Bei der Aufnahme des ^{13}C -NMR-Spektrums von **4** nach der Reversed-Gating-Decoupling-Methode wurden die Spin-Gitter-Relaxationszeiten zunächst durch ein Inversion-Recovery-Experiment abgeschätzt und daraufhin die Wartezeit zwischen zwei Meßimpulsen zur vollständigen Relaxation der C-Atome auf 5 min eingestellt.

Herstellung von 1: 205 mg (0.55 mmol) $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ wurden zu einer Lösung von 250 mg (0.55 mmol) $\text{K}[\text{HB}(3\text{-}t\text{Bu-5-Mepz})_3]$ in 40 ml Methanol gegeben. Nach 15 min wurde zu der Reaktionslösung eine Lösung von 31.0 mg (0.55 mmol) KOH in 10 ml Me-

thanol gegeben und die Mischung 1 h bei Raumtemp. gerührt. Die Lösung wurde durch ein Membranfilter filtriert, um das ausgefallene $KClO_4$ abzutrennen, und anschließend eingeeengt, bis kristallines **1** ausfiel. Zur Vervollständigung der Kristallisation ließ man die Reaktionslösung noch 24 h bei $-20^\circ C$ stehen. Das analysenreine Produkt wurde abfiltriert und im Ölpumpenvakuum getrocknet. Man erhielt insgesamt 180 mg (65%) **1**.

Thermische Zersetzung von 1: Aus 70.0 mg (0.14 mmol) **1** sublimierten bei $180^\circ C/0.3$ Torr 40.0 mg (92%) analysenreines kristallines 3-*tert*-Butyl-5-methylpyrazol.

Umsetzung von 1 mit Perchlorsäure: Zu einer Lösung von 150 mg (0.29 mmol) **1** in 20 ml Toluol wurden unter Rühren 2 ml $HClO_4$ (70%) in 8 ml Wasser gegeben. Nach 2 h wurde die organische Phase abgetrennt, mit $MgSO_4$ getrocknet und i. Vak. zur Trockne eingeeengt. Umkristallisation aus heißem Toluol ergab 120 mg eines 2:1-Gemisches aus **2a** und **b**, dessen Zusammensetzung sich durch mehrfaches Umkristallisieren nicht änderte. — 1H -NMR ($CDCl_3$): 9.80 (br. s, NH), 6.08 (s, Ring-CH), 2.40 [s, Me(**2b**)], 2.33 [s, Me(**2a**)], 1.39 [s, *t*Bu(**2a**)], 1.37 [s, *t*Bu(**2b**)]. — IR: $\nu(NH)$ 3198 (br.), 3138.



Herstellung von 3: Durch eine Lösung von 100 mg (0.20 mmol) **1** wurde ein langsamer CO_2 -Strom geleitet, bis alles Lösungsmittel verdampft war. Danach wurde der Rückstand 1 h im CO_2 -Strom getrocknet. Man erhielt so **3** als einziges Produkt der Reaktion. Wegen seiner Empfindlichkeit konnte **3** nicht durch Umkristallisieren gereinigt werden.

Herstellung der Komplexe 5. — **5a:** 50.0 mg (0.10 mmol) **1** wurden unter Rühren in 2 ml Pyrokohlensäure-dimethylester suspendiert. Nachdem eine klare Lösung entstanden war (ca. 2 h), wurde soviel überschüssiger Ester im Ölpumpenvakuum entfernt, bis der Alkylcarbonato-Komplex zu kristallisieren begann. Zur Vervollständigung der Kristallisation wurde die Reaktionslösung ca. 12 h bei $3^\circ C$ belassen. Anschließend wurde das kristalline Produkt abfiltriert, mit Pentan gewaschen und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Tab. 5. Charakterisierung der neuen Komplexe

	Schmp. [$^\circ C$] $\nu(BH)$ [cm^{-1}]	Summenformel (Molmasse)	Analysen		
			C	H	N
1	160 (Zers.)	$C_{24}H_{41}BN_6OZn$	Ber. 56.99	8.17	16.62
	2543/2522	(505.9)	Gef. 56.70	8.10	16.42
4	50 (Zers.)	$C_{49}H_{80}B_2N_{12}O_3Zn_2$	Ber. 56.72	7.77	16.20
	2555/2520	(1037.8)	Gef. 56.20	8.01	16.27
5a	270 (Zers.)	$C_{26}H_{43}BN_6O_3Zn$	Ber. 55.38	7.69	14.91
	2553/2522	(560.8)	Gef. 55.12	7.61	15.23
5b	260 (Zers.)	$C_{27}H_{45}BN_6O_3Zn$	Ber. 56.36	7.82	14.61
	2551/2518	(574.8)	Gef. 55.96	7.80	15.19
6	320 (Zers.)	$C_{26}H_{45}BN_6OZn$	Ber. 58.44	8.43	15.73
	2562	(533.9)	Gef. 54.45	7.61	15.68
7a	185	$C_{24}H_{40}BClN_6Zn$	Ber. 54.98	7.69	16.03
	2542	(524.3)	Gef. 54.66	7.60	15.88
7b	167	$C_{25}H_{40}BN_7Zn$	Ber. 58.32	7.83	19.05
	2533	(514.9)	Gef. 57.56	7.56	18.63
7c	155 (Zers.)	$C_{24}H_{40}BN_9Zn$	Ber. 54.30	7.60	23.75
	2555	(530.9)	Gef. 53.08	7.30	23.37
7d	214	$C_{26}H_{43}BN_6O_2Zn$	Ber. 57.00	7.91	15.34
	2547	(547.9)	Gef. 57.80	7.84	14.79

Es verblieben 36.0 mg (65%) **5a**. Die Mutterlauge der Reaktion wurde fast bis zur Trockne eingeeengt und anschließend nochmals zur Kristallisation bei $3^\circ C$ belassen. Im Laufe von 3 d kristallisierten 10.0 mg (20%) **3**.

5b: Wie **5a** aus 50.0 mg (0.10 mmol) **1** und 2 ml Pyrokohlensäure-diethylester. Man erhielt aus der ersten Kristallisation 40.0 mg (70%) **5b** und aus der zweiten Kristallisation 12.0 mg (24%) **3**.

Decarboxylierung von 5b: 200 mg (0.35 mmol) **5b** wurden i. Hochvak. (10^{-6} mbar) 12 h getrocknet und anschließend 2 h auf $90^\circ C$ erhitzt. Danach lagen 186 mg (100%) rohes **6** vor, das spektroskopisch charakterisiert wurde. Bei Versuchen zur Umkristallisation nahm die Reinheit von **6** wegen dessen extremer Hydrolyse-Empfindlichkeit ab.

OH-Substitution an 1. — **7a:** Zu einer methanolischen Lösung von 40.0 mg (0.08 mmol) **1** wurde eine Lösung von 10.0 mg (0.09 mmol) $LiCl \cdot 4 H_2O$ in 5 ml Methanol unter Rühren getropft. Der sofort ausgefallene Niederschlag wurde abfiltriert, mit wenig Methanol gewaschen und aus Toluol bei $-18^\circ C$ umkristallisiert, wobei 39.0 mg (94%) **7a** anfielen.

7b: Wie **7a** aus 40.0 mg (0.08 mmol) **1** und 7.00 mg (0.11 mmol) KCN; Ausb. 38.0 mg (93%) **7b**.

Tab. 6. Atomparameter von **5a**

Atom	X	Y	Z	U_{eq}
Zn	1262 (1)	7815 (1)	2097 (1)	35 (1)
B	-431 (5)	6645 (3)	2626 (4)	35 (2)
N(11)	-1214 (4)	7313 (2)	2361 (3)	34 (1)
N(12)	-636 (4)	7936 (2)	2057 (3)	36 (1)
C(11)	-1560 (5)	8415 (3)	1872 (3)	40 (1)
C(12)	-2710 (5)	8100 (3)	2058 (3)	46 (1)
C(13)	-2473 (5)	7410 (3)	2358 (3)	39 (1)
C(14)	-3376 (5)	6830 (4)	2621 (4)	59 (2)
C(15)	-1279 (5)	9171 (3)	1532 (4)	52 (2)
C(16)	-660 (7)	9623 (4)	2241 (4)	75 (3)
C(17)	-2494 (7)	9547 (4)	1255 (5)	84 (3)
C(18)	-418 (7)	9119 (4)	755 (4)	73 (3)
N(21)	421 (4)	6846 (2)	3378 (2)	32 (1)
N(22)	1259 (4)	7425 (2)	3308 (3)	36 (1)
C(21)	1787 (5)	7514 (3)	4083 (3)	36 (1)
C(22)	1299 (5)	6993 (3)	4637 (3)	42 (1)
C(23)	441 (4)	6587 (3)	4187 (3)	34 (1)
C(24)	-335 (5)	5956 (3)	4478 (3)	49 (2)
C(25)	2753 (5)	8088 (3)	4255 (3)	49 (2)
C(26)	2263 (7)	8841 (3)	3987 (4)	72 (3)
C(27)	3062 (7)	8101 (4)	5210 (4)	88 (3)
C(28)	3938 (6)	7912 (4)	3764 (4)	80 (3)
N(31)	347 (4)	6377 (2)	1859 (3)	34 (1)
N(32)	1254 (4)	6824 (2)	1503 (3)	36 (1)
C(31)	1746 (5)	6446 (3)	846 (3)	41 (1)
C(32)	1158 (5)	5770 (3)	787 (3)	46 (1)
C(33)	293 (5)	5737 (3)	1427 (3)	40 (1)
C(34)	-589 (6)	5136 (3)	1646 (4)	58 (2)
C(35)	2808 (5)	6738 (4)	309 (4)	54 (2)
C(36)	3983 (6)	6781 (5)	861 (5)	87 (3)
C(37)	2481 (7)	7494 (4)	-42 (4)	74 (3)
C(38)	3042 (8)	6225 (5)	-445 (5)	104 (4)
O(1)	2130 (6)	8679 (3)	1811 (4)	53 (2)
C(1)	3191 (7)	8910 (5)	1747 (4)	73 (3)
O(2)	4119 (7)	8388 (5)	1735 (5)	93 (3)
O(3)	3585 (9)	9544 (5)	1643 (5)	91 (4)
C(2)	2597 (9)	10157 (5)	1760 (9)	89 (5)
O(1')	2670 (16)	8344 (9)	1794 (10)	55 (5)
O(2')	2211 (16)	9559 (10)	1891 (10)	80 (5)
O(3')	4168 (19)	9190 (12)	1713 (13)	76 (7)

7c: Wie 7a aus 40.0 mg (0.08 mmol) **1** und 7.00 mg (0.11 mmol) NaN_3 ; Ausb. 39.0 mg (93%) **7c**.

7d: Zu einer Lösung von 35.0 mg (0.07 mmol) **1** in 10 ml Methanol wurden unter Rühren 14.0 mg (0.07 mmol) $\text{Cu}(\text{OAc})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ gegeben. Nach 15 min wurde die Lösung filtriert und i. Vak. auf die Hälfte eingengt. Nach 24 h bei -20°C kristallisierten 30.0 mg (71%) **7d**, die mit wenig Pentan gewaschen wurden.

Strukturanalyse^[34]: Das allgemeine Vorgehen bei der Strukturanalyse und die zur Datenverarbeitung benutzten Programme waren wie voranstehend beschrieben^[9]. Als Besonderheit der Strukturlösung mußte die im Text diskutierte 70:30-Fehlordnung des Methylcarbonato-Liganden berücksichtigt werden. Dadurch war die Lage des äußeren C-Atoms C2' für die zu 30% besetzte Lage des Methylcarbonats so schlecht definiert, daß dieses C-Atom nicht mit sinnvollen Temperaturfaktoren in die Berechnungen miteinbezogen werden konnte. Farblose Kristalle von **5a** wurden bei 3°C direkt aus der Reaktionslösung erhalten. Summenformel: $\text{C}_{26}\text{H}_{43}\text{BN}_6\text{O}_3\text{Zn}$; Molmasse: 560.8; Kristallgröße: $0.5 \times 0.4 \times 0.2$ mm; Raumgruppe: $P2_1/n$; $Z = 4$; $a = 1069.8(2)$, $b = 1824.4(4)$, $c = 1565.7(3)$ pm; $\beta = 90.08(3)^\circ$; $V = 3.055(1) \text{ nm}^3$; $d_{\text{ber.}} = 1.22$; $d_{\text{gef.}} = 1.23 \text{ g cm}^{-3}$; $\mu = 8.6 \text{ cm}^{-1}$; 2θ -Bereich: $2-44^\circ$; hkl -Bereich: $\pm h$, $+k$, $+l$; 3163 Reflexe mit $I \geq 3\sigma(I)$; 346 Variable; R-Wert nach empirischer Absorptionskorrektur: 0.048; Restelektronendichten: $+0.5$ und $-0.3 \cdot 10^6 \text{ e/pm}^3$. Tab. 6 gibt die Atomparameter.

^[1] *Carbonic Anhydrase* (Hrsg.: R. Botré, G. Gros, B. T. Storey), VCH, Weinheim, 1991.

^[2] *Zinc Enzymes* (Hrsg.: I. Bertini, C. Luchinat, W. Maret, M. Zeppezauer), Birkhäuser, Boston, 1986.

^[3] J.-Y. Liang, W. Lipscomb, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, *87*, 3675–3679; B. L. Vallee, D. S. Auld, *ibid.* **1990**, *87*, 220–224; O. Jacob, R. Cardenas, O. Tapia, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8692–8705; M. Sola, A. Lledos, M. Duran, J. Bertan, *Inorg. Chem.* **1991**, *30*, 2523–2527.

^[4] Vgl.: R. S. Brown, J. Huguet, N. J. Curtis in *Zinc and its Role in Biology and Nutrition* (Hrsg.: H. Sigel), Marcel Dekker, New York, **1983**, S. 55–99.

^[5] H. Slebocka-Tilk, J. L. Cocho, Z. Frakman, R. S. Brown, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 2421–2431; R. S. Brown, M. Zamkanej, J. L. Cocho, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 5222–5228; S. H. Gellmann, R. Petter, R. Breslow, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2388–2394.

^[6] E. Kimura, T. Shiota, M. Koike, M. Kodama, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 5805–5811.

^[7] A. F. Wells, *Structural Inorganic Chemistry*, Clarendon Press, Oxford, **1975**, S. 410ff., 529ff., 913ff.

^[8] R. Alsfasser, H. Vahrenkamp, *Chem. Ber.* **1993**, *126*, 695–701, voranstehend, sowie darin zitierte Arbeiten.

^[9] R. Alsfasser, A. K. Powell, S. Trofimenko, H. Vahrenkamp, *Chem. Ber.* **1993**, *126*, 685–694.

^[10] N. Kitajima, K. Fujisawa, C. Fujimoto, Y. Moro-oka, *Chem. Lett.* **1989**, 421–424.

^[11] S. Trofimenko, J. C. Calabrese, J. K. Kochi, S. Wolowiec, F. B. Hulsbergen, J. Reedijk, *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 3943–3950.

^[12] R. Alsfasser, S. Trofimenko, A. Looney, G. Parkin, H. Vahrenkamp, *Inorg. Chem.* **1991**, *30*, 4098–4100.

^[13] A. Looney, G. Parkin, R. Alsfasser, M. Ruf, H. Vahrenkamp, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 57–58; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 92–93.

^[14] M. Ruf, K. Weis, H. Vahrenkamp, unveröffentlichte Ergebnisse.

^[15] J. W. Egan, B. S. Haggerty, A. L. Rheingold, S. C. Sendlinger, K. H. Theopold, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 2445–2446.

^[16] M. M. Kenneth, R. Hoffmann, M. J. S. Dewar, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5636–5649.

^[17] A. E. Eriksson, T. A. Jones, A. Liljas, *Proteins* **1988**, *4*, 274–282.

^[18] D. A. Palmer, R. van Eldik, *Chem. Rev.* **1983**, *83*, 651–731.

^[19] K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, 3. Auflage, Wiley, New York, **1978**, S. 243–244.

^[20] M. R. Churchill, R. A. Lashewycz, K. Koshy, T. P. Dasgupta, *Inorg. Chem.* **1981**, *20*, 376–381.

^[21] G. Parkin, Privatmitteilung.

^[22] Z. Tyeklar, P. P. Paul, R. T. Jacobson, A. Farooq, K. D. Karlin, J. Zubieta, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 388–389. R. Gagne, R. Gall, G. C. Lisensky, R. E. Marsh, L. M. Speltz, *Inorg. Chem.* **1979**, *18*, 771–781.

^[23] N. Kitajima, K. Fujisawa, T. Koda, S. Hikichi, Y. Moro-oka, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1990**, 1357–1358.

^[24] H. Friebolin, *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*, VCH, Weinheim, **1988**, S. 112–113.

^[25] R. Han, I. B. Gorell, A. Looney, G. Parkin, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1991**, 717–719.

^[26] M. Kato, T. Ito, *Inorg. Chem.* **1985**, *24*, 509–514.

^[27] W. D. Horrocks jr., J. N. Ishley, R. R. Whittle, *Inorg. Chem.* **1982**, *21*, 3265–3269.

^[28] H. Zellner, *Handbook of Enzyme Inhibitors*, VCH, Weinheim, **1989**.

^[29] P. Wyeth, R. H. Prince, *Inorg. Perspect. Biol. Med.* **1977**, *196*, 501–510.

^[30] U. Hartmann, H. Vahrenkamp, *Inorg. Chem.* **1991**, *30*, 4676–4677.

^[31] D. A. Palmer, G. M. Harris, *Inorg. Chem.* **1974**, *13*, 965–969.

^[32] S. Ganguly, J. T. Mague, D. M. Roundhill, *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 3831–3835.

^[33] D. Heineke, D. S. Bohle, H. Vahrenkamp, *Chem. Ber.* **1993**, *126*, 355–363.

^[34] Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Fachinformationszentrum Karlsruhe, Gesellschaft für wissenschaftlich-technische Information mbH, D-7514 Eggenstein-Leopoldshafen 2, unter Angabe der Hinterlegungsnummer CSD-320572, der Autorennamen und des Zeitschriftenzitats angefordert werden.