Bioanorganische Chemie II
(Kupfer, Zink, Alkali- und Erdalkalimetalle)

Skriptum zur Vorlesung im Sommersemester 2006
Dieter Rehder

Die Bioanorganische Chemie richtet sich an all denjenigen chemischen Prozessen, in denen Anorganika (vornehmlich Metallionen) in physiologische Abläufen direkt oder indirekt einbezogen sind. Beispiele: die Rolle des Eisens beim Sauerstofftransport und in der Atmungskette, die Rolle des Zinks in der genetischen Transskription und der enzymatischen Hydrolyse, die Rolle von Magnesium bei der Synthese und Hydrolyse von Adenosintriphosphat, die toxische und ökotoxische Bedeutung von Cadmium und Quecksilber, die Bedeutung von Platin in der Chemotherapie des Krebses. In all diesen Bereichen gibt es Berührungspunkte vor allem mit der Koordinationschemie und teils auch mit der Organometallchemie (Methylcobalamin, Hydrogenasen und Acetylcoenzym-A-Synthease, Selenocystein, Methanogenese). Wechselbeziehungen bestehen auch mit der Materialwissenschaft über die Biomineralisation (Erzeugung mineralischer Stoffe durch biologische Prozesse). Beispiele für biologisch relevante, nichtmetallische Anorganika sind einfache Moleküle und Molekülionen wie NO, CO, $HO^{\bullet}$, O_2^-, H_2, CO_2, NH_4^+.

Buchempfehlung: W. Kaim, B. Schwederski: Bioanorganische Chemie, Teubner 2004 (bei Wiley unter dem Titel "Bioinorganic Chemistry" auch auf Englisch erschienen).

In der Vorlesung Bioanorganische Chemie **II** werden die biologische Funktionen der Elemente Kupfer, Mangan, Zink, der Alkali- und Erdalkalimetalle, sowie der toxischen Elemente Cadmium und Quecksilber behandelt. Zu Eisen, Molybdän, Vanadium und Nickel vergl. Teil **I**.

1. Die Photosynthese

Ort der Photosynthese sind die Chloroplasten, grüne Zellorganellen, die Thylakoidstapel enthalten, in denen sich wiederum die eigentlichen Photozentren befinden.

Bilanzgleichung:

$$\overset{+IV}{CO_2} + 2H_2O^* \xrightarrow{h\nu} \overset{0}{\{CH_2O\}} + (O^*)_2 + H_2O$$

$\{CH_2O\}$ steht für Kohlenhydrate, z.B. Glucose $C_6H_{12}O_6$. Die Reaktion erfordert 470 kJ/mol. Der frei werdende Sauerstoff (*) entstammt dem Wasser.

Die Gesamtreaktion teilt sich auf in eine Lichtreaktion und eine Dunkelreaktion; die Lichtreaktion wiederum in Prozesse, die im Photosystem II (PS II) und solche, die im Photosystem I (PS I) ablaufen.

Lichtreaktion:

PSII: $P_{680} \rightarrow [P_{680}]^+ + e^-$; Rückoxidation durch: $H_2O \rightarrow ½O_2 + 2\,H^+ + 2e^-$

PSI: $P_{700} \rightarrow [P_{680}]^+ + e^-$; $[P_{700}]^+ + e^- \rightarrow P_{700}$

$NADP^+ + 2H^+ + 2e^- \rightarrow NADPH + H^+$

(NADP = Nicotin-Adenin-Dinucleotidphosphat; P_{680} und P_{700} stehen für Chlorophyll-a; P = Pigment; der Zahlenindex gibt das Absorptionsmaximum an).

Die Reduktion des $NADP^+$ wird von einem Enzymsystem mit den Cofaktoren {2Fe-2S}-Ferredoxin und FAD (Flavin-Adenin-Dinucleotid) katalysiert. Zwischen PSII und PSI steht eine mehrstufige Elektronenübertragungskette (s.u.).

<u>Dunkelreaktion</u>:

$$2(NADPH + H^+) + CO_2 \rightarrow \{CH_2O\} + H_2O + 2NADP^+$$

gekoppelt mit der Hydrolyse von ATP zu ADP und HPO_4^{2-}

<u>Die Lichtreaktion - Chlorophyll und Wasseroxidase</u>

Primärer Schritt ist die Photooxidation eines Moleküls Chlorophyll-*a* (P_{700} in PSI bzw. P_{680} im PSII). Die hierzu erforderliche Energie wird durch die ca. 300 Pigmentmoleküle (Chlorophylle-*a* und -*b* (s. die Abb. 1), Xantophylle, Carotine u.a.; "Antennenmoleküle"), aus denen sich ein Photosystem zusammensetzt, aus dem Sonnenlicht gesammelt und den Reaktionszentren P_{680} bzw. P_{700} zugeleitet:

PSII: Chl-*a* + hν → [Chl-*a*]*
($\equiv P_{680}$)

$$[\text{Chl-}a]^* + \text{Php} \rightarrow [\text{Chl-}a]^+ + [\text{Php}]^-$$
$$[\text{Chl-}a]^+ + \text{Tyr}^- \rightarrow \text{Chl-a} + \text{Tyr}^\cdot$$

$$2\text{Tyr}^\cdot + H_2O \xrightarrow{\{Mn\}} 2\text{TyrOH} + \tfrac{1}{2} O_2$$

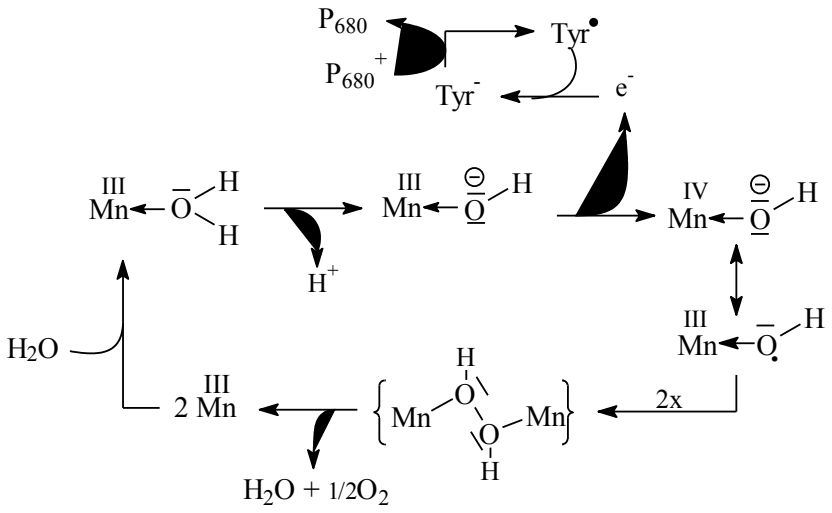
({Mn} = Wasseroxidase; s.u.)

$$2[\text{Php}]^- + Q_A + 2H^+ \rightarrow \text{Php} + H_2Q_A$$
$$H_2Q_A + Q_B \rightarrow Q_A + H_2Q_B$$

Php = Phäophycin (dem Chlorophyll vergleichbar, aber ohne Mg^{2+}) Tyr^- = Tyrosinat, $Tyr^\cdot$ = Tyrosyl-Radikal, TyrOH = Tyrosin. Q bzw. H_2Q sind Chinone (engl.: quinone) bzw. Hydrochinone vom Typ der so gen. Plastochinone (mit einer Methylgruppe am C5 und C6, und einer aus mehreren Isopren-Einheiten zusammengesetzten Seitenkette am C2; vergl. Abb. 3). Zwei derartige Chinone, Q_A und Q_B sind an der Elektronenübertragung beteiligt. Dieser Schritt wird katalysiert durch ein Enzym mit einem eisenhaltigen Cofaktor, wahrscheinlich ein Eisenzentrum der Zusammensetzung $\{Fe(His)_4Glu\}$. H_2Q_B speist die Elektronen dann in die zum PSI führende Elektronenübertragungskette ein.

Die Reaktionszentren P_{680} und P_{700} sind Dimere des Chlorophylls *a*; die Dimerisierung verläuft, wie in Abb. 1 gezeigt, über Wasserstoffbrücken zwischen der Ketogruppe des annelierten Cyclopentenonringes und dem an Mg^{2+} koordinierten Aqualiganden.

Die Katalyse der Oxidation des Wassers durch das manganhaltige Enzym „Wasseroxidase" (engl.: Oxygen-Evolving Centre, OEC) kann man sich wie folgt vorstellen:



Die Wasseroxidase enthält vier Mangan- und ein Calciumzentrum, Drei Mn- und ein Ca bilden zusammen mit vier verbrückenden Oxoanionen eine Kubanstruktur. Das vierte Mn-Zentrum befindet sich außerhalb dieses Kubus, ist aber über eine der vier Oxogruppen mit dem Kubus verknüpft; vergl. Abb. 2. Im katalytischen turn-over wechseln die Manganzentren zwischen den Oxidationsstufen +III und +IV. Mindestens fünf unterschiedliche Gesamtspinzustände der Wasseroxidase konnten charakterisiert werden.

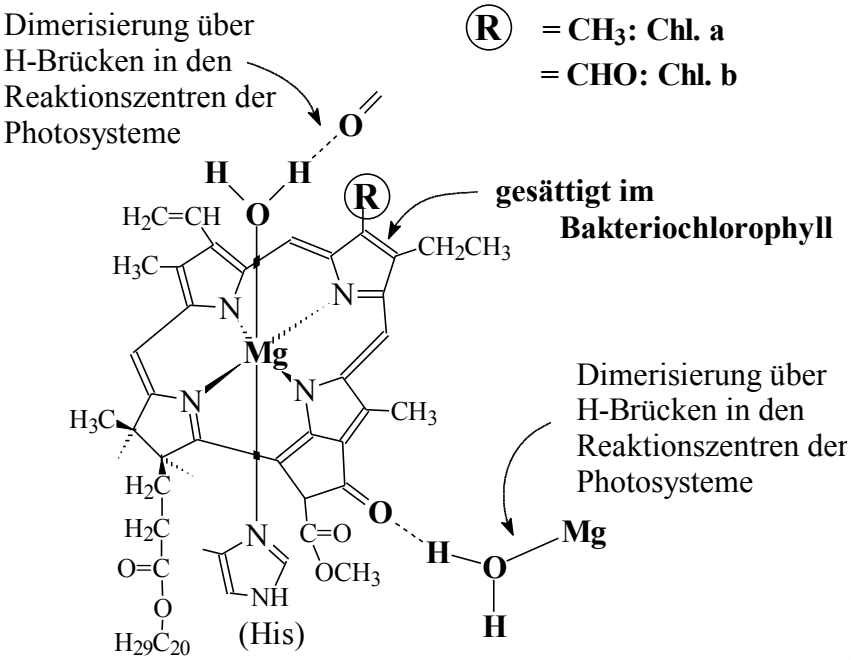


Abbildung 1. Chlorophylle

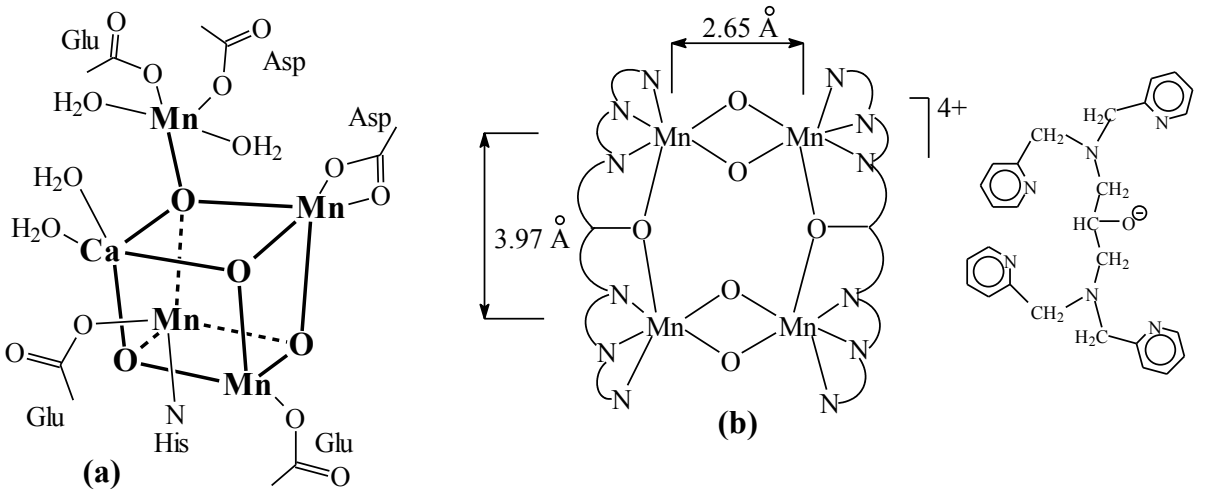


Abbildung 2. Aktives Zentrum der Wasseroxidase; *d*(Mn···Mn 2.7 und 3.3 Å, *d*(Mn···Ca) = 3.4 Å.

Im PSI erfolgt Photooxidation eines Chlorophyll-a (P_{700}). Das aus dem PSI stammende Elektron wird gemeinsam mit Protonen auf $NADP^+$ übertragen und in die Dunkelreaktion zur Fixierung von CO_2 weitergeleitet. Die Rückreduktion von $[(\text{Chl-}a)']^+$ erfolgt durch das im PSII freigesetzte Elektron über eine Elektronenübertragungskette:

Die Elektronenübertragungskette

Vergl. hierzu Abbildung 3. Die zu überwindende Potenzialdifferenz beträgt 0.6 V. Der Elektronentransport ist mit der Phosphorylierung von ADP (Adenosindiphosphat) zu ATP (Adenosintriphosphat) verknüpft.

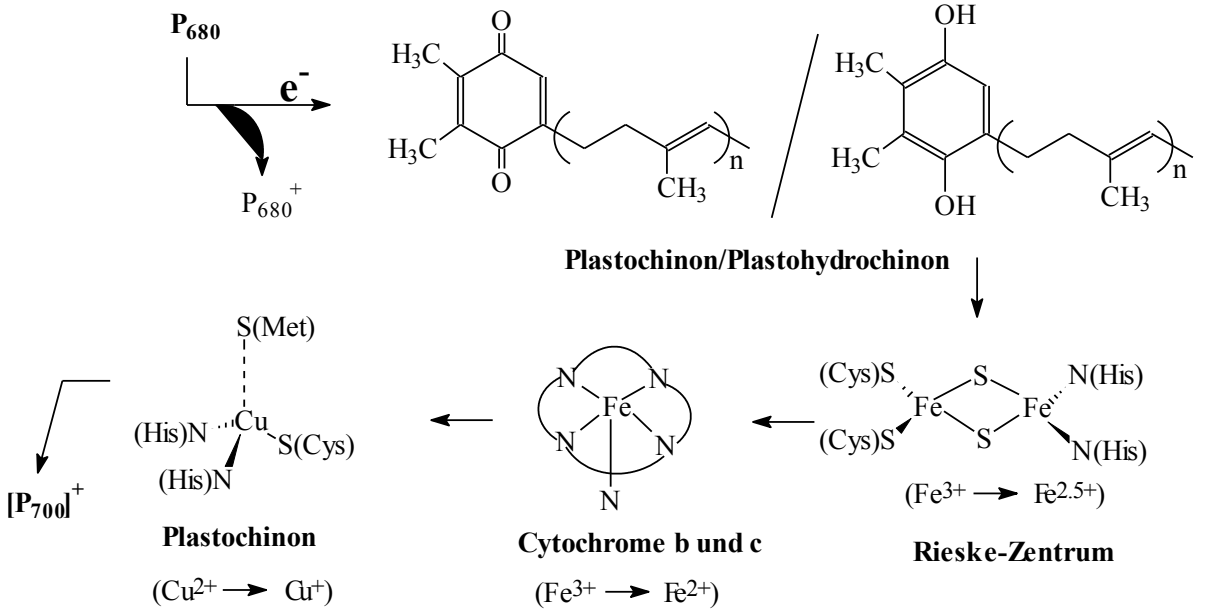


Abbildung 3. Elektronentransportkette (verkürzt) von PSII (P_{680}) nach PSI (P_{700})

Das im Photosystem II erzeugte reduzierte Phäophytin (Php^-) überträgt zunächst e^- (über Q_A und $\{Fe(His)_4(Glu)\}$; s. o.) auf den Zweielektronen-Akzeptor Plastochinon (PQ), das zum Hydrochinon (PQH_2) reduziert wird. Primärer Elektronenakzeptor für das PQH_2 ist

dann ein Rieske-Protein, ein zweikerniges, S^{2-}-verbrücktes Eisenzentrum mit zusätzlicher Cysteinat bzw. Histidin-Koordination am Fe, das ebenso wie die dann folgenden Cytochrome-*b* und -*c* (hämartige Eisenproteine) als Einelektronen-Überträger fungiert. Den Abschluss bildet ein Kupferprotein vom Typ I ("blaue Kupferproteine", s. u.), z.B. Plastocyanin, das schließlich das Chlorophyll-*a*-Radikalkation im PSI reduziert. Die Elektronenübertragungskette hat Ähnlichkeit mit der der mitochondriellen Atmungskette (BioAC I).

2. Kupferproteine

Kupfer ist essentiell; der Organismus eines Erwachsenen enthält ca. 150 mg an Proteine gebundenes Cu. Kupfermangel, genetisch bedingt durch eine Resorptionsstörung, führt zum Erscheinungsbild der Menkes'schen Krankheit (Kraushaar-Syndrom). Bei der Wilsonschen Krankheit, ebenfalls eine genetisch bedingte Resorptionsstörung, kommt es zur Kupfer-Überladung von Leber und Gehirn. Neuerdings wird dem Kupfer auch eine Rolle bei der Alzheimer-Krankheit zugeschrieben.

Funktionsübersicht (Beispiele):
- Elektronentransport, z.B. in der Atmungskette (Cytochrom-*c*-Oxidase) und in der Elektronenübertragungskette von PSII nach PSI (Plastocyanin, Azurin)
- Sauerstofftransport (Hämocyanine)
- Einelektronen-Redoxprozesse (Nitritreduktase: $NO_2^- \rightarrow NO$; Regulation der Eisen- und Kupferresorption (Ceruloplasmin))
- Zweielektronen-Redoxprozesse (Galaktoseoxidase: $RCH_2OH \rightarrow RCHO$); Catecholoxidase: Catechol $\rightarrow$ *o*-Chinon)
- Disproportionierung (Detoxifikation von Hyperoxid durch CuZn-Superoxiddismutase: $2O_2^- + 2\,H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$)
- Oxygenierung organischer Substrate (Tyrosinase: Tyrosin $\rightarrow$ Dopa)
- als Biomineral: Atacamit = $Cu(OH)_2 \cdot Cu(OH)Cl$ in den Zähnen des marinen Blutwurmes *Glycera dibranchiata*.

Bezüglich der Struktur der Kupferzentren (Geometrie, Liganden) und der damit verknüpften spektroskopischen Charakteristika werden Cu-Proteine klassisch in drei Klassen eingeteilt:

Typ I (Blaue Cu-Proteine): trigonale Koordinationsgeometrie; Cys, His und Met als Liganden; LMCT-Bande ($Cys^- \rightarrow Cu^{2+}$) bei 600 nm (ε ca. 3000 $M^{-1}cm^{-1}$). EPR: $A_{parallel}$ = 5 mT [4 Hyperfeinlinien durch Kopplung mit den Kernen ^{63}Cu (Kernspin I = 3/2, natürl. Häufigkeit N = 70%] und ^{65}Cu (I = 3/2, N = 30%). Funktion: meist e^--Transport. Beispiele: Plastocyanin, Azurin.

Typ II: tetragonale Koordinationsgeometrie; drei His sowie weitere *O* und *N*-funktionelle Liganden; "normales" optisches Verhalten des Cu^{2+}; normale Hyperfeinkopplungskonstante im EPR (A = 18 mT). Funktion: Oxidasen und Oxigenasen. Beispiel: Galaktoseoxidase und CuZn-Superoxiddismutase.

Typ III: Zwei Kupferzentren in trigonaler Koordination durch drei His oder zwei His + H_2O; Cu^{2+} blau durch $O_2^{2-} \rightarrow Cu^{2+}$ CT bei 600 nm (ε ca. 1000), sowie weitere CT-Bande bei 350 nm (ε ca. 20 000 $M^{-1}cm^{-1}$). Funktion: Sauerstofftransport (3 His; Beispiel: Hämocyanine), Sauerstoffaktivierung (2 His + H_2O; Beispiele Tyrosinase, Catecholoxidase).

Nicht in dieses Schema passen die folgenden drei Typen:

Typ A: Zweikernige, Cystein-verbrückte Kupferzentren (Cu^A in der Cytochrom-c Oxidase; Funktion: Elektronenübertragung)

Typ K: Vierkernige Zentren, bestehend aus 1 Typ-I und einem dreikernigen Kupferzentrum (Ascorbatoxidase).

Typ IV: Mischungen aus Typ I, Typ II und Typ III (Ceruloplasmin; Funktion: u.a. Fe und Cu Resorption; s.u.)

Plastocyanin und Azurin

Die Strukturen von Plastocyanin (M = 10 500 Da; aus der Schwarzpappel) und Azurin (M = 14 000; aus dem Bakterium *Alcaligenes denitrificans*) sind in Abbildung 4 gezeigt. Cu ist trigonal von zwei His und einem Cys koordiniert. In der Achse befinden sich mit sehr langen Bindungen Met und, im Falle des Azurins, ein Carbonylsauerstoff einer Peptidbindung. Die Koordinationssphären sind, wie am Beispiel des Plastocyanins gezeigt, pH-flexibel.

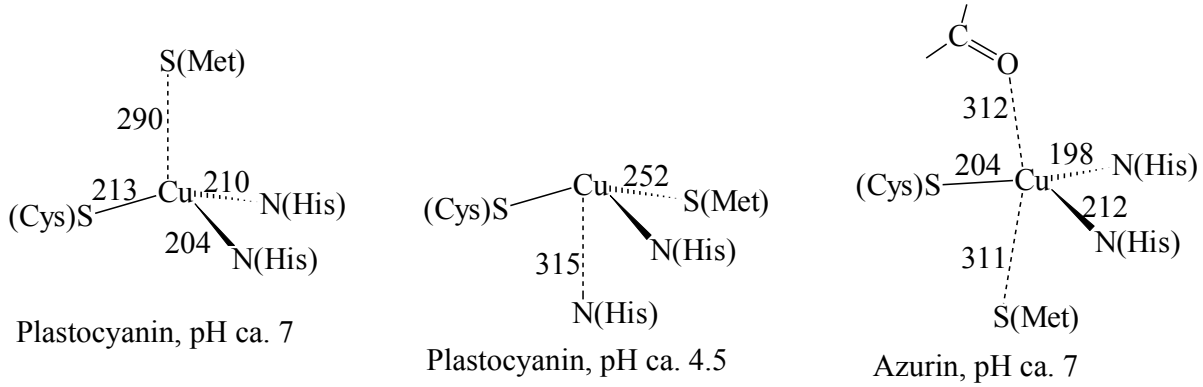
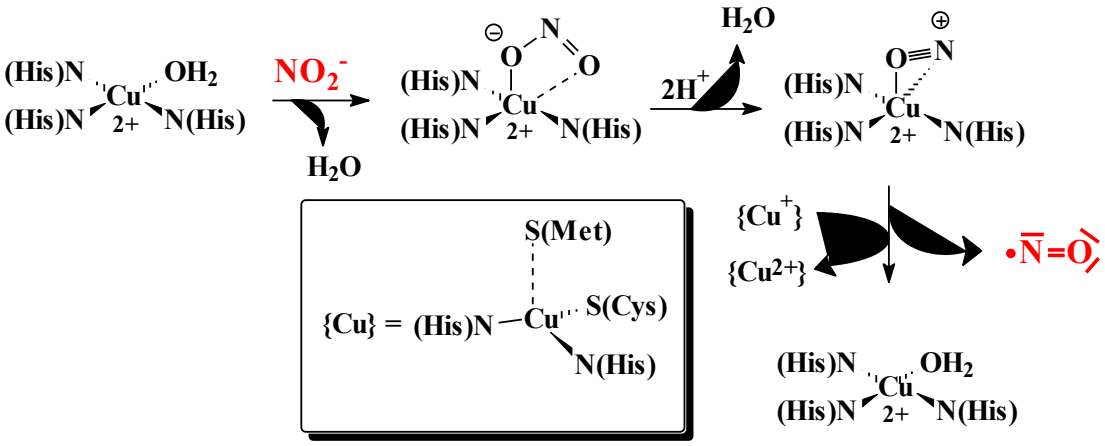


Abbildung 4. Die Kupferzentren in Plastocyanin und Azurin. Die Zahlen sind Abstände in pm.

Nitritreduktase

Sie katalysiert die Einelektronen-Reduktion von Nitrit zu Stickstoffmonoxid und damit einen der Schritte in der Denitrifizierung. Das Enzym besteht aus drei Untereinheiten, deren jede ein katalytisches Typ-II Kupferzentrum (Aktivierung des Nitrits) und ein elektronenübertragendes Typ-I Kupferzentrum (Reduktion des Nitrits) enthält:

(1) Austausch von Wasser gegen Nitrit am {Cu-II}
(2) $NO_2^- + 2H^+ \rightarrow NO^+ + H_2O$
(3) $NO^+ + e^- \rightarrow NO$, vermittelt durch {Cu-I}
(4) Wiederherstellung der Ausgangssituation durch Austausch von NO gegen H_2O



Galaktoseoxidase

Dieses zum Typ II gehörende Enzym (M = 68 000 D) katalysiert die Zweielektronenoxidation von Alkoholen zu Aldehyden:

$$RCH_2OH \rightarrow RCHO + 2H^+ + 2e^-$$

Die Reduktionsäquivalente werden zur Reduktion von Sauerstoff verwendet:

$$O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O_2 \rightarrow H_2O + ½O_2$$

Die Oxidationsstufe des Kupferzentrums der Galaktoseoxidase (Abb. 5) wechselt zwischen +I und +II. Das zweite Reduktionsäquivalent wird von demjenigen Tyrosinat geliefert, das einen Thioetherschwefel (Cys) in *o*-Position zum koordinierten Tyrosinat-Sauerstoff enthält. Das bei der Oxidation enstehende Radikalkation ist resonanzstabilisiert; wobei auch der Thioether-Schwefel beteiligt ist. Zum Ablauf s. Abb. 5:

1) Austausch H_2O/RCH_2OH und Deprotonierung des Alkohols; gekoppelt mit der Protonierung des axialen Tyr^-, und der Abgabe eines e^- durch das äquatoriale Tyr^-.
2) Übertragung eines $H^\bullet$ vom Alkoholat auf das äquatoriale $Tyr^\bullet$.
3) Reduktion von Cu^{II} zu Cu^{I} durch $RCHO^\bullet$ und Freisetzung des Aldehyds.
4) Wiederherstellung der Ausgangssituation durch Oxidation des Cu^{I} zu Cu^{II}, Koordination von Wasser, und Abgabe von 2 Protonen.
5) $O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O_2 \rightarrow H_2O + ½O_2$

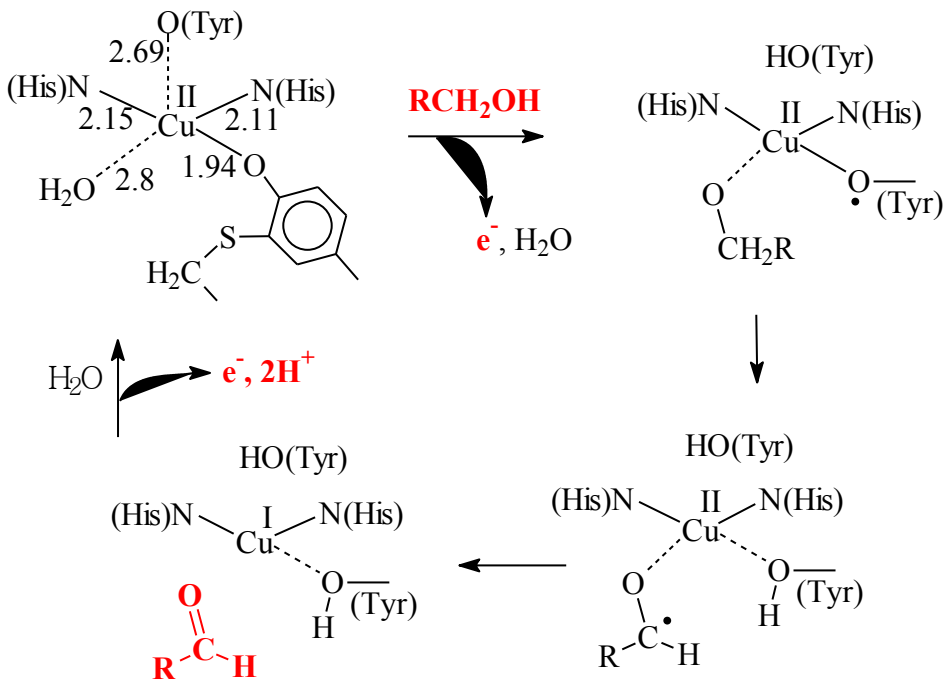


Abbildung 5. Aktives Zentrum der Galaktoseoxidase und die Oxidation primärer Alkohole. Gestrichelte Bindungen repräsentieren lange Bindungsabstände.

CuZn-Superoxiddismutase

Dieses gleichfalls zu den Cu-Proteinen vom Typ II gehörende Enzym katalysiert die physiologisch wichtige Entgiftung von Hyperoxid (engl. superoxide) durch Disproportionierung (engl. dismutation) zu Sauerstoff und Peroxid (dessen weitere Disproportionierung zu Sauerstoff und Wasser dann eine Katalase übernimmt):

$$2O_2^- + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$$

Das aktive Zentrum und der Mechanismus sind in Abb. 6 dargestellt. Katalytisches Zentrum ist das Kupferion; Zn^{2+} hat eine Struktur-stabilisierende Aufgabe. Zum Ablauf: (1) Austausch des Aqua- gegen den Hyperoxoliganden an Cu^{2+}. Die Koordination des O_2^- wird zusätzlich durch eine Wasserstoffbrückenbindung zu einem Arginin im aktiven Zentrum unterstützt. (2) Reduktion von Cu^{2+} zu Cu^+ durch ein zweites Hyperoxid ($\rightarrow O_2$). Zugleich wird das verbrückende His protoniert und die Bindung zum Kupfer gelöst. (3) Intramolekulare Reduktion des koordinierten O_2^- durch Cu^+ und Bildung eines Hydroperoxokomplexes mit Cu^{2+}; (4) Protolyse des Hydroperoxids ($\rightarrow H_2O_2$), Rekoordination des Brücken-His an Cu und Rückbildung des Cu^{2+}-Aquakomplexes.

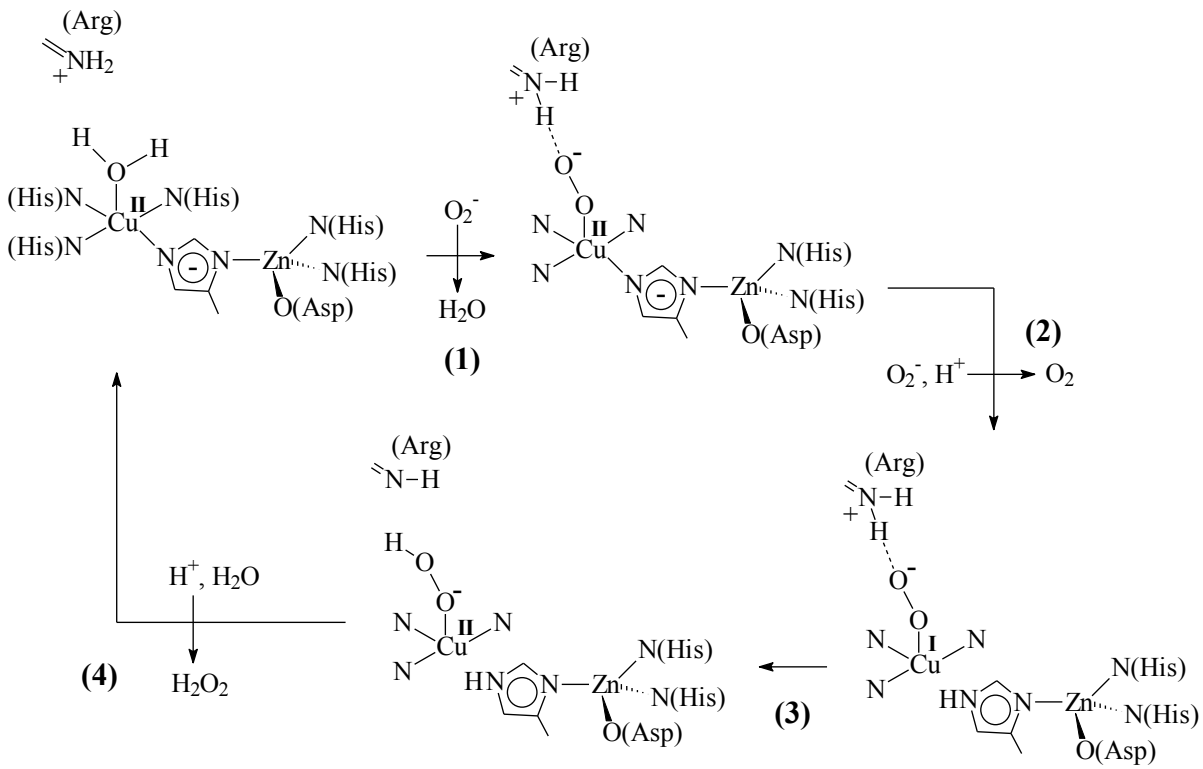


Abbildung 6. Metallzentrum der CuZn-Superoxiddismutase und Reaktionsablauf.

Ceruloplasmin

Menschliches Ceruloplasmin hat eine Molmasse von 132 kD (entspricht 1046 Aminosäuren) und zusätzlich einen Kohlenhydratanteil von 7-8%. Es regelt einerseits die Oxidation von Fe^{2+} (der resorbierten Form von Eisen) zu Fe^{3+} (der Transportform von Eisen) in der Darmmucosa, andererseits den Transport von Kupfer aus den intra- in den extrazellulären Raum. Defekte im Enzym führen zu Hämosiderose (durch Störung des Eisenmetabolismus), Wilsonscher Krankheit (Störung der Kupferspeicherung) und Menkescher Krankheit (Störung der Kupferresorption). Ceruloplasmin enthält sechs Cu-Zentren, die wie in Abb. 7 gezeigt organisiert sind. 3 mononucleare Cu-Zentren sind Typ I Kupferproteine; die drei anderen (Typ II und Typ III) bilden ein trianguläres Zentrum.

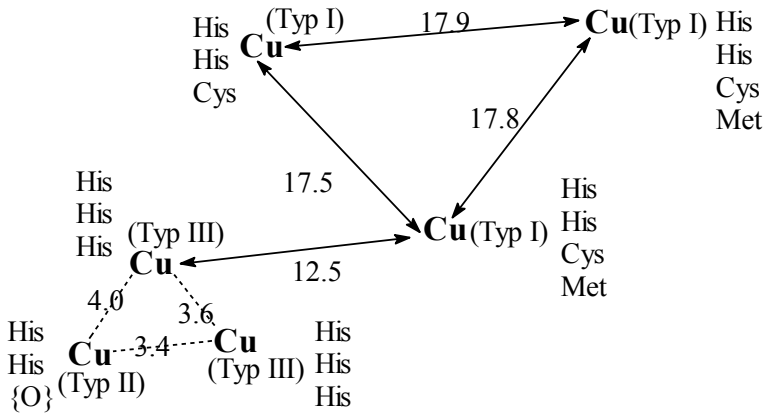


Abbildung 7. Organisation der Kupferzentren im Ceruloplasmin. Abstände in Å.

Hämocyanine

Hämocyanine sind kupferhaltige Proteine mit Sauerstofftransportfunktion in einigen Arthropoden (Spinnen, Krebstiere) und Mollusken (Schnecken und Tintenfische). Die Molmassen liegen zwischen 450 kD (Arthropoden, Untereinheiten zu 75 kD) und bis zu 9 MD, (Mollusken, Untereinheiten 50-55 kD). Jede Untereinheit enthält zwei kooperierende Kupferzentren, die Sauerstoff im Sinne einer oxidativen Addition ($O_2 \rightarrow O_2^{2-}$, $2Cu^{+} \rightarrow 2Cu^{2+}$) reversibel zu binden vermögen. Anders als in den meisten Modellverbindungen koordiniert das Peroxid nicht end-on verbrückend sondern *side-on* verbrückend; Abbildung 8. Zwischen den beiden Typen von Hämocyaninen besteht nur im Bereich der Cu-Bindungszentren weitgehende Sequenzhomologie.

Die Kupferionen in diesem Typ III Protein sind trigonal von drei Histidinresten koordiniert, davon zwei fest in Abständen von 1.9 und 2.2 Å, und eines locker im Abstand von 2.7 Å. Der Cu-Cu Abstand beträgt in der Desoxy-Form 4.6, in der Oxy-Form 3.56 Å. In der oxidierten Form sind durch Superaustausch (super exchange) die beiden Cu^{2+} antiferromagnetisch gekoppelt und damit EPR-silent.

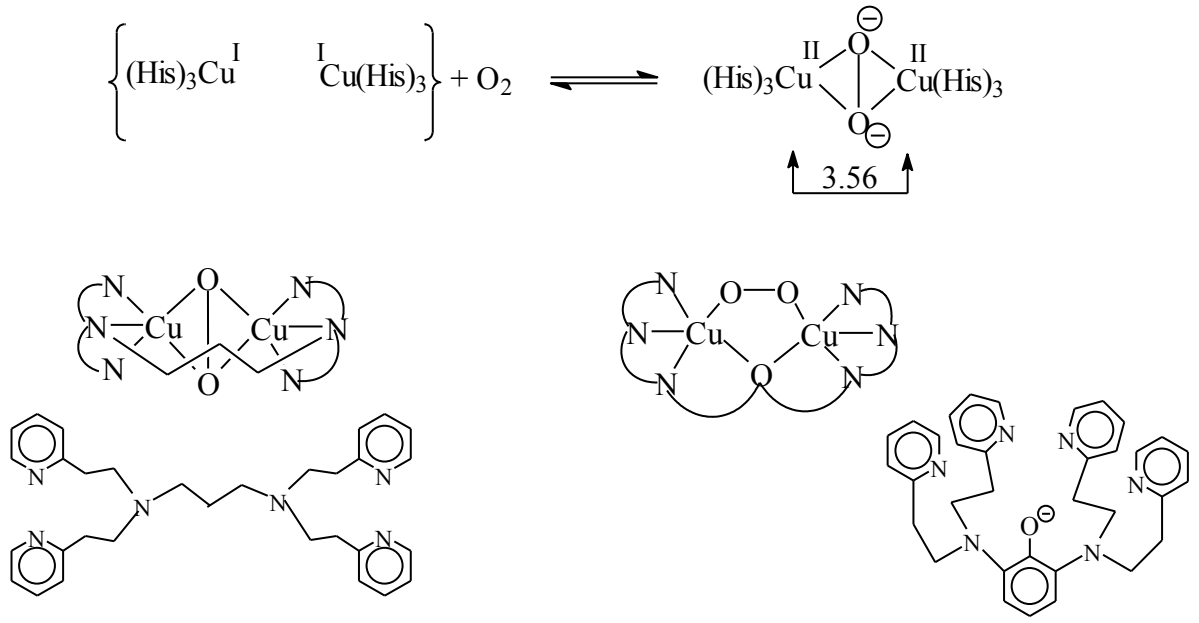


Abbildung 8. Reversible Sauerstoffaufnahme durch Hämocyanin (oben); Modelle für Oxyhämocyanin (unten).

Tyrosinasen und Catecholasen

Diese ebenfalls Typ III Kupfer enthaltenden Proteine sind Monooxigenasen (Tyrosinase) bzw. Oxidasen (Catecholoxidase), die in allen Organismenformen vorkommen. Jedes der Cu-Zentren ist mit normaler Bindungslänge von 2.1 Å an zwei His koordiniert; die dritte Koordinationsstelle nimmt ein weiteres His im Abstand von 2.4 Å ein. Tyrosinase katalysiert z.B. die Hydroxylierung von Tyrosin zu Dopa [Abb. 9a, (1)] und dessen weitere Oxidation zum Chinon. Zum Mechanismus s. Abb. 9b. Für den zweiten Schritt, die Oxidation von Dopa zum *o*-Chinon, steht alternativ eine Catecholase zur Verfügung [Abb. 9a, (2)]. Die Bildung des braunen Hautpigmentes Melanin aus dem daraus gebildeten Indolchinon [Abb. 9a, (3)] ist

eine Folgereaktion solcher Aktivität. Interessanterweise zeigen auch die Mollusken-Hämocyanine (nicht aber die der Arthropoden, bei denen eine Proteindomäne den Zugang zum Kupferzentrum abschirmt) Tyrosinaseaktivität.

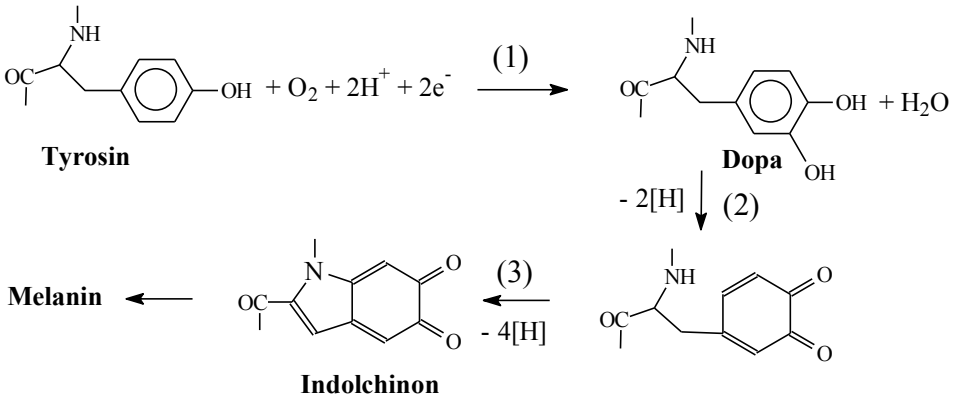


Abbildung 9a. Von Tyrosinase und Catecholoxidase katalysierte Reaktionen, sowie Folge-Reaktionen.

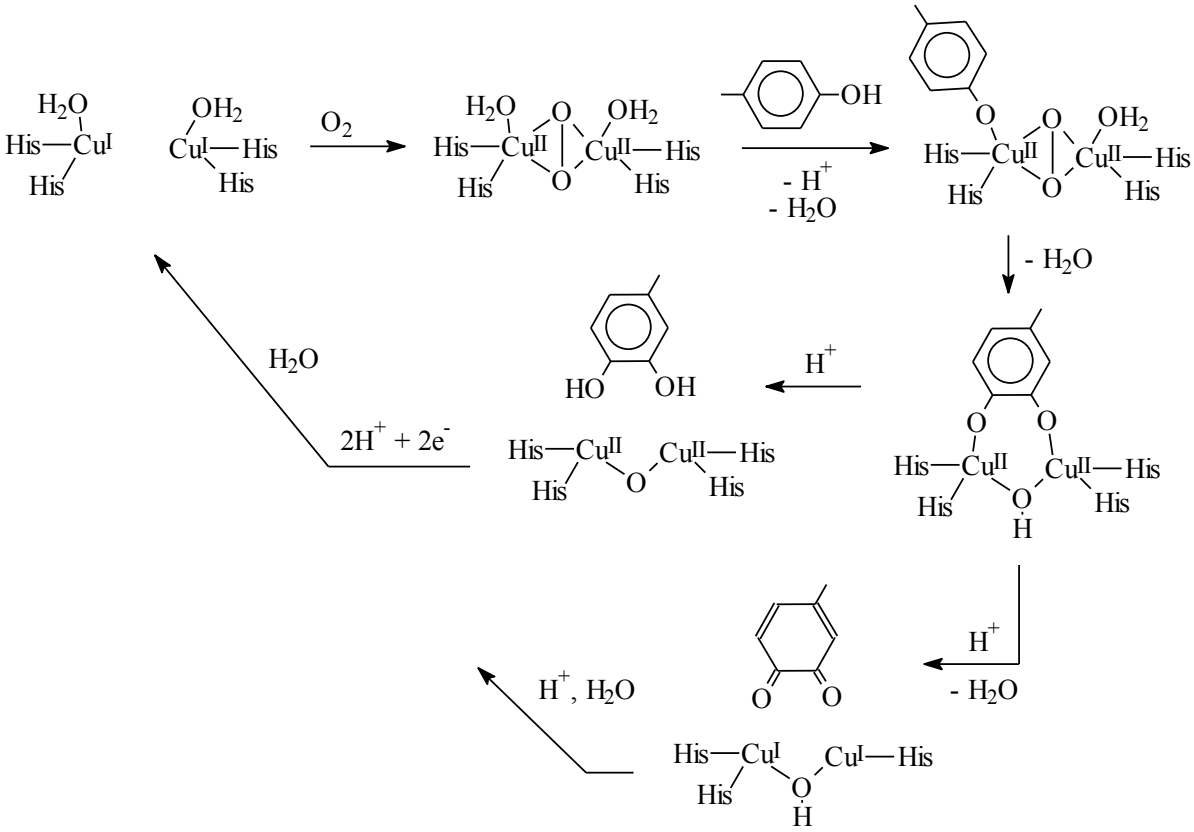
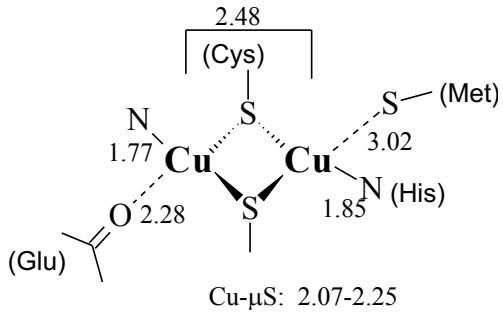


Abbildung 9b. Vorgeschlagener Mechanismus der von Tyrosinase katalysierten Reaktion.

Cu^A-Zentren

Hierbei handelt es sich um zweikernige Kupferzentren, die keinem der Typ I-III Proteine zugeordnet werden können. Cu^A findet sich in der Cytochrom-*c*-Oxidase, also der Endstufe der Atmungskette, und in N_2O-Reduktase. In der Cytochrom-*c*-Oxidase übernimmt das Cu^A ein Elektron vom Cytochrom-*c* und leitet es weiter zum Cytochrom-*a* (einem Häm-Eisen) und Cytochrom-a_3 (Hämeisen + Cu^B; Cu^B ist ein einkerniges Cu-Zentrum, das an drei His koordiniert ist). Cyt-*a* und Cyt-a_3 sind wie Cu^A integrale Bestandteile der Cytochrom-*c*-Oxidase, die außerdem noch Mg^{2+} und Zn^{2+} enthält (Abb. 10, rechts).



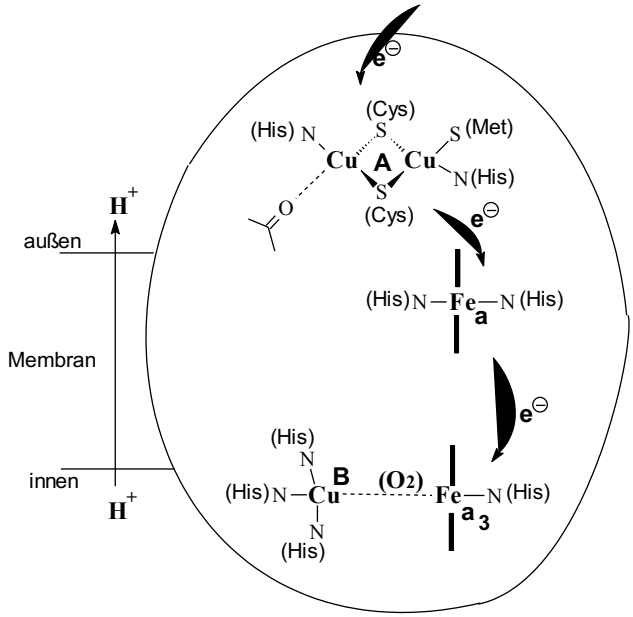


Abbildung 10. Organisation der Metallzentren in Cytochrom-c-Oxidase aus dem Rinderherz, sowie Details zum (rosafarbenen) Cu^A-Zentrum in der reduzierten Form. Abstandsangaben in Å.

In der reduzierten Form liegen beide Kupferionen des Cu^A in der Oxidationsstufe +1 vor, in der oxidierten Form in der Oxidationsstufe +1.5 (formal Cu^+/Cu^{2+}). Abb. 10, links, zeigt Details des dinuklearen Cu^A-Zentrums. Die Kupferionen liegen mit den Schwefelfunktionen der verbrückenden Cysteinatreste in einer Ebene.

3. Zink

Mit 2-2.5 g Zn pro 70 kg Körpergewicht ist Zink das nächst dem Eisen zweithäufigste Übergangsmetall im Organismus. 75% des Zn^{2+} sind an Serumalbumin (M = 65 kD) gebunden, was einer mittleren Serum-Konzentration von 0.6 mM entspricht. Man kann zwei Bindungsstellen für Zn^{2+} unterscheiden: In der einen Position ist Zn^{2+} an insgesamt fünf Funktionen koordiniert, darunter zwei His, ein Asn und zwei {O}, in der anderen hat Zn^{2+} die Koordinationszahl 4 und ist an ein His und drei {O} koordiniert. Der tägliche Bedarf liegt bei 3-25 mg; über die Nahrung werden täglich zwischen 10 und 15 mg Zn zugeführt, so dass Zinkmangelerkrankungen eher die Ausnahme sind. Resorbiertes Zink wird durch Serumalbumin und Transferrin transportiert. Die Speicherung erfolgt durch Thioneine.

Heute sind mehrere hundert Zinkproteine bekannt. Obwohl die biologische Funktion des Zinks schon früh erkannt wurde (1869 entdeckte Raulin, dass das Wachstum von Brotschimmel bei Zn-Mangel gehemmt ist), sind zinkhaltige Proteine erst recht spät entdeckt worden (Carboanhydrase 1940 durch Mann und Keilin, Carboxypeptidase 1954, Zinkfinger 1985, DNA-Reparaturprotein 1992). Der Grund hierfür ist die abgeschlossene d^{10}-Schale des redox-

inaktiven Zn^{2+}-Ions, die eine Detektion über UV-VIS und EPR ausschließt. Auch die magnetischen Eigenschaften des ^{67}Zn sind ungünstig (natürl. Häufigkeit 4.1%, Kernspin 5/2), sodass dieser Kern NMR-spektroskopisch nicht gut zugänglich ist. Zur Charakterisierung von Zink-Proteinen wird heute das Zn^{2+} durch Cd^{2+} (^{111}Cd und ^{113}Cd sind gute NMR-Sonden) oder Co^{2+} (EPR-aktiv, farbig) ausgetauscht. An Co^{2+}-rekonstituierten Zn-Proteinen sind Strukturinformation auch durch paramagnetische ^{1}H-NMR-Spektroskopie in der Peripherie der Metallzentren zugänglich.

Zinkproteine können hinsichtlich ihrer Funktion in folgenden Gruppen zusammengefasst werden:

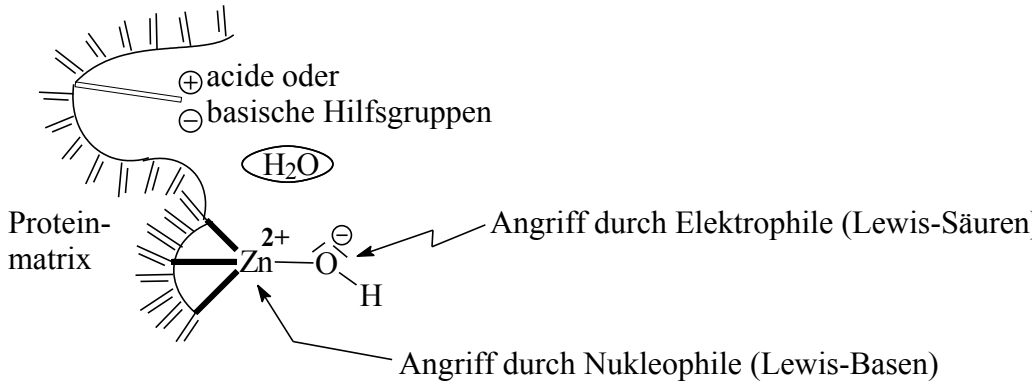
(1) Katalytische Funktion, insbesondere in Hydrolasen (Peptidasen, Phosphatasen, Lipasen), Syntheasen, Isomerasen, Ligasen. Dort, wo Zinkenzyme Redoxfunktionen ausüben (z.B. in der Alkoholdehydrogenase), bedürfen sie eines redox-aktiven Cofaktors (NAD^+). Katalytische Zn-Zentren sind an drei Aminosäuren (Glu/Asp; His; Cys) sowie H_2O/OH koordiniert. Die enzymatische Funktion des Zinks beruht darauf, dass das in den aktiven Zentren der Enzyme vorliegende Zn-OH Fragment sowohl Nukleophile als auch Elektrophile zu aktivieren vermag (s. Abb. 11). Auch ein Enzym mit einem Eisen- und Zn-Zentrum ist bekannt (Violette Saure Phosphatasen aus Pflanzen; s.u.), in dem die Verbrückung der Metallzentren über Asp und OH erfolgt.

(2) Strukturfunktion: Hier hat das Zink die Aufgabe, die Tertiärstruktur eines Proteins zu stabilisieren. Diese Aufgabe können Zn^{2+} in Enzymen übernehmen (vergl. CuZn-Superoxiddismutase, Abb. 6, und Alkoholdehydrogenase, s.u.), oder in der genetischen Transskription (sogen. "Zinkfinger"). Zink ist hier bevorzugt an His und Cys koordiniert; ein Aqua/Hydroxoligand wie bei den katalytischen Zentren fehlt.

(3) Hormonale Regulation: Die hexamere Speicherform des Insulins wird durch drei an His koordinierte Zn^{2+} stabilisiert; drei Aqualiganden ergänzen die Koordinationszahl des Zinks auf 6. Auch die Dimerisierung des HGF (Human Growth Factor) erfolgt über ein Zn^{2+}.

(4) *Ada* DNA Repair-Protein: Ein an vier Cys koordiniertes Zn-Zentrum entmethyliert Methylphosphat; Abb. 12

(5) Zinkspeicherung durch Thioneine.



($Zn\text{-}OH_2 \rightleftharpoons Zn\text{-}OH^- + H^+$; pK_S ca. 7)

Abbildung 11. Schematische Darstellung der Substrataktivierung durch Zinkzentren.

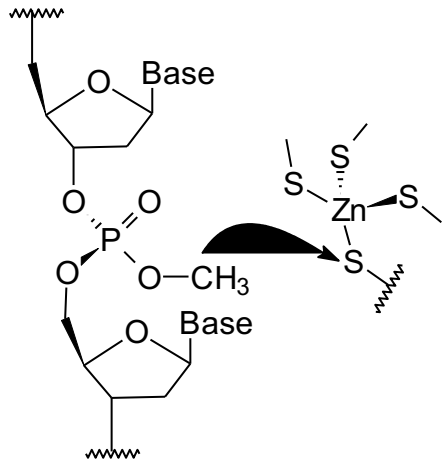


Abbildung 12. Methylübertragung auf das $[Zn(Cys)_4]^{2+}$-Zentrum im *Ada* DNA Repair-Protein.

Zink kann sowohl harte Liganden (*O*-funktionell: Wasser/Hydroxid, Carboxylat; *N*-funktionell: Aminstickstoff) als auch weiche Liganden koordinieren (*S*-funktionell: Thiolat); die Koordinationszahl ist üblicherweise 4, kann aber auch 5 oder 6 sein; die Koordinationsgeometrie variiert zwischen verzerrt tetraedrisch (Koord.-Zahl 4) und verzerrt tetragonal-pyramidal (Koord.-Zahl 5). Diese Flexibilität des Zinks in biogenen Systemen spiegelt sich auch in der anorganischen Koordinationschemie des Zn^{2+} wider; s. hierzu Abb. 13.

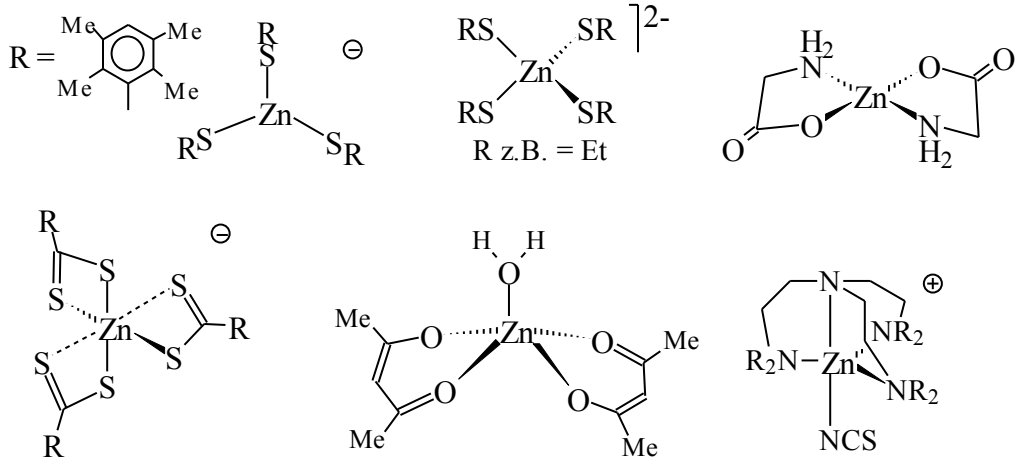


Abbildung 13. Beispiele für die Koordinationsflexibilität des Zn^{2+}.

Carboanhydrase

Dieses Enzym katalysiert die Reaktion

$$CO_2 + OH^- \underset{k_-}{\overset{k}{\rightleftharpoons}} HCO_3^-$$

Die Geschwindigkeitskonstanten ohne Katalysator sind $k = 8.5 \cdot 10^3\ M^{-1}s^{-1}$ und $k_- = 2 \cdot 10^{-4}\ s^{-1}$. Enzymatisch stellt sich dieses Gleichgewicht 10^7 mal schneller ein. Im menschlichen Organismus sind 1-2 g der Carboanhydrase (M = 29.3 kD) vorhanden. Sie hat die Aufgabe, CO_2 am Orte des Entstehens in Kohlensäure zu überführen bzw. in den Lungenalväolen wieder freizusetzen. Kohlensäure reagiert gemäß $H_2CO_3 + Hb \cdot O_2 \leftrightarrows HCO_3^- + Hb \cdot H^+ + O_2$ (Hb = Hämoglobin, $Hb \cdot O_2$ = Oxihämoglobin) unter Bildung von Hydrogencarbonat, das über das Blutplasma in die Lunge transportiert wird. Zur Wirkungsweise der Carboanhydrase s. Abb. 14. Im unteren Teil von Abb. 14 ist ein Komplex gezeigt, der die intermediäre Fixierung des Hydrogencarbonats an das Zn^{2+} modelliert. Der *NNN* Ligand – Tris(pyrazolyl)borat(1-) – imitiert die faciale Koordination dreier Histidylreste im aktiven Zentrum der Carboanhydrase.

Carboxypeptidase

Peptidasen katalysieren die hydrolytische Spaltung von Peptidbindungen vom *C*- oder *N*-terminalen Ende her (Exopeptidasen) oder mittig (Endopeptidasen), z.B.:

$$-NH-CH(R)-CO-NH-CH(R')-CO_2H + H_2O \rightarrow -NH-CH(R)-CO_2H + H_2N-CH(R')-CO_2H$$

Unter den vielen Zn-haltigen Peptidasen ist die Carboxypeptidase A (eine Exopeptidase, die Proteine vom *C*-terminalen Ende her abbaut) aus Rinderpankreas (*M* = 34.6 kD) besonders gut untersucht. Vom *N*-terminalen Ende her abbauende Enzyme heißen Aminopeptidasen.

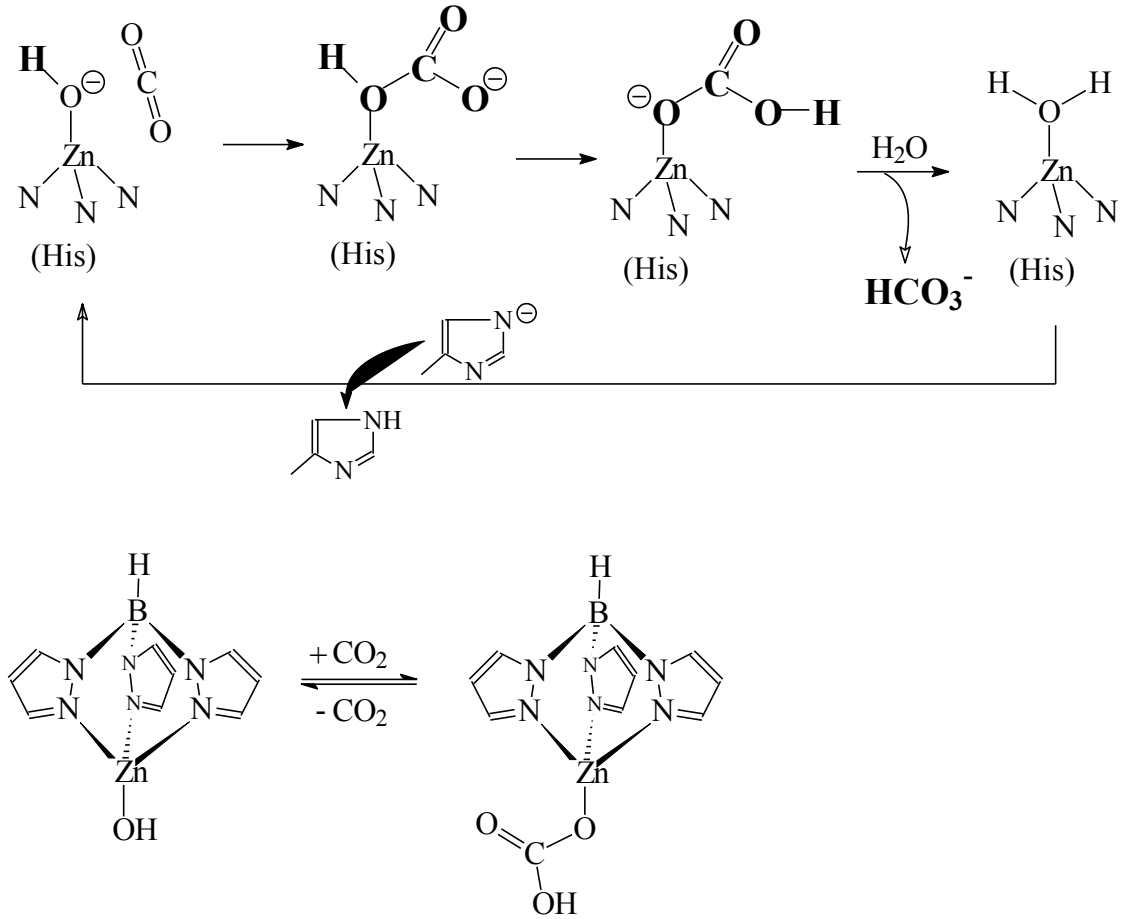


Abbildung 14. Mechanismus der Aktivierung und Protonierung von CO_2 im aktiven Zentrum der Carboanhydrase, sowie eine Modellreaktion. Die weitere Protonierung von Hydrogencarbonat zu Kohlensäure übernimmt im Enzym ein His in der Nähe des aktiven Zentrums.

In der Carboxipeptidase-A ist Zn^{2+} fünffach koordiniert; an der Koordination beteiligen sich zwei His, 1 Glu (zweizähnig) und ein Wasser. In der Nähe des Reaktionszentrums steht noch ein weiteres Glu, das im Verlaufe des Turn-over den Aqualiganden aufnimmt und eine OH^- Gruppe auf den Carbonylkohlenstoff des Substrates überträgt, sowie ein Tyrosin, das ein Proton auf den Peptidstickstoff transferiert. Der Aktivierungsschritt besteht in einer nukleophilen Ankopplung des Carbonylsauerstoffs des Substrates an Zink(2+). Hierdurch wird die Polarisierung der Carbonylgruppierung wesentlich erhöht, was die Übertragung des OH^- erleichtert. In Abb. 15 ist der Gesamtablauf zusammengestellt.

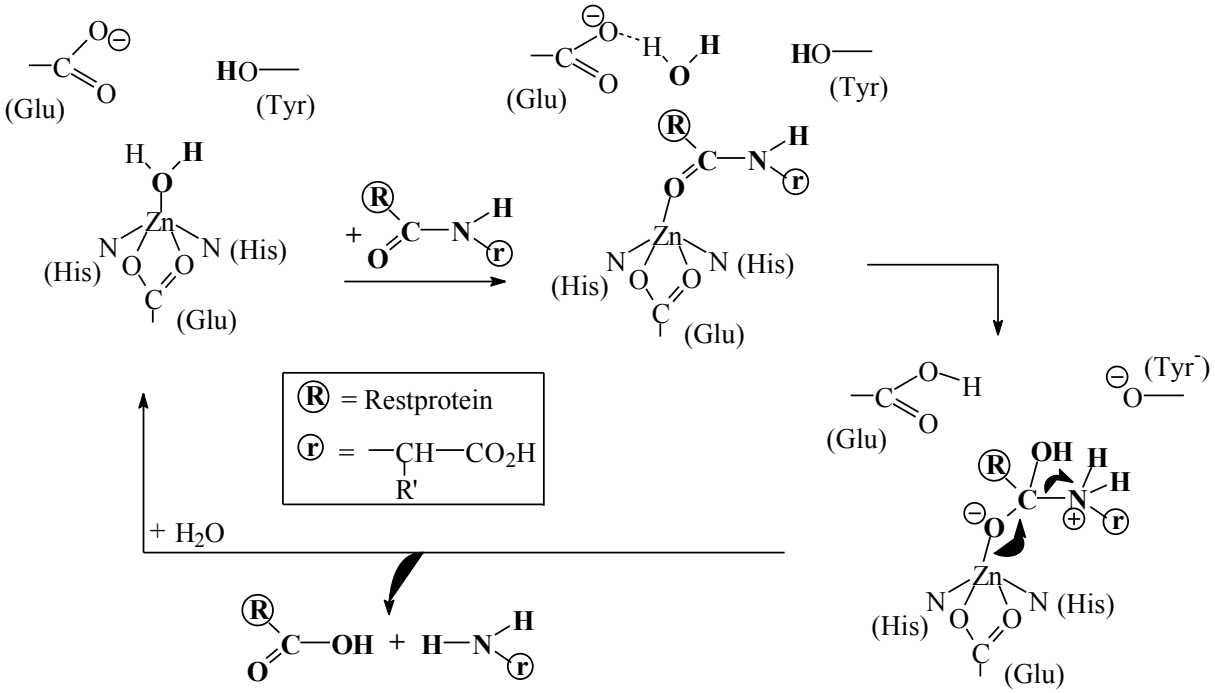
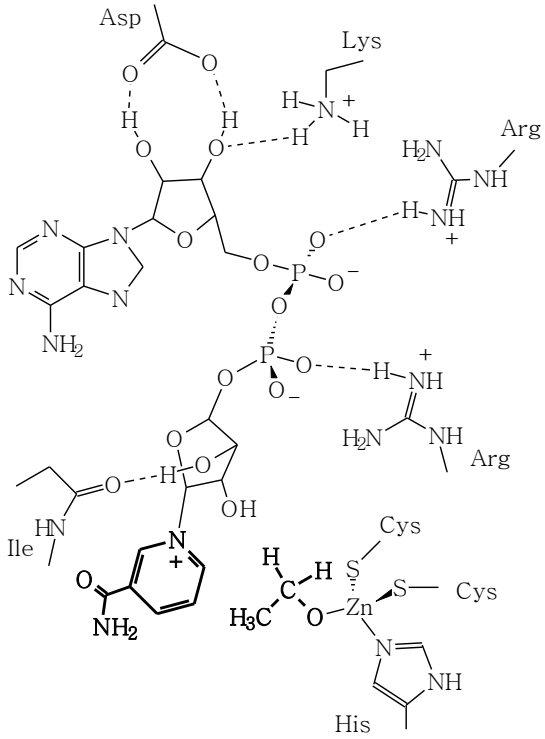


Abbildung 15. Mechanismus für die Wirkungsweise der Carboxipeptidase.

Alkoholdehydrogenase



Dieses Enzym der Molmasse 80 kD (2 Untereinheiten) katalysiert die Dehydrogenierung von Alkoholen zu Aldehyden:

$$RCH_2OH + NAD^+ \rightarrow RCHO + NADH_2$$

Der Cofaktor NAD^+ ist, wie in Abb. 16 gezeigt, in der Nähe des aktiven Zentrums in das Protein über H-Brücken eingebunden. Je Untereinheit gibt es ein katalytisches Zinkzentrum (zweimal His, Cys, H_2O) und ein strukturelles Zink-Zentrum (viermal Cys). Der Mechanismus der Alkoholdehydrogenierung ist in Abb. 17 skizziert: Der Alkohol wird an das Zinkzentrum gebunden und durch die benachbarte OH-Gruppe deprotoniert. Der Alkoxoligand überträgt sodann ein Hydridion auf den Cofaktor NAD^+, und das Carbokation stabilisiert sich durch Abspaltung als Aldehyd.

Abbildung 16. Zinkzentrum der Alkoholdehydrogenase mit Cofaktor NAD^+ und Substrat. Das Nicotinamid des Cofaktors und das Substrat (Ethanolat) sind fett gekennzeichnet.

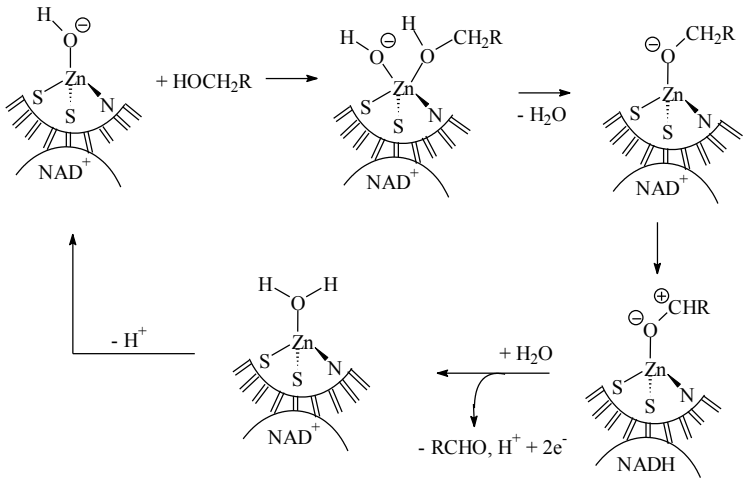


Abbildung 17. Wirkungsweise der Alkoholdehydrogenase

Violette Saure Phosphatasen

Man unterscheidet zwei Typen von Phosphatasen, die bei pH-Werten um 5 optimal Phosphatester hydrolisieren, nämlich (1) solche mit einem Fe^{II}-Fe^{III} Zentrum (in Säugetieren), und (2) solche mit einem Zn^{II}-Fe^{III} Zentrum (aus Pflanzen; Abb. 18a). Das aus Nierenbohnen (kidney beans) isolierte Enzym ist ein Homo-Dimeres der Molmasse 111 kD mit jeweils einem Zn^{2+}/Fe^{3+}-Zentrum. Beide Metallzentren fungieren als Lewis-Säuren. Das Fe^{3+} liegt im high-spin Zustand vor. Zum Mechanismus s. Abbildung 18b.

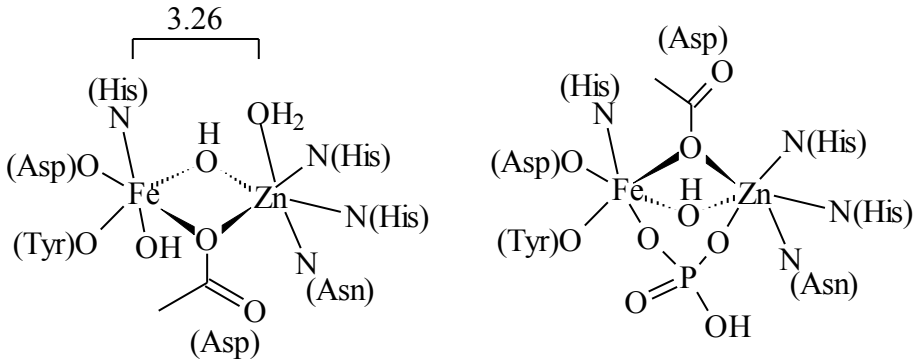


Abbildung 18a. Violette Saure Phosphatase und ihr Phosphatderivat

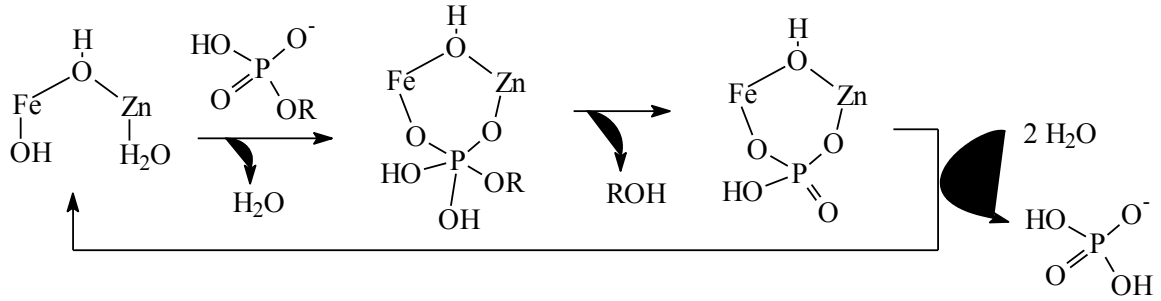


Abbildung 18b. Mechanismus der Hydrolyse einer Phosphoesterbindung durch die violette sauare Phosphatase.

Zinkfinger

Die Transskription (Übertragung) der in der DNA enthaltenen genetischen Informationen in eine Proteinstruktur erfolgt im Zellkern im ersten Schritt dadurch, dass an der DNA eine Messenger-RNA (*m*-RNA) synthetisiert wird, und zwar unter Mitwirkung einer RNA-Polymerase. Zur Erkennung des Bindungsortes für dieses Enzym bedarf es so gen. Transskriptionsfaktoren. Dies sind Proteine mit „Lotsenfunktion", die an spezifischen Basenkombinationen der DNA andocken und ihrerseits die Anbindung der RNA-Polymerase vermitteln. *Eine* Gruppe solcher Transskriptionsfaktoren sind die Zinkfinger, so genannt, weil durch Zn^{2+}-Ionen (typischerweise tetraedrisch an zwei Cys und zwei His koordiniert) fingerartige Proteinschlaufen mit bestimmten Aminosäureabfolgen stabilisiert werden, die über H-Brücken in die große Furche der DNA binden. Zink hat hier also eine *strukturelle* Funktion. In Abb. 19 ist ein solcher Faktor mit drei Zinkfingern schematisch dargestellt. Von der *m*-RNA wird die Information weiter auf eine Transfer-RNA (*t*-RNA) umgeschrieben; in den Ribosomen erfolgt sodann die Synthese des entsprechend codierten Proteins (Translatation).

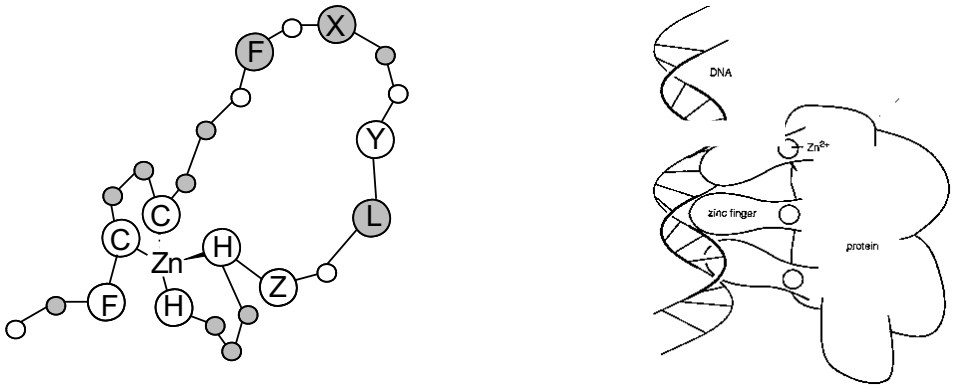
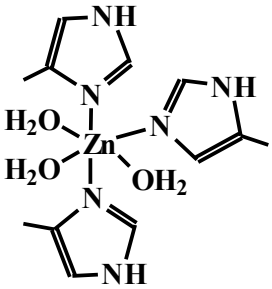


Abbildung 19. Links: Darstellung eines Zinkfingerns. C = Cys(1-), H = His, F = Phe, Y = Tyr(1-), L = Leu, Z = Glx (Glu, Glu(1-) oder Gln). Rechts: Schematische Darstellung der Wechselwirkung zwischen DNA und einem Transssskriptionsfaktor mit drei Zinkfingern.

Speicherform des Insulins



Insulin wird in den Langerhansschen Inseln der Bauchspeicheldrüse (Pankreas) gebildet und liegt zunächst als Speicherform in Gestalt von Hexameren vor. Die einzelnen Untereinheiten sind in der nebenstehenden Weise durch Zn^{2+} miteinander verknüpft. Bei Bedarf, z.B. nach Aufnahme von Zucker durch die Nahrung und damit Erhöhung des Glucosespiegels im Blut, werden die Hexameren zu den aktiven Monomeren abgebaut und in die Blutbahn ausgeschüttet. Insulin stimuliert u.a. die zelluläre Aufnahme und den Abbau von Glucose. Fehlende Insulinproduktion manifestiert sich in Diabetes Typ 1, Insulin-Toleranz (vor allem im Alter) in Diabetes Typ 2.

Thioneine

Thioneine sind kleine Proteine (ca. 6000 D; 61-68 Aminosäuren) mit einem hohen Anteil an Cystein (20 Cys) und Serin. Aromatische Aminosäuren fehlen ganz. Die Thioneine

können bis zu sieben Zn^{2+} oder andere Metallionen aufnehmen und haben möglicherweise die Funktion von Zink- und/oder Cystein-Speicherproteinen. Sie werden vom Organismus weiterhin zur Detoxifizierung und Zwischenlagerung (in der Niere) von Schwermetallionen (wie Cd^{2+} und Hg^{2+}) eingesetzt.

Für die Strukturaufklärung der mit Metallionen beladenen Thioneine sind u.a. ^{113}Cd-NMR-Spektren herangezogen worden: Die ^{113}Cd-NMR-Spektren der Cd_7-Thioneine zeigen im Bereich 670 bis 620 ppm (rel. $[Cd(H_2O)_6]^{2+}$), und somit in einem Bereich, der charakteristisch ist für Thiokoordination, sieben Signale mit Kopplungsmustern. ^{113}Cd-NMR-Parameter: Spin ½, natürl. Häufigkeit 12.7%, rel. Rezeptivität 10^{-2} (^{1}H = 1) bzw. 7 (^{13}C = 1). Die Korrelationsanalyse mittels der Cross-Peaks im 2D-COSY-Spektrum (Abb. 20) zeigt, dass die sieben Cd-Zentrum auf zwei Domänen entfallen: die eine Domäne enthält einen Cysteinat-verbrückten Cluster aus drei Cadmiumionen in der Anordnung eines sesselförmigen Sechsringes; die andere Domäne einen adamantanoiden Cluster aus vier wiederum Cysteinat-verbrückten Cadmiumionen. Diese Organisation wurde durch eine Röntgenstrukturanalyse eines Zn_2Cd_5-Thioneins bestätigt; vergl. hierzu Abb. 21.

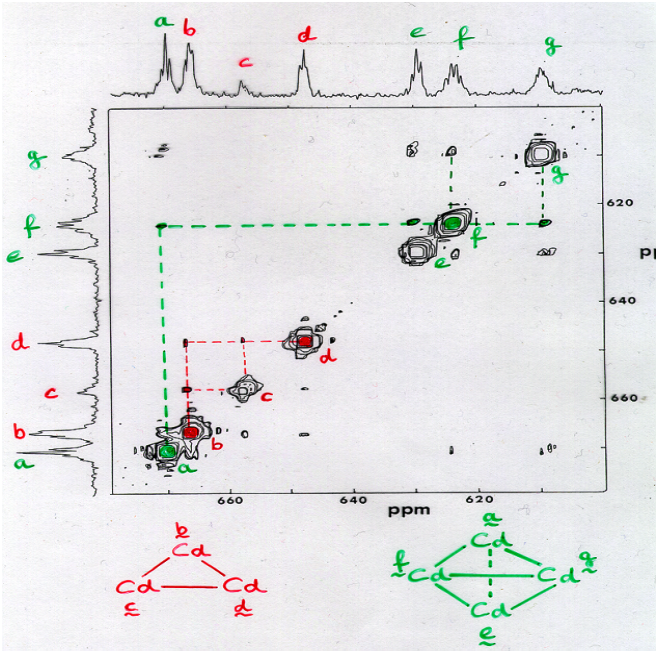


Abbildung 20. ^{113}Cd NMR-Spektrum eines Cd_7-Thioneins. Oben und links: eindimensionale Spektren. Das Feld zeigt das 2D COSY-Spektrum mit den Hauptpeaks in der Diagonalen und Korrelationspeaks jenseits der Diagonalen. Einige Korrelationen sind rot bzw. grün gekennzeichnet; das dazugehörige Kopplungsmuster ist am unteren Rand gezeigt.

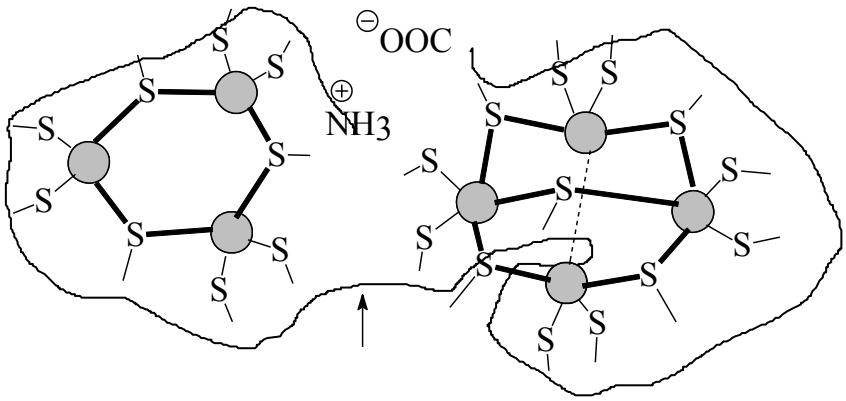


Abbildung 21. Struktur eines $(M^{2+})_7$-Thioneins. Die Metallzentren sind durch schraffierte Kreise, die Konnektivitäten durch fette Linien dargestellt. Die gestrichelte Linie symbolisiert eine through-space-Kopplung (vergl. den Korrelationspeak **a**/**e** in Abb. 20), die ausgezoge geschlängelte Linie das „Rückrat“ des Proteins. Der Pfeil markiert die Position, an der die beiden Domänen enzymatisch voneinander getrennt werden können.

5. Cadmium und Quecksilber

Cadmium

Cadmium und seine Verbindungen sind toxisch und kanzerogen (Klassifizierung A2). Weiterhin gibt es Anhaltspunkte für eine mutagene und teratogene Wirkung. Cd spielt im biologischen Geschehen überall dort eine Rolle, wo Cadmiumbelastungen vorliegen. Die Toxizität beruht einerseits auf der Verwandtschaft zu Zink (Desaktivierung oder Umpolung von Zinkenzymen durch Verdrängen des Zn^{2+} aus dem aktiven Zentrum) und der Verwandtschaft zu Calcium (annähernd gleicher Ionenradius; Eingriff in die Ca^{2+}-Bilanz: z.B. Störung der Ca^{2+}-ATPase und des Knochenaufbaus), andererseits auf seiner bereitwilligen Koordination an Phospholipide (Beeinträchtigung der Funktion der Zellmembran).

Laut WHO ist eine tägliche Aufnahme von 70 µg Cd tolerierbar. Nicht-belastete Nahrung führt zu einer mittleren täglichen Aufnahme von 25 µg. Befunde durch akute Cadmiumvergiftungen treten ab mehreren mg pro einmaliger Cd-Aufnahme auf; die akute tödliche Dosis wird mit 350-900 mg angegeben. 5 mg CdO/M3 Luft über 8 Std. eingeatmet können zu einem tödlichen Lungenödem führen. Cd-Lasten in der Nahrung finden sich dort, wo Cd akkumuliert wird. Pilze (5 ppm), Muscheln (0.3 bis 174 ppm), Tintenfische (23 bis 1106 ppm) und Braunalgen (0.2 bis 27 ppm) reichern Cd an. Pflanzen, die auf unbelasteten Böden Cd nicht anreichern und damit normale Cd-Gehalte (zwischen 0.03 und 1 ppm) aufweisen, können dieses Metall hingegen auf belasteten Böden akkumulieren. Beispiele sind Gras (bis 50 ppm), Kartoffeln (bis 17 ppm), Karotten (bis 8 ppm), Spinat (bis 161 ppm) und Weizen (bis 14 ppm). Besonders cadmiumreich sind Sedimentgesteine marinen Ursprungs (bis 15 ppm, gegenüber 0.2 ppm und weniger in nicht marinen Sedimenten und im Magmagestein). Über hohe Cd-Gehalte im Phosphorit (bis 90 ppm) gelangt Cd auch in die Phosphatdünger. Da Cd im Organismus eine hohe Verweilzeit hat (die biologische Halbwertszeit wird auf 10-30 Jahre geschätzt), sind chronische Vergiftungen zu beachten. Cd wird zunächst von Thioneinen (s. Kap. 4) aufgenommen und dann weitgehend in die Nieren transportiert und dort deponiert (→ Niereninsuffizienz). Akute Cd-Vergiftungen können mit Glutathion therapiert werden, das Cd^{2+} über seine *S*-, *N*- und *O*-funktionellen Gruppen komplexiert.

In industrialisierten Regionen ist der anthropogene Eintrag von Cd besonders hoch und übertrifft dort den natürlichen Eintrag (Vulkanismus, Verwitterung, biologische Aktivität) um eine Größenordnung (vergl. Abb. 22). Quellen anthropogenen Eintrags sind: Zinkverhüttung und -verarbeitung (Cd ist ständiger Begleiter des Zn), Müllverbrennung (aus Farbpigmenten, Cd-Seifen im PVC, Ni-Cd-Akkus u.a.), Phosphatdünger und Düngung mit Klärschlamm.

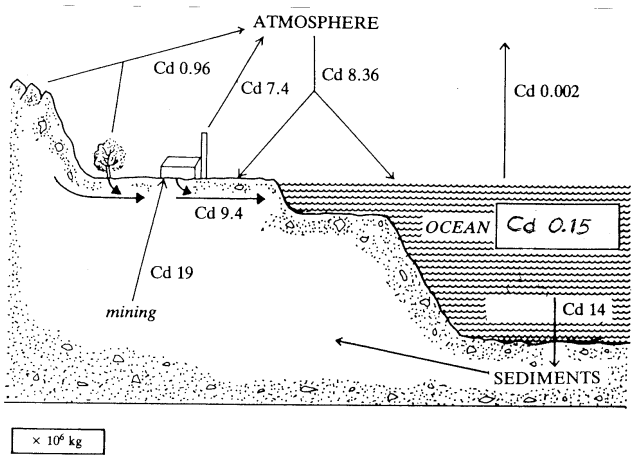


Abbildung 22: Geochemischer Cd-Kreislauf. Zahlenangaben in 10^6 kg (10^3 t). Die Symbole stehen für folgende Emittenden: Fabrik (industriell, anthropogen), Baum (biologische - insbeson-

dere mikrobielle - Aktivität), Berg (Verwitterung, Vulkanismus). Quelle: P. O'Neill. *Environmental Chemistry*, 2nd. Ed.,Chapman & Hall, London 1993.

Quecksilber

Anders als bei Cd halten sich bei Hg natürlicher und anthropogener Eintrag in etwa die Waage (Abb. 23). Der anthropogene Eintrag wird durch den natürlichen "maskiert", sodass es keine nennenswerte *globale* Kontamination durch Hg gibt. Quecksilber wird heute vor allem im Rahmen der Chloralkalielektrolyse nach dem Amalgamverfahren, von Müllverbrennungsanlagen (Hg-Batterien) und Krematorien (Amalgamplomben) emittiert. Diese Emissionen können zu erheblichen *lokalen* Belastungen führen. Die Emissionen sind aber wegen sich ständig verbessernder Rückhaltemethoden, der verstärkte Rezyklierung von Hg und nachlassenden Einsatzes von Hg rückläufig.

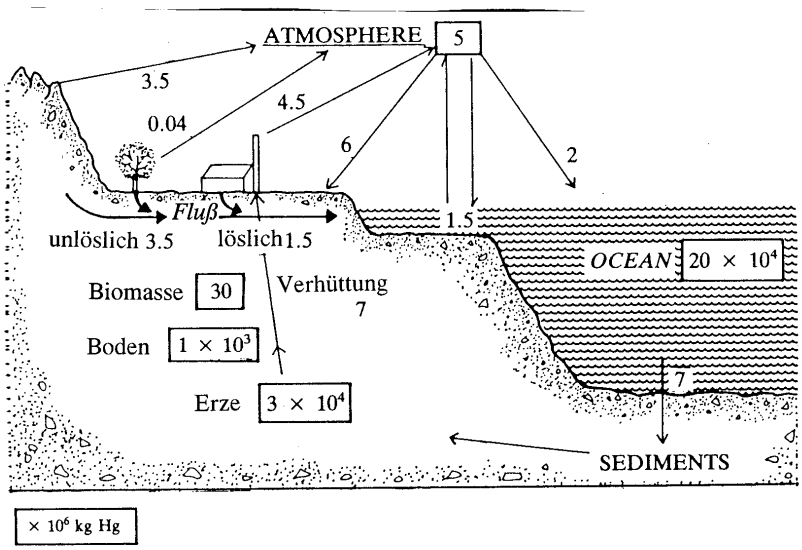


Abbildung 23. Geochemischer Hg-Kreislauf. Zahlen in 10^3 t. Vergl. auch die Legende zu Abb. 21. Die Atmosphäre enthält Quecksilber im wesentlichen in Form von Hg, MeHgX und Me_2Hg; im Wasser liegen $HgCl_2$ und MeHgCl vor, und im Sediment HgS.

Quecksilber und Quecksilberverbindungen sind sehr toxisch, organische Hg-Verbindungen auch teratogen. Erinnert sei an die Unglücksfälle an der Minamatabucht [Japan, 1953-56: Vergiftung durch Quecksilberverbindungen industriellen Ursprungs (papierverarbeitende Industrie), die sich über die Nahrungskette in Fischen angereichert hatten; "Minamatagift" MeHgSH] und im Irak (1971-72: Vergiftung mit Saatgut, das mit Ethylquecksilber-*p*-tolylsufanilid gebeizt worden war). Die MAK-Werte liegen bei 0.1 (Hg und $HgCl_2$) bzw. 0.01 (MeHgCl) mg/m^3, BAT-Werte bei 50 (Hg in Blut), 200 ($HgCl_2$ in Harn) und 100 ($MeHg^+$) µg/l. Besonders toxisch ist wegen seiner Lipo- *und* Hydrophilie das so gen. "Methylquecksilber $MeHg^+$" (eigentlich MeHgCl); der LD_{50}-Wert (Ratte, oral) beträgt 57 mg/kg. Wegen des hohen Dampfdruckes aller Hg-Verbindungen aber auch des Hg selbst (1 m^3 Luft vermag bei 20 °C 14 mg Hg-Dampf aufzunehmen) sind Hg und seine Verbindungen Atemgifte. Selbst Zinnober (HgS) steht noch mit 10 ng Hg pro m^3 Luft im Gleichgewicht.

Die WHO gibt als maximal tolerierbare Belastung durch die Nahrung 40 µg Hg pro Tag und Person an; die durchschnittliche Aufnahme bei nicht belasteter Nahrung beträgt etwa 10 µg. Fisch, normal mit etwa 0.15 ppm Hg belastet, kann bis zu 20 mg Hg (als $MeHg^+$) enthalten.

Quecksilber und seine Verbindungen unterliegen einer umfangreichen Speziation in der Atmo-, Aqua- und Siderosphäre, die teils abiotisch (chemisch und photochemisch), teils

biotisch (z. B. Methylierung von Hg) abläuft. Einige wichtige wechselseitige Umwandlungen sind in Abb. 24 zusammengefasst. Die Methylierung anorganischer Hg-Verbindungen (in der Regel $HgCl_2$) erfolgt durch Methylcobalamin; der weitere mikrobielle Metabolismus kann, wie in den folgenden Gleichungen dargelegt, wieder zum Quecksilber zurückführen:

$MeHg^+ + SR^- \rightarrow MeHgSR$ ("Minamatagift") , nicht-enzymatisch
$MeHgSR + Substrat \rightarrow HgSR^+ + Substrat{\cdot}CH_3$, katalysiert durch eine Lyase
$HgSR^+ + SR^- \rightarrow Hg(SR)_2$, nicht-enzymatisch
$Hg(SR)_2 + NADPH + H^+ \rightarrow Hg + 2\ HSR + NADP^+$, katalysiert durch Quecksilberionenreduktase

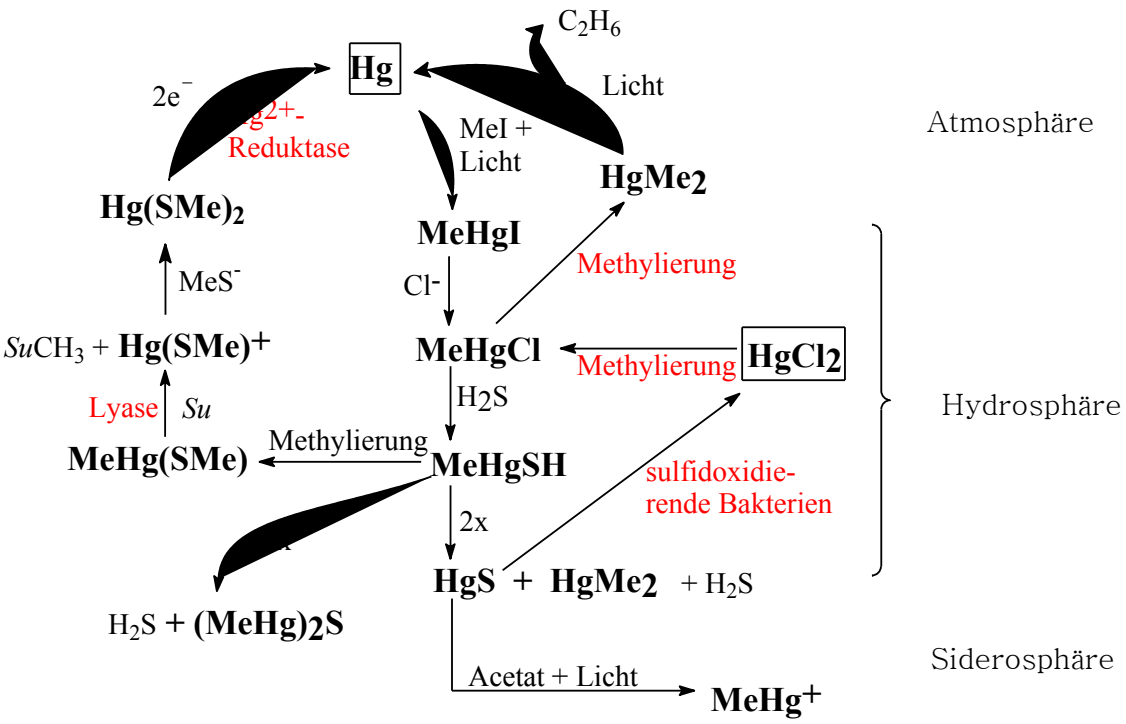


Abbildung 24. Speziation von Quecksilber. Anthropogener Hg-Eintrag ist eingerahmt, mikrobielle Vorgänge rot gekennzeichnet. *Su* ist ein Substrat.

6. Alkali- und Erdalkalimetalle

Alkalimetallionen erfüllen u.a. Funktionen in der Regulation der Ionenstärke und des osmotischen Drucks, elektrochemischer (Membran-)Potentiale, der Nervenreizleitung und der Enzymregulation. Z. Tl. werden solche Funktionen auch von Ca^{2+} (z.B. Muskelkontraktion) wahrgenommen. Kalzium übernimmt aber auch - ähnlich wie häufig das Zink - Strukturfunktionen in Proteinen. Es spielt im übrigen als Apatit eine zentrale Rolle im Stützgewebe (Knochen, Zahnschmelz, Schalen von Muscheln und Schnecken, Korallengehäuse). Dem Magnesium kommen vor allem Aufgaben im Energie- und Phosphatstoffwechsel zu; auf seine Rolle in der Fotosynthese wurde bereits hingewiesen (Kap. 2). Mittlere Ionenkonzentrationen beim Menschen sind:

- Intrazellulärer Raum: $c(Na^+) = 10$ mM, $c(K^+) = 100$ mM, $c(Ca^{2+}) = 1$ µM;
- Extrazellulärer Raum: $c(Na^+) = 140$ mM, $c(K^+) = 5$ mM, $c(Ca^{2+}) = 1$ mM.

Aktiver Transmembrantransport von Natrium- und Kalium-Ionen

Das Aufrechthalten der intra- und extrazellulären K^+- und Na^+-Konzentrationen wird von einer Na^+/K^+-spezifischen ATPase übernommen, im folgende ***E*** (für Enzym) abgekürzt (ATP = Adenosintriphosphat), die parallel mit einer Phosphorylierung/Dephosphorylierung

$$MgATP + H_2O \leftrightarrows MgADP + HPO_4^{2-} (= P_i, \text{"inorganic phosphate"}) + Mg^{2+} + \text{ca. } 35 \text{ kJ/mol}$$

Na^+ aus der Zelle heraus und K^+ in die Zelle hinein transportiert (Na,K-Pumpe). Die Extrusion von Na^+ verläuft gegen ein Konzentrations- und Potentialgefälle (aktiver Transport). ***E*** besteht aus zwei Glycoproteiden der Molmassen 131 bzw. 62 kDa, von denen die größere Untereinheit das eigentliche Transportprotein ist. Im Verlaufe der mit dem Ionentransport gekoppelten Phosphorylierung wechselt es zwischen den Konformationen $\boldsymbol{E_1}$ (Na^+-sensitiv) und $\boldsymbol{E_2}$ (K^+-sensitiv). Pro hydrolysiertem ATP werden 2 K^+ ein- und 3 Na^+ ausgeschleust:

$$ATP + 3Na^+_{in} + 2K^+_{ex} \rightarrow ADP + P_i + 3Na^+_{ex} + 2K^+_{in}$$

Das dadurch entstehende elektrische Ungleichgewicht wird z. Tl. durch eine Na^+,Ca^{2+}-ATPase, zum Teil durch passiven Transport ("Diffusion", s. unten) ausgeglichen. Im einzelnen laufen die durch die Na,K-ATPase katalysierten Vorgänge wie in Abb. 25 zusammengefasst ab. Das Durchschleusen der Alkalimetallionen bei gleichzeitiger Änderung der Konformation des Enzyms kann man sich anschaulich wie in Abb. 24 dargelegt vorstellen.

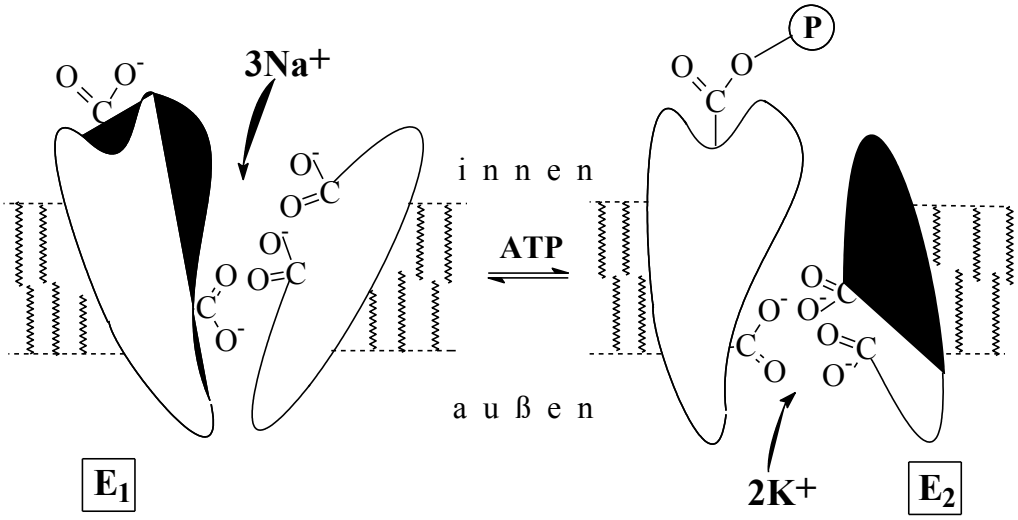


Abbildung 24. Transmembrantransport von Na^+ und K^+ durch ATPase. $\boldsymbol{E_1}$ und $\boldsymbol{E_2}$ repräsentieren unterschiedliche Konformationen der ARPase.

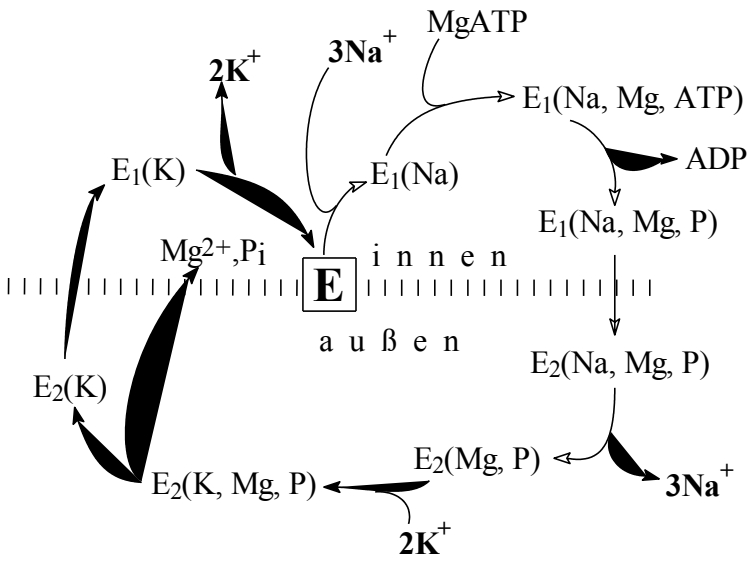


Abbildung 25. Wirkungsweise der Na,K-Pumpe (Na,K-abhängigen ATPase), ***E***.

Einzelvorgänge (vergl. Abb. 25):

(1) Aufnahme von intrazellulärem Na^+, Mg^{2+} und ATP durch $\boldsymbol{E_1}$;
(2) Phosphorylierung des Enzyms (Abb. 26);
(3) Konformationswechsel $\boldsymbol{E_1} \rightarrow \boldsymbol{E_2}$ (Abb. 24);
(4) Extrusion von Na^+ in den extrazellulären Raum und Aufnahme von K^+;
(5) Dephosphorylierung des Enzyms: Abgabe von Phosphat und Mg^{2+} in das Zellinnere;
(6) Konformationsumkehr $\boldsymbol{E_2} \rightarrow \boldsymbol{E_1}$;
(7) Abgabe von K^+ in den intrazellulären Raum,
(8) Reaktivierung des Enzyms durch Aufnahme von Mg^{2+}: $\boldsymbol{E_1} + Mg^{2+} \rightarrow \boldsymbol{E_1}(Mg^{2+})$.

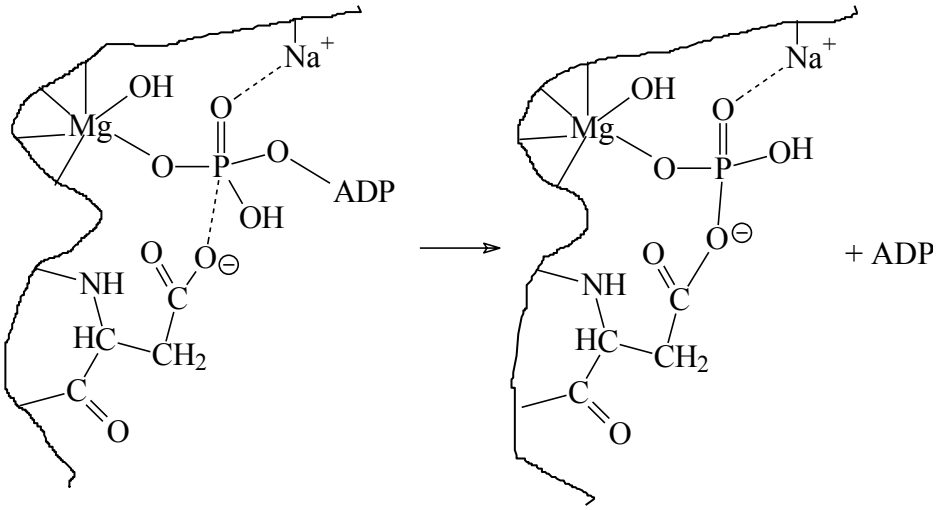


Abbildung 26. Phosphorylierung der ATPase. Durch den Phosphatantagonisten Vanadat ($H_2VO_4^-$) wird der trigonal-bipyramidale Übergangszustand durch Einbau von Vanadat fixiert, der Phoyphorylierungsschritt damit inhibiert.

Passiver Transport

Neben dem ATP-getriebenen aktiven Transport können Ionen auch passiv entlang eines Konzentrations- oder elektrochemischen Gradienten durch Ionenkanäle transportiert werden. Ionenkanäle sind membrangebundene Glycoproteide, deren Kanal-Innenwandung mit Carboxylatgruppen von Asp oder Glu ausgekleidet ist. Die Ionenkanäle sind üblicherweise ionenspezifisch. Man unterscheidet zwischen (1) Leckkanälen (leak channels), die es nur für K^+ gibt, und die dauerhaft durchgängig sind, und (2) gesteuerten Kanälen (gated channels), die geschlossen sind, aber durch einen Reiz für den Ionendurchlass geöffnet werden können. Dieser Reiz kann sein (a) chemischer Natur (ligandengesteuert; ligand gated; z.B. durch DOPA, Acetylcholin, NO), (b) elektrischer Natur (spannungsgesteuert; voltage gated) oder (c) mechanischer Natur (stretch gated).

Daneben können Alkalimetallionen auch durch Transportantibiotika (Ionophore) durch die Membran gelangen. Solche Ionophore bilden entweder Kanäle, oder sie fungieren als Carrier, d.h. sie komplexieren das Ion und transportieren es so durch die Lipidmembran. Bei solchen Transportvehikeln handelt es sich um Makrozyklen mit im wesentlichen *O*-funktionellen Gruppen, ähnlich den Kronenethern, Kryptanden und Calixarenen. Alkalimetallkomplexe mit letzteren können daher als Modellsysteme für Alkalimetall-Ionophorkomplexe angesehen werden. Die Spezifizität der Koordination wird hier wie dort durch die Größe der verfügbaren Hohlräume prädestiniert. In Abb. 27 sind einige Makrocyclen zusammengestellt. Abb. 28 ist eine grafische Darstellung der Abhängigkeit der Komplex-Dissoziationskonstanten $K_D = [M^+][\text{Cryptand}]/[\{M(\text{cryptand})\}^+]$ von der Art des Kations. Die effektiven Kationendurchmesser für die Alkalimetallionen bei einer Koordinationszahl von 6 (in Klammern: Koordinationszahl 8) sind: Li^+ 76 (92), Na^+ 102 (118), K^+ 138 (152), Rb^+ 152 (162), Cs^+ 167 (175).

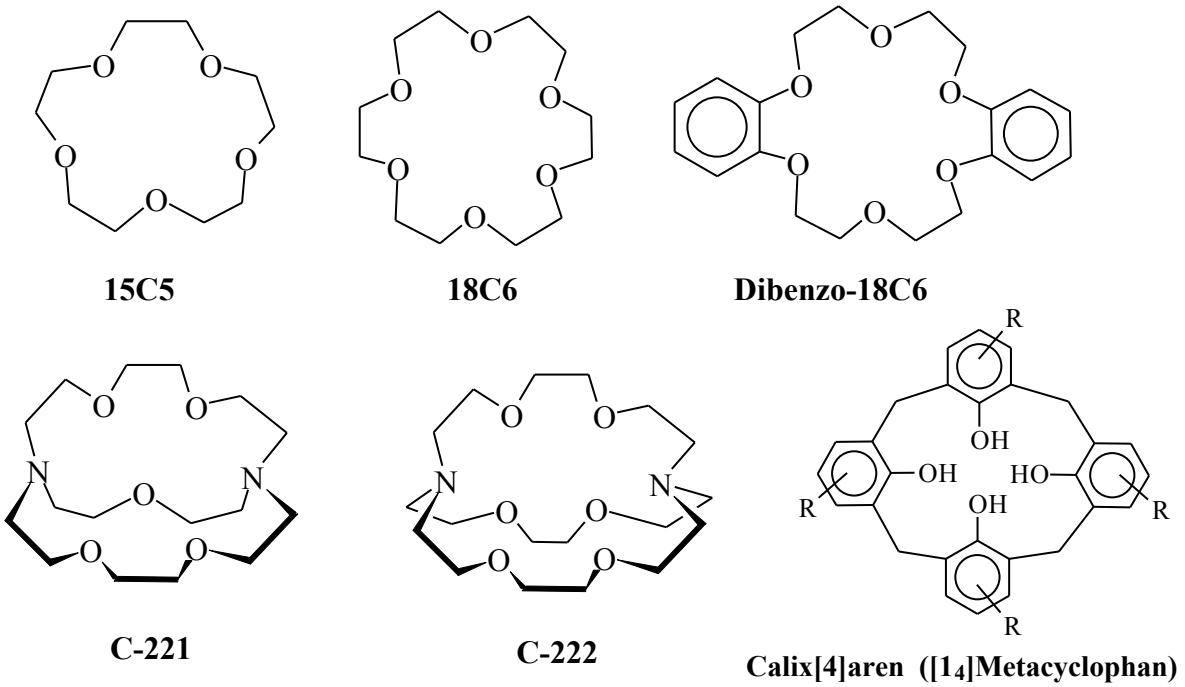


Abbildung 27. Für die Komplexierung von Metallionen geeignete Kronenether (oben), Kryptanden (unten links und Mitte) und Calixarene (Metacyclophane, unten rechts). 18C6 = 18-Krone-6 (18-gliedrig, 6 O-Funktionen); C221 = Kryptand-221 (Anzahl der O-Funktionen in den drei Brücken). Die Metall-Cryptand-Komplexe heißen Kryptate.

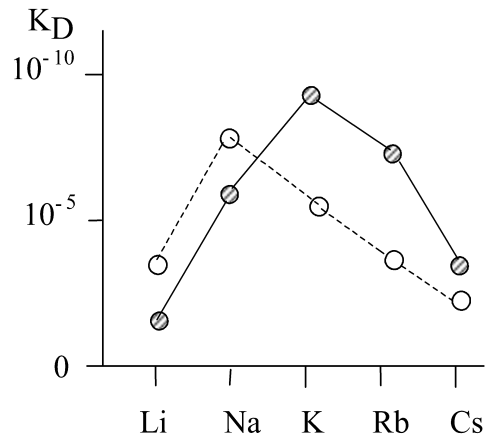


Abbildung 28. Dissoziationskonstanten der Komplexe, die Alkalimetallionen mit den Kryptanden C222 (ausgezogene Linie, schattierte Kreise) bzw. C221 (gestrichelte Linie, offene Kreise) bilden.

Beispiele für biogene Ionophore sind in Abb. 29 zusammengestellt. Im Valinomycin, einem zyklischen Depsipeptid, sind sechs Aminosäuren (L-Valin und D-Valin) und sechs Hydroxycarbonsäuren (D-Hydroxyisovaleriansäure und L-Milchsäure) alternierend über Peptid- und Esterbindungen miteinander verknüpft: [(L-Val)-(D-Hiv)-(D-Val)-(L-Lac)]$_3$. Die Koordination des K^+ erfolgt über sechs Carbonylsauerstoff-Funktionen. Die Peripherie des Komplexes ist hydrophob und gewährleistet somit die „Löslichkeit" des Ionophors in der lipophilen Membran. Im K^+-Nonactin ist die Koordinationszahl 8 realisiert. Nonactin ist ein zyklischer Ester, der mit vier Sauerstofffunktionen aus den Estergruppierungen und mit vier Ethersauerstoff-Funktionen aus Tetrahydrofuran-Einheiten an das Kalium koordiniert. Der Na^+-transportierende Ionophor Antamanid ist eine cyclisches Decapeptid (-Val-Pro-Pro-Ala-Phe-Phe-Pro-Pro-Phe-Phe-), welches das Na^+ oktaedrisch über sechs Carbonylgruppen koordiniert.

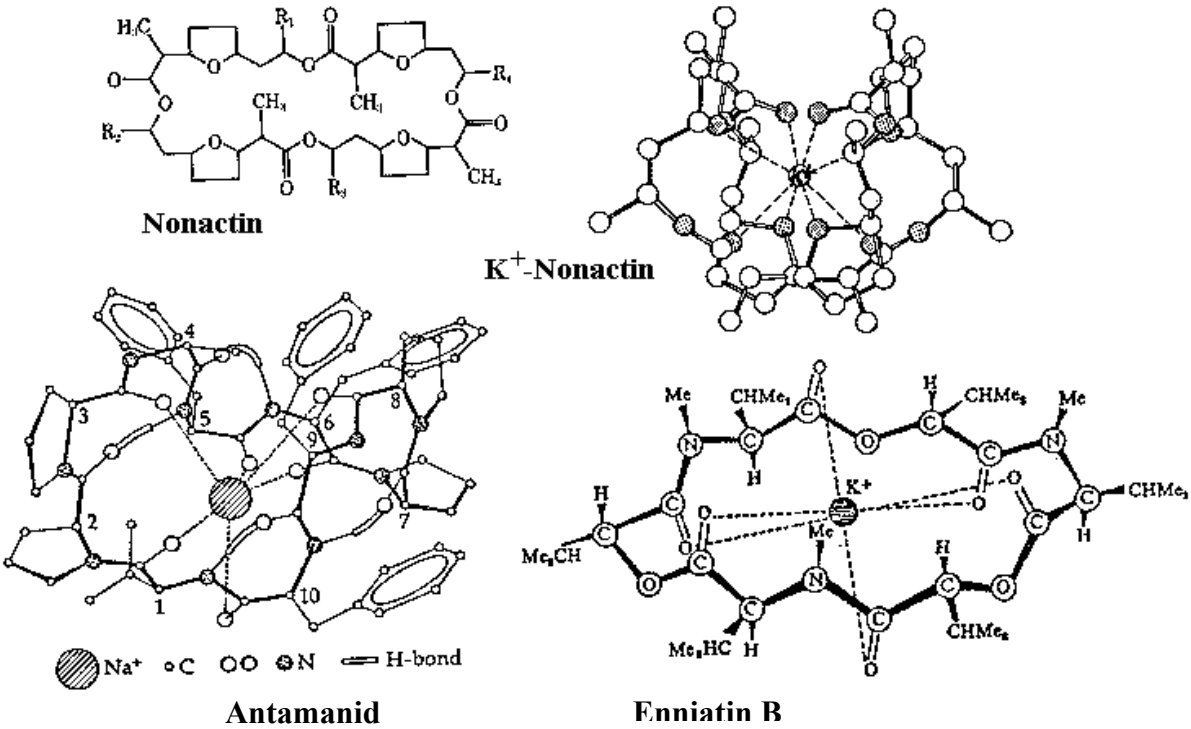
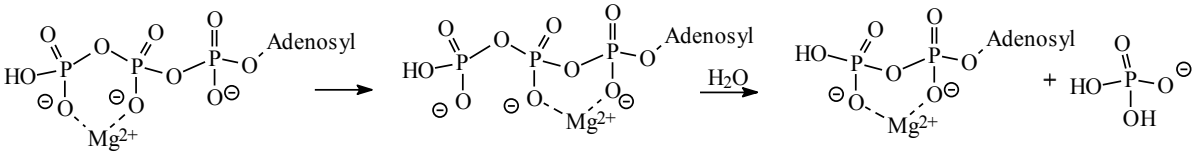


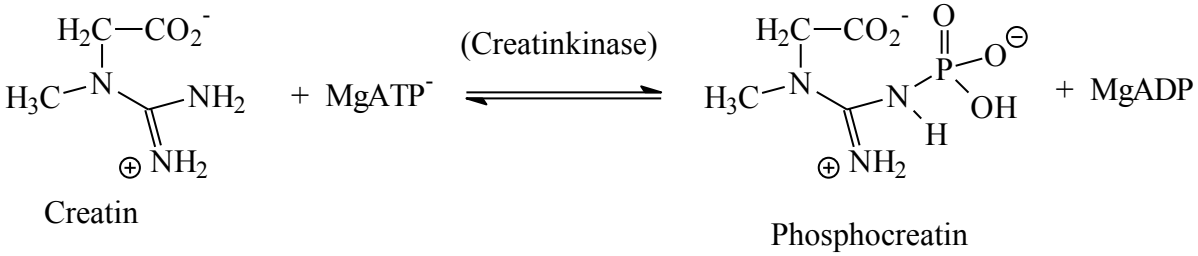
Abbildung 29. Ionophore für K^+ (Nonactin und Enniatin) und Na^+ (Antamanid).

Magnesium

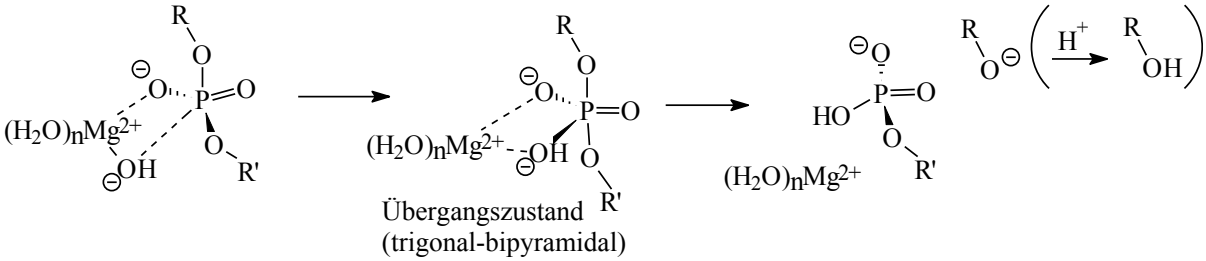
Magnesium übernimmt u.a. im Phosphat- (und damit auch im Energie-)Metabolismus eine essentielle Rolle, indem es durch Bindung an Diphosphat oder Phosphat + Carboxylat/Alkoholat die erforderlichen Aktivierungsschritte ermöglicht. Beispiele sind Kinasen, ATPasen, Phosphatasen, Isomerasen, Enolasen, Proteinsyntheasen und -Polymerasen; s. das folgende Beispiel sowie die ATPase weiter unten:



Die Komplexbildungskonstanten der MgATP/ADP-Komplexe ($Mg^{2+} + ATP^{3-} \leftrightarrows [MgATP]^-$) liegen bei 10^4 M^{-1} (die Dissoziationskonstanten entsprechend bei 0.1 mM). Die Koordinationssphäre des Mg^{2+} ist zusätzlich von Wasser besetzt. Die freie Reaktionsenthalpie für die ATP-Hydrolyse liegt bei ΔG = -35 kJ/mol. Die Phosphatgruppe kann z.B. auf Zucker übertragen werden (katalysiert durch eine Hexosephosphatase), in Zellen mit hohem ATP-Umsatz auch auf Creatin; Phosphocreatin dient seinerseits als Phosphatspeicher für die rasche Regenerierung von ATP. Der tägliche Umsatz an ATP entspricht im Ruhezustand etwa dem halben Körpergewicht.



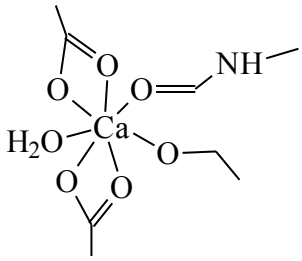
Mg^{2+} vermitteln auch die Hydrolyse von Phosphoesterbindungen durch Phosphatasen, wobei ein trigonal-bipyramidaler Übergangszustand durchlaufen wird:



Calcium

Schwerlösliche Calciumverbindungen (Carbonate, Phosphate, Sulfate, Carboxylate) übernehmen Stützfunktionen, indem sie am Aufbau von Exo- und Endoskelettstrukturen beteiligt sind (s. Exkurs „Biomineralisation“). Ein 70 kg schwerer Mensch enthält ca. 1.1 kg Calcium, im Wesentlichen in der Knochensubstanz. Nur etwa 10 g sind nicht an Knochenmaterial gebunden. Diese 10 g sind für eine Vielzahl von Funktionen im Organismus zuständig. Hierzu gehört die Regulation von Zellfunktionen, der Muskelkontraktion, der Blutgerinnung und Enzymregulation, letztere mittels spezieller Ca^{2+}-bindender Proteine (Calmoduline; s.u.). Ganz allgemein wirkt Ca^{2+} als „second messenger“, indem es Signale

auslöst, reguliert und verstärkt. Daneben kann Ca^{2+}, ähnlich wie Zn^{2+}, als Cofaktor in Enzymen auch Hydrolasefunktion übernehmen (z.B. die Hydrolyse der Phosphodiester-Bindung in bestimmten Nucleasen), sowie als Bestandteil von Proteinen Strukturfunktion haben (z.B. im Thermolysin und der Proteinase-K). In der Regel ist für die Funktion von Calcium eine nur sehr niedrige cytosolische Konzentration (von 0.1 bis 1 µM) erforderlich. Die extrazellulären Konzentrationen liegen bei 1 mM. Den Austausch übernehmen Ca^{2+}-ATPasen (s.a. weiter unten). Fehlfunktionen im Ca^{2+}-Stoffwechsel können u.a. zu Ablagerunen schwerlöslicher Calciumverbindungen in den Blutgefäßen und Sekretionsorganen führen, sowie zu Erkrankungen des cardiovaskulären Systems.



Im Unterschied zu Mg^{2+}, das oktedrische Koordination bevorzugt, neigt Ca^{2+} zur Ausbildung der Koordinationszahlen 7 und 8. Bevorzugte Liganden sind H_2O, Carboxylate (Asp, Glu), die Carbonylgruppe aus der Peptidbindung, und R-OH. Ein Beispiel ist Parvalbumin, ein Ca^{2+}-haltiges Protein in der glatten Muskulatur, beteiligt an der Muskelrelaxation (s. rechts).

Den Transmembran-Transport von Ca^{2+} (vom intra- in den extrazellulären Raum), gekoppelt mit dem Transport von Na^+ (vom extra- in den intrazellulären Raum; $2Na^+$ je Ca^{2+}) übernimmt eine Na,Ca-ATPase. Die Ca^{2+}-Extrusion ist dabei mit der Synthese von ATP aus ADP und P_i verknüpft. Das so in die Zelle eingeschleuste Na^+ wird durch die Na,K-Pumpe wieder hinausbefördert. S. a. Abb. 30.

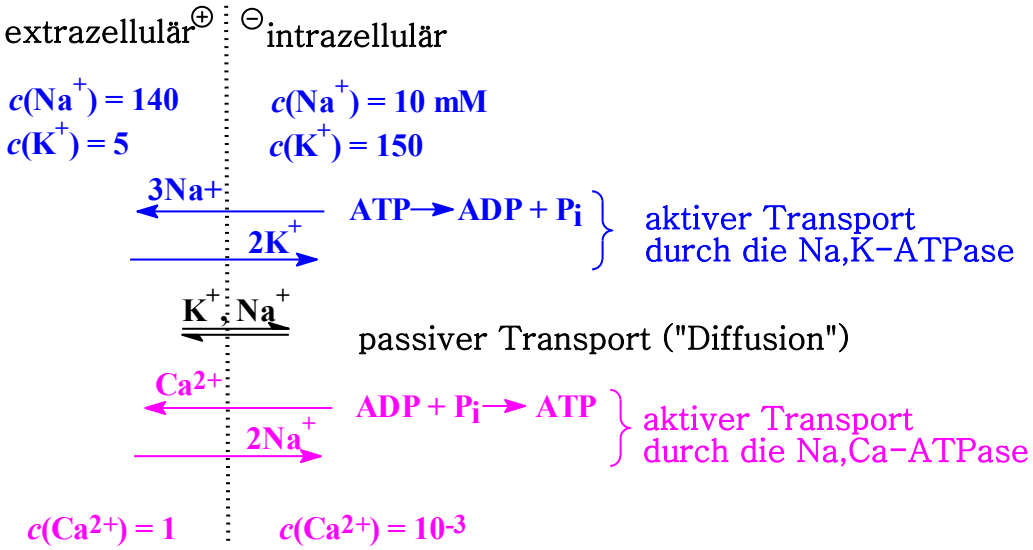


Abbildung 30. Der Transmembran-Transport der Ionen Na^+, K^+ und Ca^{2+}

Ca^{2+} spielt eine essentielle Rolle bei der Muskelkontraktion. Muskelzellen enthalten Muskelfasern (Muskelfibrillen, Myofibrillen), die eingebettet sind in das Sarkoplasmatische Retikulum (SR). Dieses enthält Zisternen (Vesikel; *ves*), die Ca^{2+} vorrätig halten. Die Ca^{2+}-Konzentration in den Vesikeln liegt bei 1-5 mM. Die Speicherung von Ca^{2+} wird durch das saure Protein Calsequesterin gewährleistet: 50 kD, kann mittels zahlreicher Asp und Glu bis zu 50 Ca^{2+} binden. Die Muskelkontraktion wird durch Ausschüttung von Ca^{2+} in das Cytoplasma (*cyt*) des SR über die Membran des SR bewirkt, wobei wieder eine ATPase (*E*) involviert ist, die zwischen den Konformationen E_1 und E_2 wechselt:

- Der Transport aus den Vesikeln in das Cytoplasma löst die Kontraktion der Muskelfibrillen aus:

$$2Ca^{2+}(ves) + E_2\text{-Phosphat} + ADP \rightarrow 2Ca^{2+}(cyt) + E_1 + ATP$$

- Rücktransport der Ca^{2+} aus dem Cytoplasma in die Vesikeln des SR führt zur Muskelrelaxation:

$$2Ca^{2+}(cyt) + E_1 + ATP \rightarrow 2Ca^{2+}(ves) + E_2\text{-Phosphat} + ADP$$

Die Aktivierung Ca^{2+}-abhängiger Enzyme wird durch Proteine der Calmodulin-Gruppe initiiert. Calmodulin = calcium modulating protein. Dies sind kleine Proteine der Molmasse 17 kD, die vier Ca^{2+} binden können und dabei eine Konformationsänderung erfahren, die eine Ankopplung an die zu aktivierenden Enzyme (z.B. Ca-ATPasen, NO-Synthasen, NAD-Kinasen, Adenylat-Cyclase) ermöglicht; vergl. Abb. 31.

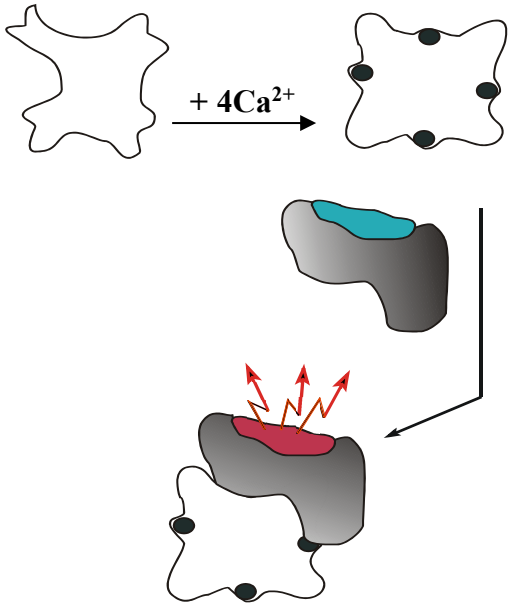


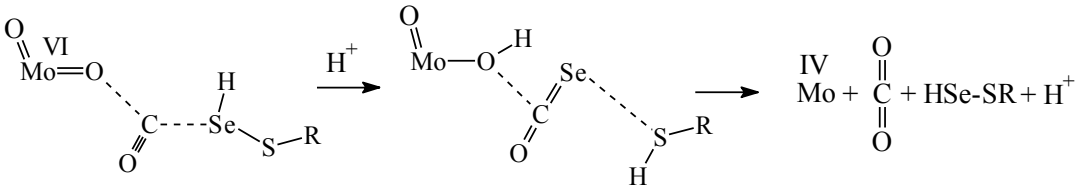
Abbildung 31. Modell für die Aktivierung von Enzymen (grau) durch Ca^{2+}-Calmodulin. Blau: Substrat; rot: aktiviertes Substrat.

7. Biogene M-C-Bindungen

Im folgenden werden einige Beispiele für M = S, Se, I, As, Co, Ni, Fe, Mo, V, Cd und Hg (zu den Cd und Hg s. a. Kap. 6.) unter Berücksichtigung toxikologischer Aspekte angesprochen.

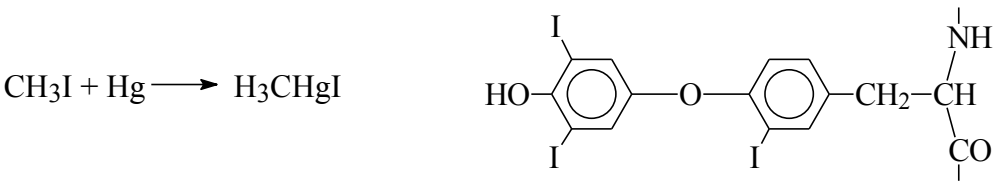
(1) Se-C: Selenocystein, $HSe\text{-}CH_2\text{-}CH(NH_3^+)CO_2^-$;
spielt im aktiven Zentrum der Glutathionperoxidase, der Iodthyronin-Deiodinase (Thyroxin $T_4 \rightarrow$ Thyroxin T_3) und in einer Ni-haltigen Hydrogenase eine Rolle. (s.a. Metabolismus von Selenit unter (3)).

Rolle von Selanylcystein in der durch ein Molybdopterin katalysierten CO-Dehydrogenase-Reaktion:



(32b)

(2) I-C: Methyliodid, ICH_3;
wird von versch. Meeresalgen gebildet und fungiert als Methylierungsmittel (CH_3^+-Transfer). Beispiel: oxidative Addition an Hg. Weiterhin spielt die I-C Bindung in den Schilddrüsenhormonen - z.B. Thoroxin T_3 (s. Formel) eine Rolle.



(3) S-C: Adenosylmethionin (Abb. 32, **A**);

wirkt als Methylierungsmittel (CH_3^+-Transfer) z.B. im Metabolismus von Arsenit und Selenit:

$AsO(OH)_2^- \rightarrow MeAsO(OH)_2 \rightarrow MeAs(OH)_2 \rightarrow\rightarrow Me_2AsO(OH) \rightarrow\rightarrow AsMe_3$
Arsenit Methylarsonsäure Kakodylsäure Gosiogift

$SeO_2(OH)^- \rightarrow Me_2SeO$ und Me_2Se (weitere Metaboliten: Me_3SeCl, Se)
Selenit Dimethylselenon und Dimethylselan

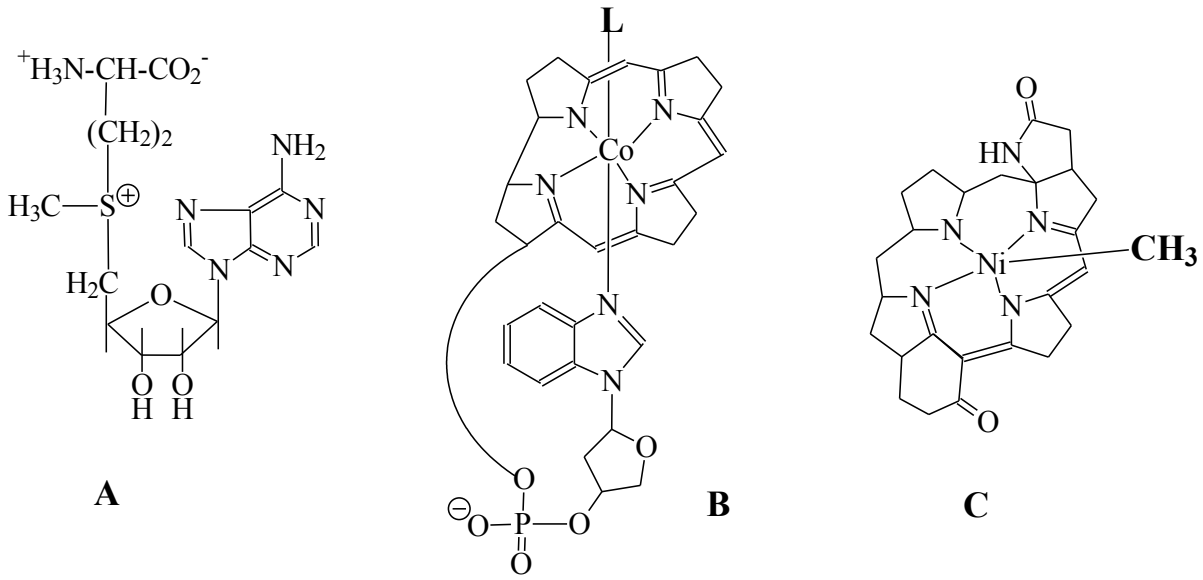


Abbildung 32. **A**: Adenosylmethionin; **B**: Cobalamine (L = CN: Cyanocobalamin, L = Me: Methylcobalamin, M = 5'-Adenosyl (vergl. **A**): Adenosylcobalamin); **C**: Methylierter Faktor F_{430} aus dem Enzym Methyl-Coenzym-M-Reduktase.

---

(4) Co-C: Metyl-, Adenosyl-, Cyanocobalamin ("Vitamin B_{12}"); s. Abb. 32, **B**.

Adenosylcobalamin katalysiert insbesondere Isomerisierungen (1,2-Verschiebungen), Methylcobalamin die Übertragung von C_1-Fragmenten. Auch anorganischer Quecksilberverbindungen werden methyliert (CH_3^--Transfer):

$Cl\text{-}Hg\text{-}Cl \rightarrow Me\text{-}Hg\text{-}Cl$ ($\leftrightarrows MeHg^+ + Cl^-$)
"Methylquecksilber"

Die weitere Metabolisierung des Quecksilbers verläuft über mehrere enzymatische und nicht-enzymatische Stufen, deren letzte - die nur in spezialisierten Bakterien beobachtete Bildung von Hg - als Entgiftung interpretiert wird:

$MeHg^+ + SR^- \rightarrow MeHgSR$ ("Minamatagift") , nicht-enzymatisch
$MeHgSR + Substrat \rightarrow HgSR^+ + Substrat{\cdot}CH_3$, katalysiert durch eine Lyase
$HgSR^+ + SR^- \rightarrow Hg(SR)_2$, nicht-enzymatisch
$Hg(SR)_2 + NADPH + H^+ \rightarrow Hg + 2\ HSR + NADP^+$, katalysiert durch Quecksilberionenreduktase

(5) Ni-C: Faktor F_{430} der Methyl-Coenzym-M-Reduktase

Dieses Enzym katalysiert den letzten Schritt der Methanogenese durch methanogene Bakterien (z.B. 1/6 $C_6H_{12}O_6 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow CH_4$; auch CO_2 kann Kohlenstoffquelle sein):

$$\underset{\text{Methyl-Coenzym-M}}{H_3C\text{-}SCH_2CH_2SO_3H} + \underset{\text{Faktor } F_{430}}{\{Ni^+\}} \rightarrow \{Ni^{3+}\text{-}CH_3^-\} + {}^-SCH_2CH_2SO_3H$$

$$\{Ni^{3+}\text{-}CH_3^-\} + H^+ \rightarrow CH_4 + \{Ni^{3+}\}$$

(vergl. **C** in Abb. 32)

(6) Ni-Fe-CO-Dehydrogenasen/Coenzym-A-Syntheasen katalysieren die Reaktionen

$$CO + H_2O \rightarrow CO_2 + H_2$$
$$CO + CoA + \cdot CH_3 \rightarrow H_3C\text{-}C(O)\text{-}CoA$$

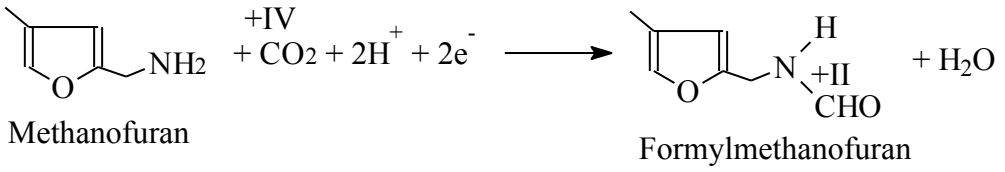
Die Aktivierung von CO erfolgt durch Koordination an Ni oder Fe. Es gibt auch eine Ni-Fe CO-Dehydrogenase, die auch im Ruhezustand bereits CO (sowie CN^-) an das Eisenzentrum koordiniert enthält.
Die Methylgruppe wird durch Methyl-Cobalamin auf das Ni- oder Fe-Zentrum übertragen; es folgt eine migratorische Insertion unter Bildung eines Acylkomplexes, und sodann die Übertragung der Acylgruppe of Coenzym-A.
Zu den aktiven Zentren s. BioAC I.

(7) Fe-C: Für das Verständnis der Toxizität von Phenylhydrazin von Bedeutung ist die Übertragung einer Phenylgruppe auf das Eisen des Hämoglobins, das damit bezüglich seiner O_2-Transportfunktion inhibiert wird:

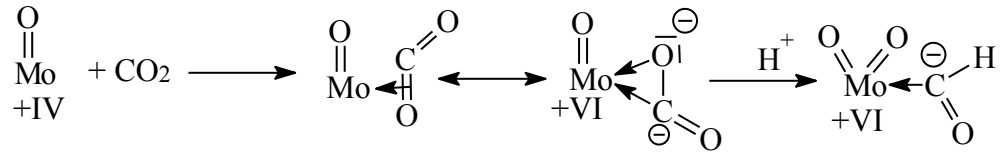
$$Hb(Fe^{2+}) + PhNH\text{-}NH_2 + H^+ + e^- \rightarrow Hb(Fe^{3+}\text{-}Ph^-) + H_2N\text{-}NH_2$$

Fe-CO: Blockierung des Hämoglobins durch Kohlenmonoxid (bindet ca. 270 mal effizienter als Sauerstoff.)

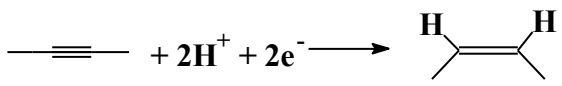
(8) **Mo-C**: Aktivierung von CO_2 durch den Molybdopterin-Cofaktor in der Formylmethanofuran-Dehydrogenase (1. Schritt der von CO_2 ausgehenden Methanogenese; vergl. (5)).



<u>katalysiert durch Molybdopterin:</u>



(9) Mo-C und V-C: Vergl. die Alkinreduktase- Isonitrilreduktase- und Isonitrilligase-Aktivität der Mo- und V-Nitrogenasen: Die reduktive Protonierung von Acetylen zu Z-Ethylen verläuft über eine Aktivierung des Alkins durch side-on-Koordination an das Metall. Entsprechend wird Methylisonitril durch Koordination aktiviert und zu Methan und Methylamin reduziert. In einer Nebenreaktion ensteht hier als C-C-Kupplungsprodukt auch Ethen.



$$RN{\equiv}C + 6H^+ + 6e^- \longrightarrow RNH_2 + CH_4$$