

Bioanorganische Chemie I (Eisen, Molybdän und Nickel)

Dieter Rehder

Vorlesungsskriptum zur Vorlesung im Wintersemester 2006/2007

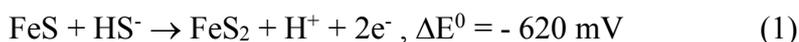
Buchempfehlung: W. Kaim, B. Schwederski: Bioanorganische Chemie (Teubner Taschenbuch), bzw. die engl. Fassung: Bioinorganic Chemistry (Wiley). Sie finden die deutsche Fassung auch in der Staatsbibliothek (unter Biologie), und natürlich in der Bibliothek der Chemischen Institute.

1. Einleitung

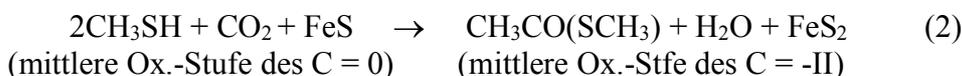
Die Bioanorganische Chemie richtet sich generell an die direkte und mittelbare Rolle anorganischer Stoffe (meist Metallionen) in der belebten Natur. Beispiele sind der Sauerstofftransport durch das Eisenprotein Hämoglobin, Zink in Hydrolyse-Enzymen und in der genetischen Transkription, Magnesium als zentrales Metallion im Chlorophyll und damit in der Photosynthese, aber auch die regulatorischen Funktionen von Ionen wie Natrium und Kalium, die Rolle des Stickstoffmonoxids bei der Signaltransduktion, die Bedeutung von Calcium im Apatit der Knochensubstanz. Ein weiterer wichtiger Teilaspekt sind Anwendungen, die in den medizinischen Bereich gehen, z.B. Cisplatin in der Krebs- und Goldverbindungen in der Rheuma-Therapie, Technetium-99m in der Radiodiagnostik, die Toxizität und der Metabolismus anorganischer Quecksilberverbindungen. Viele mineralische Stoffe werden durch Biomineralisation erzeugt, d.h. durch die Aktivität lebender Organismen. Hierzu gehören die Schalen/Gehäuse von Muscheln/Schnecken („Kalkstein“ = Calciumcarbonat). Eisenminerale wie Magnetit und Goethit können durch lebende Organismen generiert und verwendet werden. Die Umwandlung von Kohlendioxid in Methan durch methanogene Bakterien (hier werden Molybdän, Eisen, Kobalt und Nickel benötigt), die Produktion von Wasserstoff mittels Hydrogenasen (die Eisen und Nickel enthalten), die Fixierung von Luftstickstoff (d. h. Überführung in pflanzenverwertbare Ammoniumionen) durch molybdänhaltige Enzyme sind Beispiele, die auch in Hinblick auf eine industrielle Verwertung von Interesse sind, wenn dann die biologischen Mechanismen aufgeklärt und die biogenen Systeme „nachgebaut“ werden können.

Eine Übersicht über die Bedeutung der Metalle in Lebensprozessen geben die Abbildungen 1 und 2.

Durch Anorganika gesteuerte Prozesse haben möglicherweise schon in der frühesten Phase der Entstehung des Lebens auf der Erde eine Rolle gespielt. Der Vorgang



reicht aus für die Reduktion einer Reihe anorganischer Substrate (z.B. H^+ , CO_2 , Nitrat). Die Kupplung von Methylmercaptan und Kohlendioxid zu aktiver Essigsäure, und die anschließende Bildung von Amidbindungen wird durch Eisen-Nickelsulfid katalysiert:



In einem sehr frühen Stadium der Evolution könnten sich unter den Bedingungen der Uratmosphäre (ca. 20% CO₂, N₂, H₂O, ca. 0.1% O₂, Spuren H₂) durch „Selfassembly“ Eisen-Schwefel-Cluster der Art [Fe₄S₄(SR)₄]²⁻ gebildet haben, die redox-aktiv sind und somit Elektronentransportreaktionen katalysieren. Eingebettet in Proteine - als so genannte Ferredoxine – übernehmen solche Eisen-Schwefel-Cluster vielfältige Redoxfunktionen in zahlreichen Lebensprozessen.

Abb. 1. Periodensystem der Bioelemente

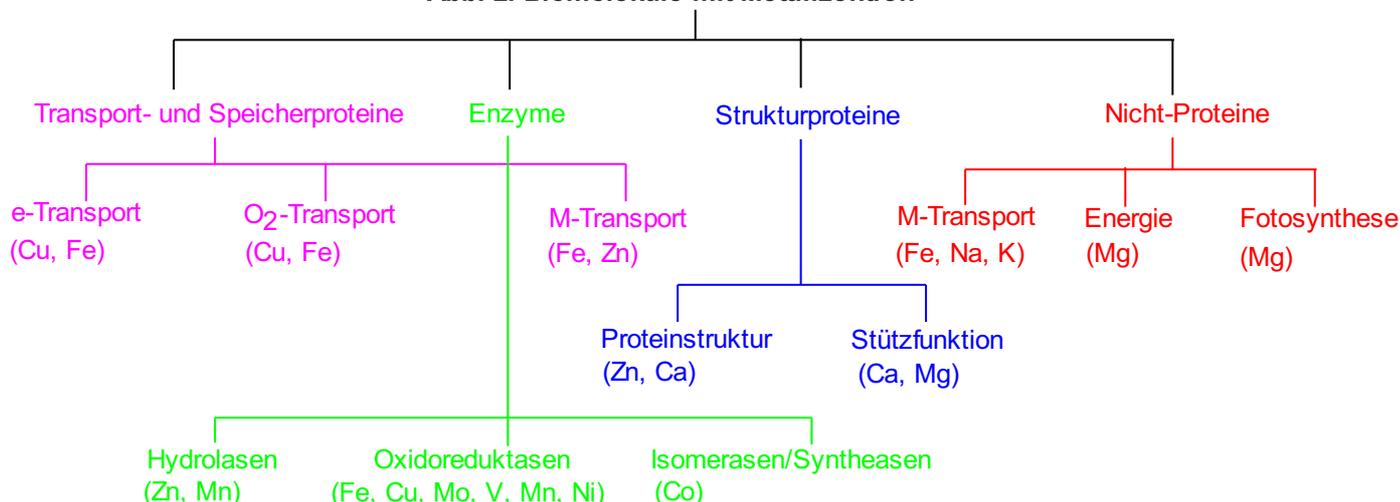
H															C	N	O	F	
															Si	P	S	Cl	
Na	Mg				<i>V</i>	Cr	<i>Mn</i>	<i>Fe</i>	Co	<i>Ni</i>	<i>Cu</i>	Zn				As	Se	Br	
	Sr				<i>Mo</i>							Cd		Sn				I	
	Ba				<i>W</i>														
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.		



"Organische" Elemente

E essentiell in [nahezu] allen Lebewesen; **E** essentiell in vielen Lebewesen; **E** sporadisch essentiell; *kursiv*: Metalle, die vorwiegend Redoxfunktion haben.

Abb. 2. Biomoleküle mit Metallzentren



Ebenfalls urtümlichen Ursprungs sind die thermodynamisch sehr stabilen Porphinogene (mehr oder weniger ungesättigte Tetrapyrrole), die mit Eisen oder Nickel im Zentrum Cofaktoren in Redoxkatalysatoren sind, mit Kobalt im Zentrum als C₁-Transfersysteme in Biosynthesen unentbehrlich sind, und schließlich mit Magnesium im Zentrum das Sonnenlicht für die Photosynthese verfügbar machen und damit die Voraussetzungen dafür geschaffen haben, dass unser Lebensraum mit dem für das heutige aerobe Leben unentbehrliche Sauerstoff angereichert wurde.

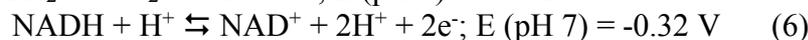
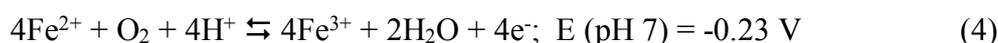
Lit.: Zur Rolle von FeS in primordialen Prozessen: C. Huber, G. Wächtershäuser, *Science* 276 (1997) 245.

2. Eisen

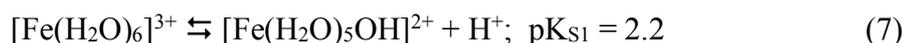
Dieses Element spielt eine zentrale Rolle im biologischen Geschehen. Hierfür sind einerseits die Abundanz und das ubiquitäre Vorkommen des Eisens in der Biosphäre (also dessen prinzipielle Verfügbarkeit) verantwortlich, andererseits eine Reihe von Eigenschaften, die Eisenionen eine große Flexibilität verleihen. Der leicht erfolgende Redoxübergang zwischen den Oxidationszuständen +II und +III; die Befähigung der Hexaaqua-eisenionen, Protonen zu übertragen, die Tendenz von Aqua- und Hydroxokomplexen zu Oligomeren und Polymeren zu kondensieren, der leichte Übergang zwischen high-spin- und low-spin-Eisen und schließlich seine Flexibilität gegenüber der Natur der Liganden (Stickstoffliganden werden ebenso koordiniert wie weiche Thioliganden und harte Sauerstoff-funktionelle Liganden), der Koordinationszahl (3, 4, 5, 6) und der Koordinationsgeometrie.

2a. Die wässrige Eisenchemie

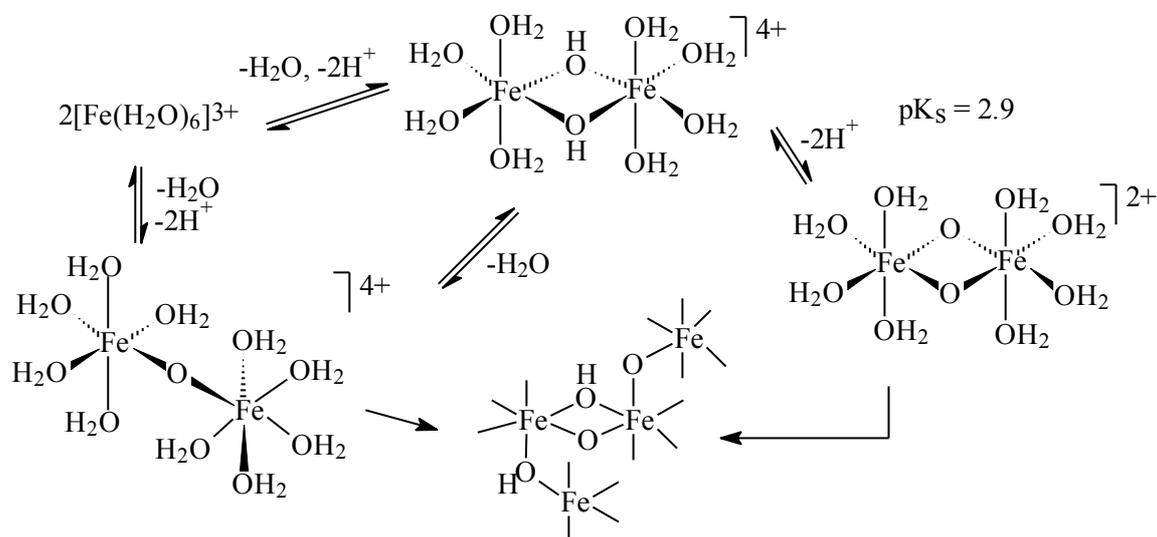
Das Redoxpotential für $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ bei $\text{pH} = 7$ zeigt, daß Eisen(II) unter aeroben Bedingungen zu Eisen(III) oxidiert wird, unter anaeroben Bedingungen aber auch leicht wieder zu Fe^{2+} reduziert werden kann; Gl. (4)-(6):



Hexaaqua-eisen(III)-Ionen wirken als Kationsäuren:



$\text{pK}_{\text{S}2}$ (= 3.5) und $\text{pK}_{\text{S}3}$ (= 6) machen deutlich, daß bereits in schwach saurem Medium die Bildung von Eisenhydroxid beginnt. Neben solchen Protolysereaktionen sind Kondensationsreaktionen (Gl. (8)), bei denen Oxo- und Hydroxo-verbrückte Aggregate entstehen, für Aqua-eisenkomplexe typisch:



Die Kondensation führt über Kolloide schließlich zu schwerlöslichen Eisenoxid-Hydraten [Eisenhydroxide der Zusammensetzung $\text{FeO}(\text{OH})$ (Goethit) bis $5\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (Ferrihydrit); Abb. 3 links]. Die Schwerlöslichkeit von Eisenhydroxid [$L = 2 \cdot 10^{-39}$, $l(\text{pH } 7) = 10^{-18} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$] hat viele Organismengruppen gezwungen, Mobilisierungssysteme für Fe^{III} zu entwickeln.

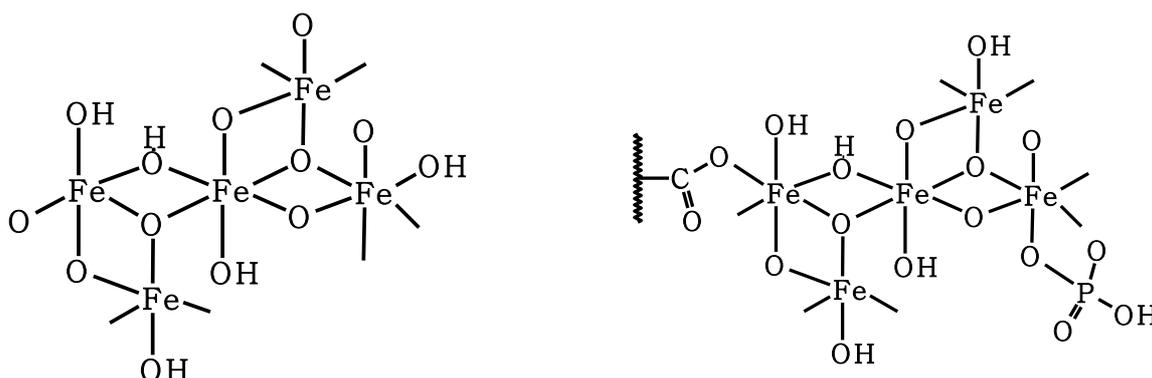


Abbildung 3. Ausschnitte aus der Goethitstruktur (links) und dem Eisenkern der Ferritine (rechts); idealisiert.

2b. Biomineralisation und Eisenspeicherung (Ferritine)

Unter Biomineralisation versteht man die Bildung (und Verwendung) mineralischer Stoffe durch Lebewesen. Zu den Eisenmineralien, die durch Biomineralisation entstehen können, gehören $\alpha\text{-FeO}(\text{OH})$ (Goethit; in den Raspelzunge der Napfschnecken), $5\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (Ferrihydrit), Fe_3O_4 (Magnetit, in magnetotaktischen Bakterien – Abb. 4 – und den Orientierungsorganen von Brieftauben und Bienen), Fe_3S_4 (Greigit, in magnetotaktischen Bakterien), FeS_2 (Pyrit; s.a. Gl. (1)) und (FeCO_3) Siderit. An der Bildung von Mineralien mit Eisen(II) (Pyrit, Siderit) sind sulfatreduzierende Bakterien der Gattung *Desulfovibrio* oder Hydrogenase-aktive Bakterien beteiligt:

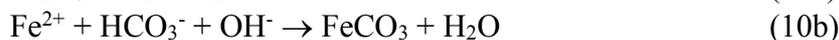
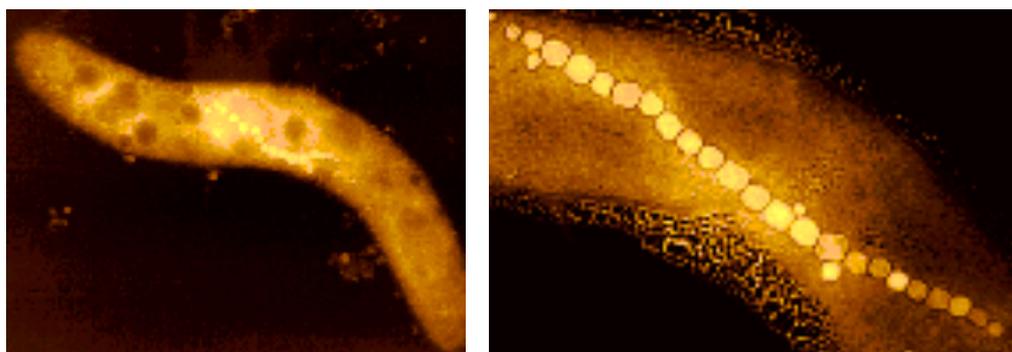


Abbildung 4. Magnetotaktisches Bakterium mit Magnetitkriställchen (rechts: Ausschnitt)



Zellinnere erfolgt durch Reduktion des Fe^{3+} zu Fe^{2+} und/oder oxidative Zerstörung des Liganden. Beispiele für versch. Klassen von Siderophoren sind in Abb. 6 zusammengestellt.

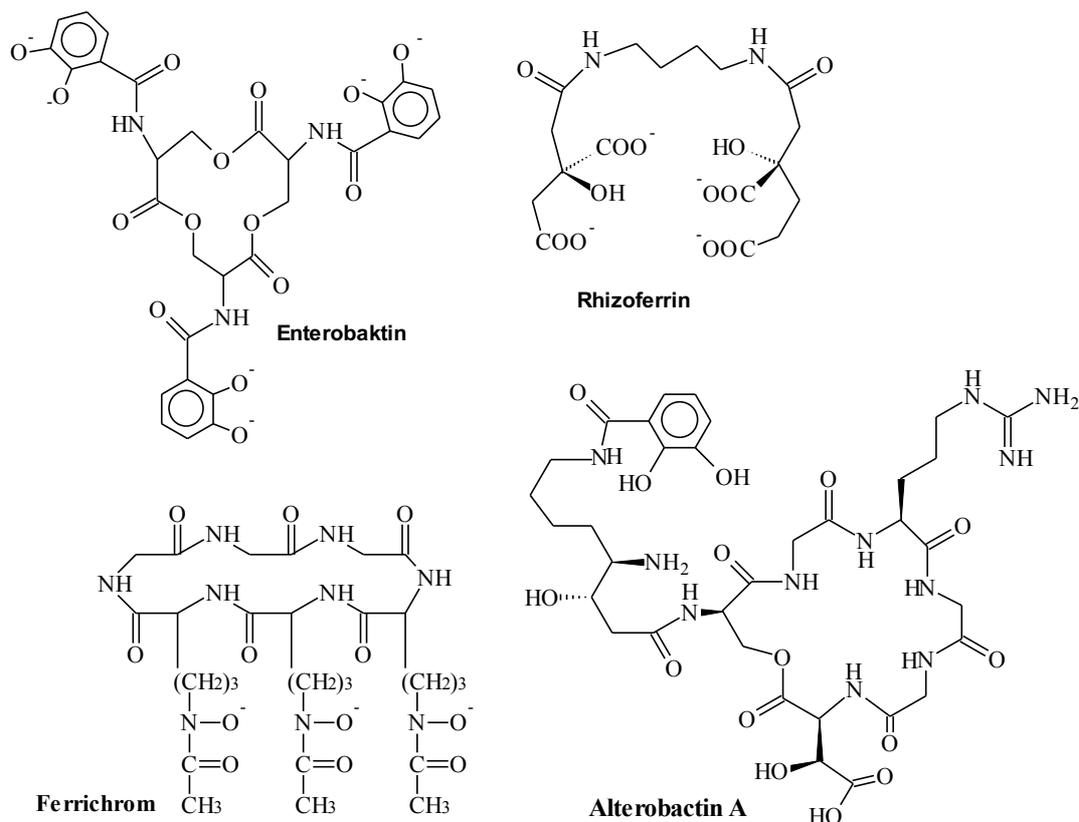
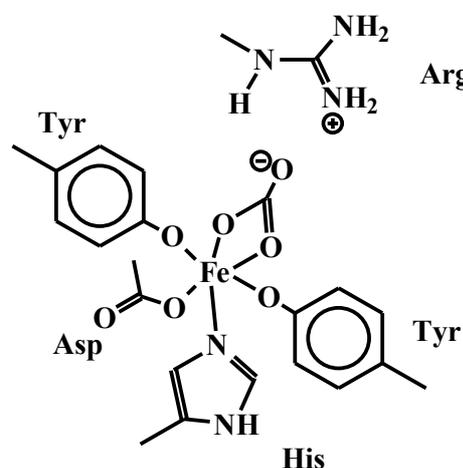


Abbildung 6. Beispiele für Siderophore: Das Tris(catecholat) Enterobaktin bildet den anionischen Komplex $[\text{Fe}(\text{enterobaktin})_3]^{3-}$; das Hydroxamat Ferrichrom den Neutralkomplex $[\text{Fe}(\text{ferrichrom})]$. Rhizoferrin ist ein pflanzliches Siderophor vom Hydroxycarboxylat-Typ, Alterobactin A ein gemischt-funktionelles Siderophor aus dem Meeresbakterium *Alteromonas luteoviolacea*.

Im Wirbeltierorganismus wird das Eisen - nach Resorption als Fe^{2+} und Oxidation zu Fe^{3+} - durch Apo-Transferrin (ApoTfH₂) gemeinsam mit Carbonat reversibel aufgenommen:



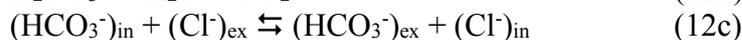
Transferrin ist ein Glycoprotein (Kohlenhydratanteil 6%) der Molmasse 80.000 D, das zwei Fe^{3+} komplexieren und insgesamt ca. 40 mg Eisen pro Tag transportieren kann. Die Komplexbildungskonstanten betragen $10^{20.2}$ bei $\text{pH} = 7.4$, und $10^{12.6}$ bei $\text{pH} = 5.5$. Die Komplexbildungskonstante für Fe^{2+} bei $\text{pH} = 7$ ist nur $10^{3.2}$, d.h. Eisen kann leicht reaktiv wieder aus dem Transferrinkomplex herausgelöst werden – z.B. durch Ascorbat. Zur Koordinationsphäre des Fe^{3+} s. Abb. 7. Transferrin ist auch ein effektives Transportprotein für andere zwei- und dreiwertige Metallionen.

Abbildung 7. Koordinationsumgebung des Fe^{3+} im Transferrin.

3. Sauerstofftransport

3a. Hämoglobin und Myoglobin

Hämoglobin (Hb) ist das Sauerstofftransportprotein im Blut der Wirbeltiere. Es hat eine Molmasse von ca. 65 kD und besteht aus 4 Untereinheiten mit je einem Hämeisen. Fe koordiniert an Protoporphyrin IX, das mit vier Stickstoffatomen vier äquatoriale Positionen besetzt. Eine fünfte, axiale Position ist in der Desoxi- und Oxiform durch das proximale Histidin besetzt; in der Desoxiform ist die zweite axiale Position frei, in der Oxiform tritt an diese Stelle Sauerstoff, der zusätzlich über eine Wasserstoffbrücken-Wechselwirkung an das distale Histidin geknüpft ist (s. Abb. 8). Das monomere Myoglobin (Mb) ist der rote Farbstoff im Muskelgewebe, der den Sauerstoff dank seiner höheren O₂-Affinität vom Hb übernimmt. Die reversible O₂-Aufnahme/Abgabe kann wie folgt formuliert werden:



Die Reaktion (12b) wird von einem Zn-Enzym, der Carboanhydrase katalysiert (s. Bioanorgan. Chemie II). Die Indizes „in“ und „ex“ in Gl. (12c) beziehen sich auf intra- und extrazellulär (bezügl. der Erythrozyten).

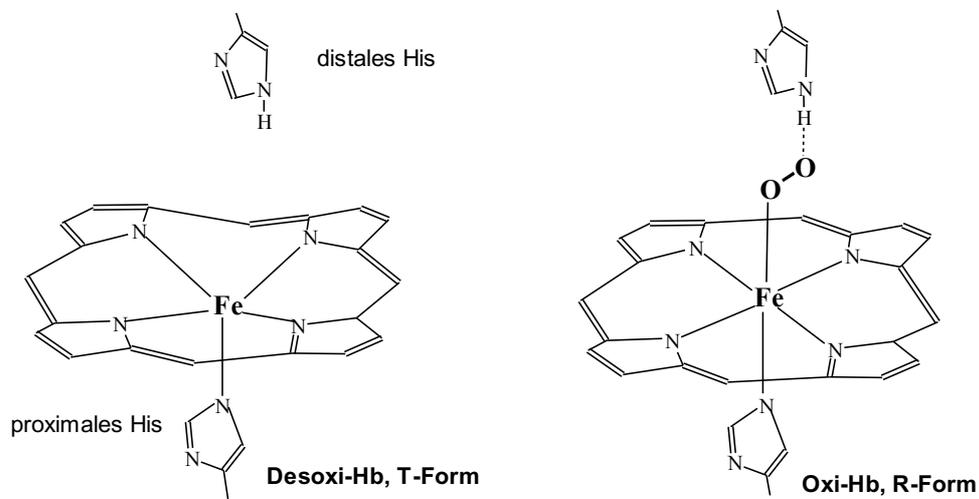


Abbildung 8. Die Eisenzentren im Desoxi- und Oxi-Hämoglobin (ohne Substituenten am Porphyrinring)

Die Bindung von O₂ durch Hb erfolgt in mehreren Stufen (Perutz-Mechanismus): In der Desoxi-Form liegt das Hb in der sogen. T-Form (T für „tensed“) vor: Fe²⁺ ist im high-spin-Zustand und liegt 40 Å oberhalb der durch den Porphyrinring gebildeten, urglasförmig gewölbten Ebene. Bei der O₂-Aufnahme durch die erste Untereinheit des Hb geht das Eisen in den low-spin-Zustand über und verschiebt sich in Richtung auf die Porphyrinebene, von der es nun nur noch 20 Å entfernt steht. Zugleich wird ein Zug auf das proximale His ausgeübt, der sich den anderen Untereinheiten über Konformationsänderungen im Protein mitteilt, die nunmehr gleichfalls O₂ aufnehmen (kooperativer Effekt). Das Eisen schiebt sich hierbei in die Porphyrinebene, die sich unter Bildung der R-Form (R für „relaxed“) glättet. Der Übergang von der high-spin in die low-spin-Form ist mit einer Verringerung des Durchmessers des Eisen-Ions verbunden: Fe²⁺_{hs} = 95, Fe²⁺_{ls} = 75, Fe³⁺_{ls} = 69 pm). Oxi-Hb ist diamagnetisch. Der

Sauerstoff koordiniert end-on gewinkelt. O_2 selbst liegt im Grundzustand in der Triplettform vor (mit den beiden ungepaarten Elektronen in π^* -Orbitalen; Abb. 9). Das magnetischen Verhaltens von Oxi-Hb kann folgendermaßen erklärt werden: (1) Das Eisen verbleibt bei der Sauerstoffaufnahme im Fe^{II} -Zustand; der Sauerstoff geht in die Singulettform über (was wegen der Abwinkelung und der damit aufgehobenen Entartung der π^* -Orbitale möglich wird). (2) Sauerstoff wird im Sinne einer oxidativen Addition aufgenommen: Das Eisen geht in den Fe^{III} -Zustand über, der Sauerstoff wird zum Hyperoxid O_2^- . Durch Spinkopplung zwischen low-spin Fe^{3+} (d^5 , ein ungepaartes Elektron) und dem ungepaarten Elektron des Hyperoxids wird die Verbindung diamagnetisch.

In Abb. 9 ist das MO-Schema des Sauerstoffs gezeigt. Durch Einfüllen von 1 bzw. 2 Elektronen in das π^* -Orbital kommt man zum Hyperoxid O_2^- bzw. Peroxid O_2^{2-} , durch Herausnahme eines Elektrons zum Dioxygen-Kation O_2^+ . Siehe hierzu die untenstehende Tabelle.

Bindungsdaten für verschiedene O_2 -Spezies

Molekül	O_2^+	Triplett- O_2	O_2^-	O_2^{2-}
Bindungsordnung	2.5	2	1.5	1
d(O-O), pm	112	121	133	149
$\nu(O-O)$, cm^{-1}	1860	1555	1145	770

vergl. Mb· O_2 : $\nu(OO) = 1107\text{ cm}^{-1}$, d(OO) = 122 pm

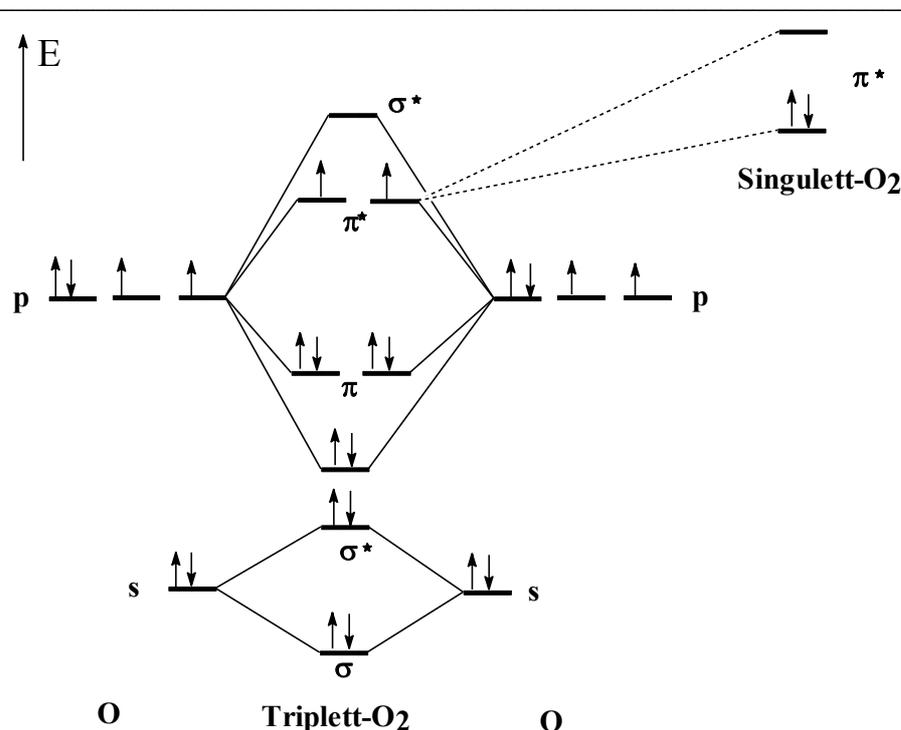


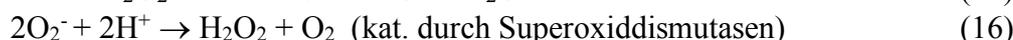
Abbildung 9. MO-Diagramme für Triplett- und Singulett- O_2 .

Die Affinität des Hämoglobins zu Sauerstoff ist abhängig von Temperatur and pH des Blutes: Erhöhte Temperatur and erniedrigter pH vermindern die Sauerstoffaufnahmekapazität (Bohr-Effekt).

Die irreversible Oxidation von Hb führt zu Methämoglobin (MetHb, mit $\text{Fe}^{3+}\text{-OH}$), das nicht mehr in der Lage ist, Sauerstoff aufzunehmen:



Durch Methämoglobin-Reduktase (mit NADH als Cofaktor) wird Hb zurück gebildet. Als Oxidantien kommen z.B. Hyperoxid, Peroxid, OH-Radikale und NO in Frage; Gl. (14). OH-Radikale entstehen z.B. nach der Fenton-Reaktion; Gl. (15). Für die Vernichtung von Hyperoxid und Peroxid hält der Organismus eine Reihe von Reaktionen bereit, Gl. (16) – (17):



GSH in Gl. (17b) steht für Glutathion (ein Tripeptid aus γ -Glu, Cys und Gly).

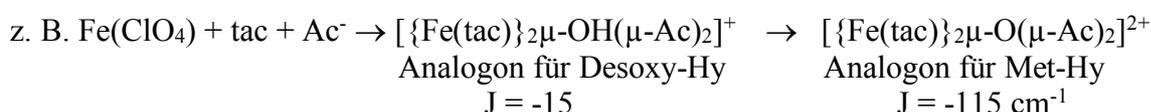
Aberrationen des normalen Hämoglobins sind z.B. Sichelzellenhämoglobin (Glu durch Ala ersetzt; O_2 -Aufnahmekapazität 25-mal geringer; verleiht aber Resistenz gegen Malaria) und Boston-Hämoglobin. Hier ist das distales His durch Tyr ersetzt, das die 6. Koordinationstelle des Eisens blockiert. Eine Blockierung dieser Bindungsstelle für O_2 erfolgt auch durch CO; $\text{Hb}\cdot\text{CO}$ ist ca. 250-mal stabiler als $\text{Hb}\cdot\text{O}_2$.

3b. Andere Sauerstoff-transportierende Proteine

Hämerythrin

Hämerythrin (Hy; Abb. 10) kommt in einigen niederen Würmern vor. Es hat eine Molmasse von 108 000 D, setzt sich aus acht Untereinheiten zusammen, und enthält je Untereinheit zwei Eisenzentren, die in der sauerstofffreien Desoxiform (Fe^{2+}) über eine OH-Gruppe, ein Aspartat und ein Glutamat verbrückt sind. Die beiden Eisenzentren sind antiferromagnetisch gekoppelt (Kopplungskonstante $J = -13 \text{ cm}^{-1}$). Das eine Fe-Zentrum ist zusätzlich an 3 His, das andere an 2 His gebunden. Die Sauerstoffaufnahme erfolgt an der Leerstelle im Sinne einer oxidativen Addition: Fe^{2+} wird zu Fe^{3+} ; die μ -OH Gruppe wird deprotoniert zur μ -O Gruppe, das Proton übertragen auf das koordinierte Peroxid, das hiermit zum Hydroperoxid HO_2^- wird. Zwischen dem Wasserstoff des Hydroperoxids und dem μ -O wird zusätzlich eine Wasserstoffbrücke ausgebildet. Neben der reversiblen oxidativen O_2 -Addition, die Oxihämerythrin ergibt, kann auch eine irreversible, zu inaktivem Methämerythrin ($J = -134 \text{ cm}^{-1}$) führende Oxidation erfolgen.

Zur Modellierung der Struktur dieses Zweieisenzentrums eignen sich Liganden wie 1,4,7-Triazacyclononan (tac) oder Tris(pyrazolyl)borat(1-) (tpzb) (Abb. 11), die mit ihren drei Stickstofffunktionen faciale Positionen in einem Oktaeder besetzen können:



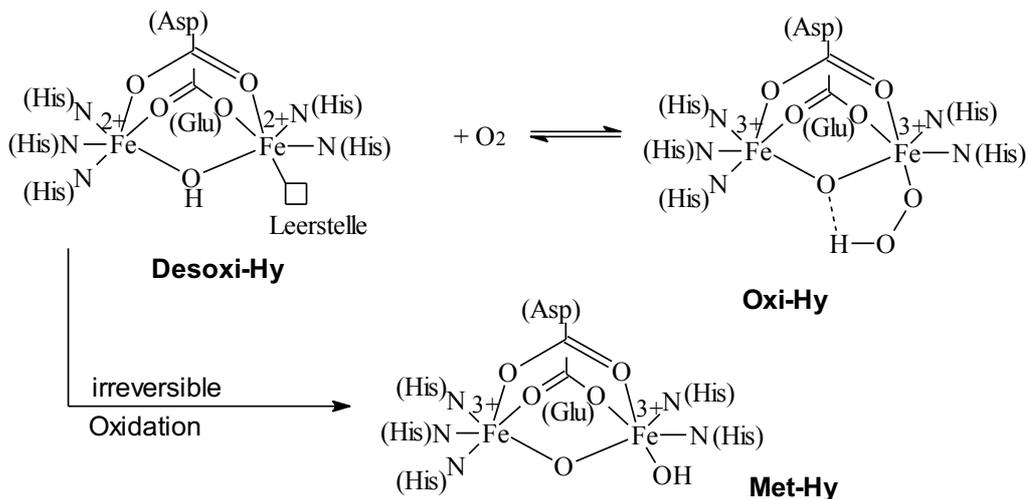
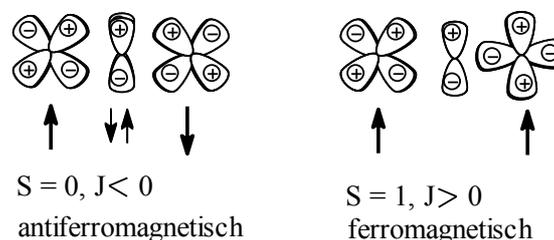


Abbildung 10. Hämerythrin (Hy). Die Azido (N_3^-)-Form des Hy ist strukturell abgesichert.

Im Hämerythrin sind die Eisenzentren antiferromagnetisch gekoppelt (Spins der beiden Metallzentren sind antiparallel ausgerichtet; negative Kopplungskonstante J , mit der Einheit cm^{-1}). Diese Kopplung erfolgt durch so gen. Superaustausch (super exchange) unter Beteiligung der Bindungorbitale zu den verbrückenden Oxo/Hydroxoliganden (links im Bild). Bei orthogonaler Anordnung von p- und d-Orbitalen (rechts im Bild) bleibt eine solche Wechselwirkung aus, und die Spins der beiden Metallzentren koppeln ferromagnetisch.



Mit den in Abb. 11 gezeigten Liganden tac (Triazacyclononan) und tpzb (Tris(pyrazolyl)borat) kann die Koordination von drei Histidinliganden an ein Metallzentrum wie an das Fe im im Hämocyanin effizient modelliert werden. Mit dem sechszählige Liganden HL ist ein Komplex synthetisierbar, der – da er eine Position an einem der Eisenzentren freilässt (in der Abbildung durch Wasser besetzt, das leicht abdissoziieren kann) – das Strukturzentrum des Hämerythrins noch besser modelliert. Dieses Modell liegt in der Semi-Met-Form ($\text{Fe}^{\text{II}} + \text{Fe}^{\text{III}}$) vor.

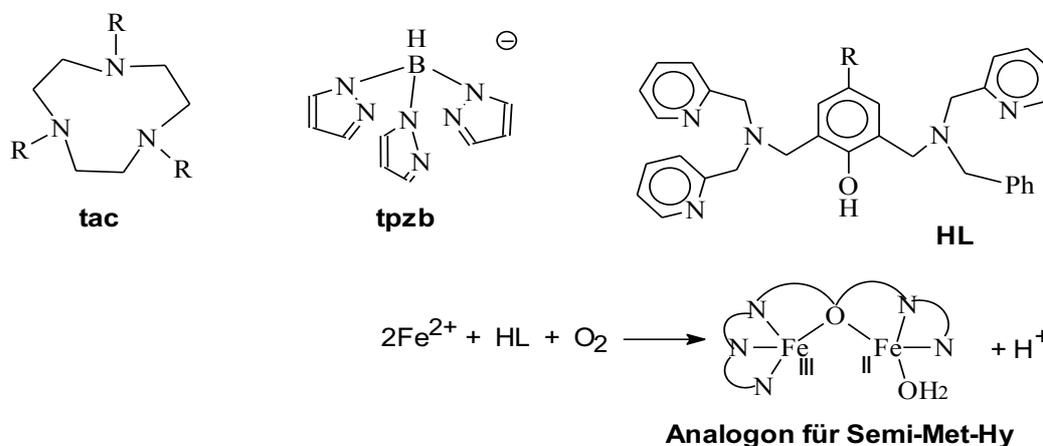


Abbildung 11. Liganden zur Modellierung eines $(\text{His})_3$ -Funktionsatzes, sowie ein strukturelles Modell für Hämerythrin.

Hämocyanine

Das Blut vieler Mollusken (Schnecken, Tintenfische) und Arthropoden (Spinnen, Krebse und Skorpione) enthält ein kupferhaltiges O₂-Protein frei im Serum suspendiert. Die Molmassen dieser Hämocyanine (Hc) variieren zwischen 450 und 9000 kD; die Proteine setzen sich aus Untereinheiten von je 75 kD (Arthropoden) bzw. 50-55 kD (Mollusken) zusammen, die zwei Cu-Zentren im Abstand von 3.56 Å enthalten. Jedes dieser Cu-Zentren (Cu⁺ in der farblosen Desoxiform) ist trigonal an drei His koordiniert (Abb. 12; Cu-N Abstände: 1.9, 2.1 und 2.7 Å) Die O₂-Aufnahme erfolgt auch hier wieder im Sinne einer oxidativen Addition: Im Oxi-Hc liegt Cu²⁺ (d⁹) vor; der Peroxoligand verbrückt die beiden Cu²⁺ side-on (Abb. 12); die beiden d⁹-Zentren sind gekoppelt, so dass auch die Oxiform EPR-inaktiv ist. Oxi-Hc ist wegen eines LMCT-Überganges (vom O²⁻ zum Cu²⁺) intensiv blau gefärbt. Die side-on verbrückende Koordination des Peroxoliganden kann z.B. mit Tris(pyrazolyl)borat (Abb. 11) als Ligand modelliert werden (Abb. 12). In Modellsystemen überwiegt sonst die end-on Verbrückung durch Peroxid, wie in Abb. 12 für den Cu-Komplex mit einem siebenzähligen Liganden gezeigt. Beide Modellkomplexe vermögen den Cu···Cu Abstand im Protein korrekt zu modellieren und O₂ reversibel zu binden. Zu den Hämocyaninen s.a. BioAC II.

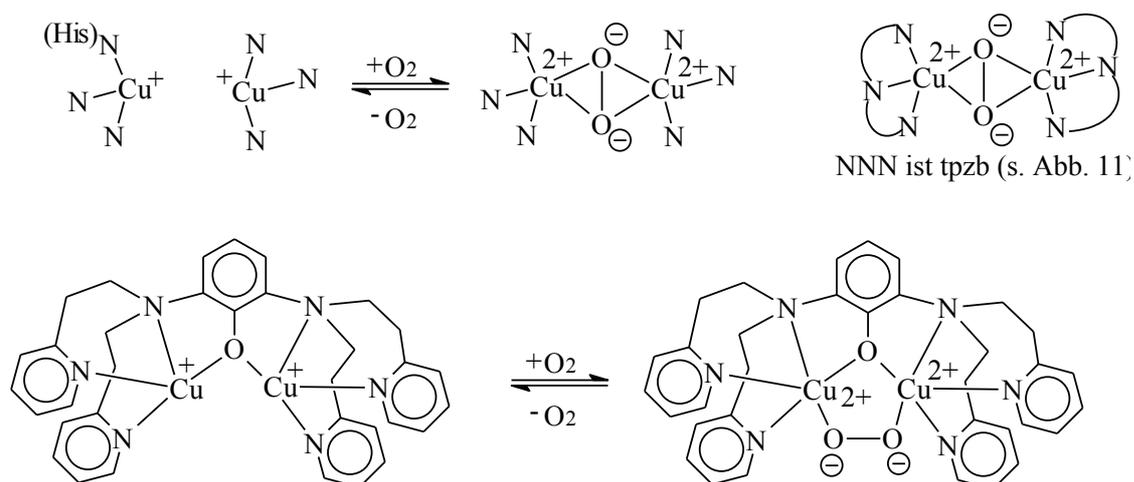


Abbildung 12. Reversible O₂-Bindung durch Hämocyanin (oben links), sowie zwei Modellverbindungen, die die Verbrückung durch side-on koordiniertes Peroxid (oben rechts) bzw. durch end-on koordiniertes Peroxid (unten) modellieren.

5. Die Atmungskette

Ort der Atmungskette sind die Mitochondrien. Hier wird Sauerstoff in einer 4-Elektronenreduktion von NADH (Nicotin-Adenin-Dinukleotid) zu Wasser reduziert, ein Vorgang, der einer Potentialdifferenz von 1.14 V ($\Delta G = -217$ kJ/mol) entspricht und in einer Kaskade von Elektronenübertragungs-Prozessen abläuft, an denen neben organischen 2e⁻-Donatoren/Akzeptoren auch Eisenenzyme (als 1e⁻-Donatoren/Akzeptoren) und ein Eisen-Kupferenzym beteiligt sind. Abb. 13 fasst die wichtigsten Schritte zusammen. Der Einstieg in die Atmungskette kann auch über FADH₂ als direktem Elektronendonator für das Ubichinon (auch Coenzym Q genannt) erfolgen.

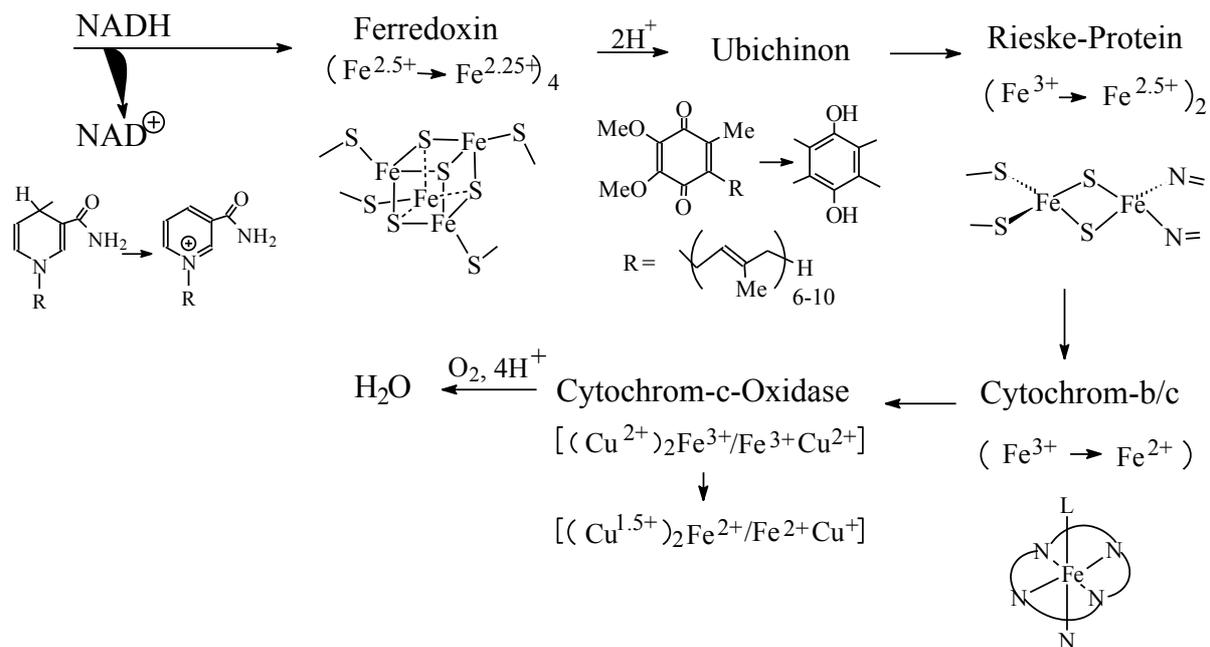


Abbildung 13. Die wichtigsten Stufen innerhalb der mitochondrialen Atmungskette

5a. Die Eisen-Schwefelproteine

Eine Zusammenstellung findet sich in Abb. 14. Die „klassischen“ FeS-Proteine werden in vier Gruppen unterteilt: (1) Rubredoxine mit einem Eisenzentrum und vier Cysteinat-Liganden; (2) 2-Fe-Ferredoxine mit zwei Eisenzentren, zwei verbrückenden Sulfid- und je zwei Cysteinat-Liganden; (3) 4-Fe-Ferredoxine mit vier Eisenzentren und vier μ_3 -S²⁻ in kuboidaler Anordnung sowie einem Cysteinat pro Fe; (4) HiPIPs (High Potential Iron Proteins) mit derselben Anordnung wie in den 4-Fe-Ferredoxinen. In der reduzierten Form der 2-Fe-Ferredoxine liegen lokalisierte Fe^{II} und Fe^{III} Zentren vor. Dagegen sind in den Proteinen mit 4-Fe-Zentren in der Regel die Elektronen über alle Eisenzentren delokalisiert. Während in den 4-Fe-Ferredoxinen die Redoxpotentiale typischerweise -200 bis -400 mV betragen, liegen die Redoxpotentiale der HiPIPs bei $+400$ mV. Die mittlere Oxidationsstufe der Eisenionen der reduzierten Form ist $+2\frac{1}{4}$ (4Fe-Ferredoxine) bzw. $+2\frac{1}{2}$ (HiPIPs), die der oxidierten Form $+2\frac{1}{2}$ (4Fe-Ferredoxine) bzw. $+2\frac{3}{4}$ (HiPIPs). Der Sulfidschwefel wird auch als anorganischer oder labiler (mit HCl als H₂S labilisierbar) Schwefel bezeichnet. Neben den klassischen Formen sind vor allem noch die Rieske-Proteine und die 3-Fe-Ferredoxine von Bedeutung. Gelegentlich kann auch zusätzlich zum Cysteinat noch ein Serinat an ein Eisenzentrum koordiniert sein. Die 3-Fe-Ferredoxine leiten sich von den 4-Fe-Ferredoxinen durch Fortnahme eines Eisenions aus der kuboidalen Struktur her. In den Rieske-Proteinen mit relativ hohen Redoxpotentialen sind die beiden Cysteinat-Liganden eines der beiden Fe-Zentren der 2-Fe-Ferredoxine durch Histidin ersetzt. Die Koordinationsgeometrie dieses FeS₂N₂-Zentrums weicht stark von der Tetraeder-Geometrie ab: der N-Fe-N Winkel liegt bei 90°. Abb. 15 zeigt einen Eisencluster, in dem vier Fe-Zentren durch Sulfid und Oxid verbrückt sind. Dieses aus einem sulfatreduzierenden Bakterium isolierte Eisenzentrum fungiert anders als die Ferredoxine (die jeweils nur ein Elektron übertragen) als Dreielektronen-Überträger.

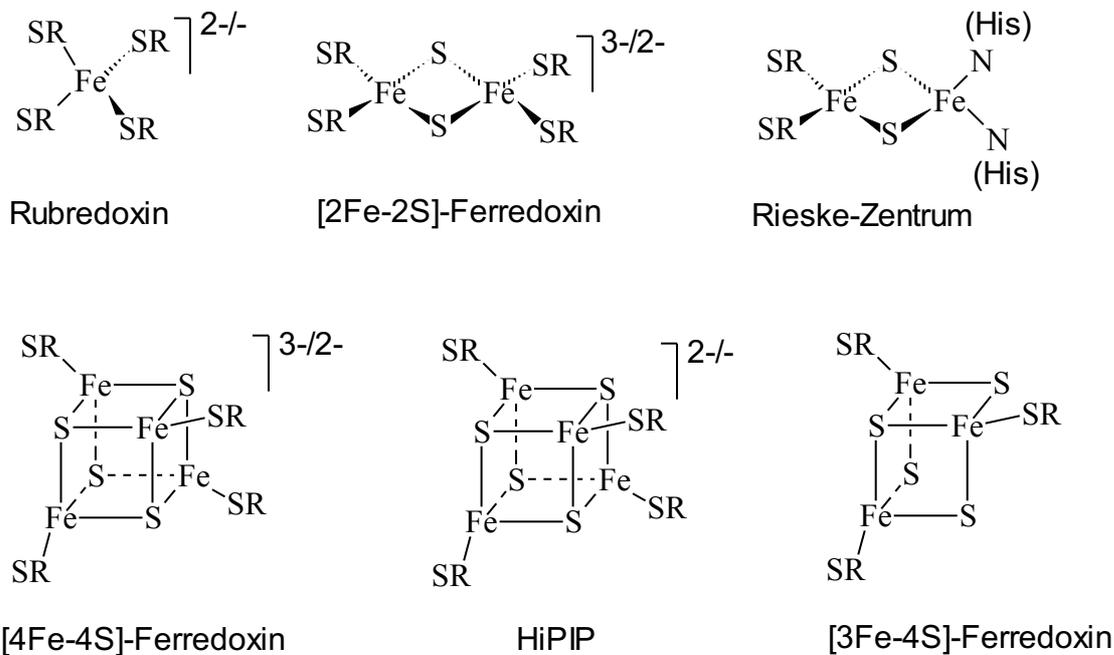


Abbildung 14. Die Eisenzentren der häufigsten Eisenschwefelproteine. Die Ladungen sind für die reduzierte/oxidierte Form angegeben. SR steht für Cysteinat.

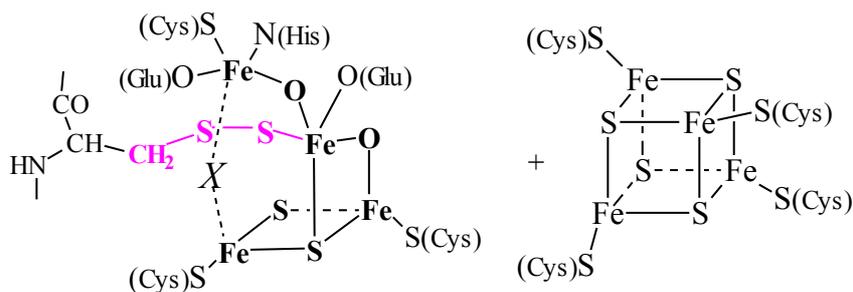
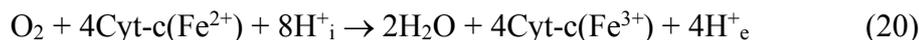


Abbildung 15. Das Elektronentransport-Zentrum des Sulfatreduzierers *Desulfovibrio vulgaris*. Der $\text{Fe}_4\text{S}_2\text{O}_2$ -Cluster (links) fungiert als 3-Elektronenakzeptor. X steht für das Substrat Sulfat. Man beachte die ungewöhnliche Alkyldisulfid-Gruppierung an einem der Fe.

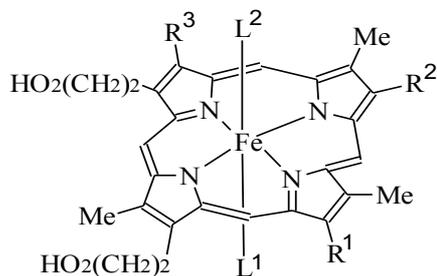
5b. Die Cytochrome

In der Atmungskette spielen die Cytochrome b, c und die Cytochrom-c-Oxidase eine Rolle. Cyt-b und Cyt-c enthalten Eisenzentren vom Häm-Typ (vergl. Abb. 16). Sie transportieren Elektronen über einen Wechsel der Oxidationsstufe des Eisens zwischen +2 und +3. Das letzte Glied der Elektronentransportkette ist die Cytochrom-c-Oxidase, welche die Reaktion



katalysiert. Hierbei wird Sauerstoff in einer 4-Elektronen-Übertragungsreaktion reduktiv protoniert und zugleich 4 Protonen über die Mitochondrienmembran von innen (H^+_{i}) nach außen (H^+_{e}) transportiert. Die Cyt-c-Oxidase enthält neben zwei Eisenzentren vom Typ Häm-A (Cyt-a und Cyt-a₃; s. Abb. 16) drei Kupferzentren. Zwei der drei Cu bilden ein zweikerniges Zentrum (Cu^{A}). In der reduzierten Form liegt das Kupfer in der mittleren Oxidationsstufe 1.5 vor, in der oxidierten Form sind beide Cu in der Stufe +II. Das dritte Kupferzentrum (Cu^{B}) kooperiert mit dem Cyt-a₃. Es wechselt zwischen Cu^{I} und Cu^{II} .

Wahrscheinlich wird der Sauerstoff durch Bindung als Peroxid zwischen Cu^{B} und Cyt-a_3 aktiviert. Die Organisation der Cyt-c-Oxidase ist in Abb. 17 gezeigt.



Cytochrom a: $\text{R}^1 = \text{Vinyl}$, $\text{R}^2 = \text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{OH}$, $\text{R}^3 = \text{Formyl}$

$\text{L}^1 = \text{L}^2 = \text{His}$

Cytochrom b: $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{Vinyl}$, $\text{R}^3 = \text{Me}$

L^1 und L^2 frei oder His

Cytochrom c: $\text{R}^1 = \text{R}^2 = -\text{CH}(\text{Me})-\text{S}-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$

$\text{R}^3 = ; \text{L}^1 = \text{His}, \text{L}^2 = \text{Met}$

Cytochrom P_{450} : $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{Vinyl}$, $\text{R}^3 = \text{Me}$

$\text{L}^1 = \text{Cys}, \text{L}^2 = \text{H}_2\text{O}$

Hb und Mb: $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{Vinyl}$, $\text{R}^3 = \text{Me}$ (Protoporphyrin IX)

$\text{L}^1 = \text{His}, \text{L}^2$ frei oder O_2

Abbildung 16. Proteine mit Häm als prosthetischer Gruppe.

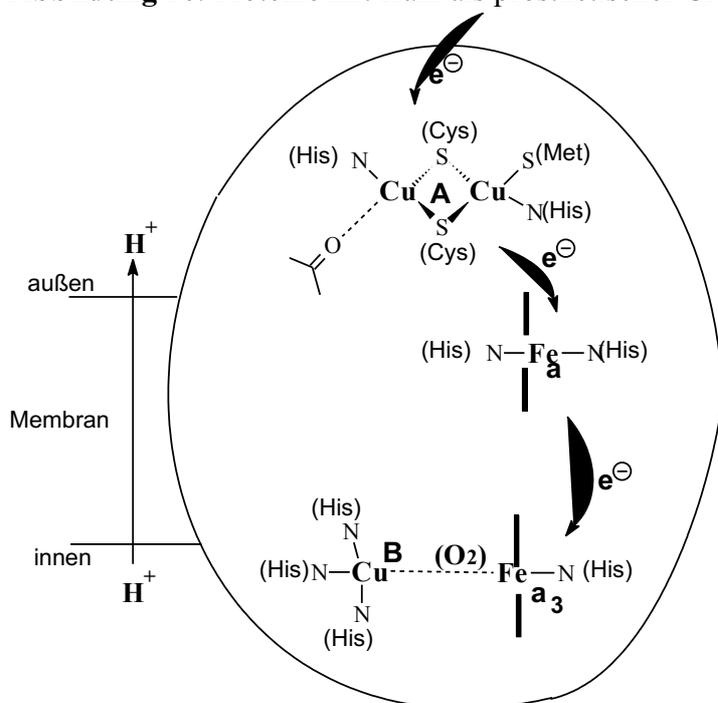


Abbildung 17. Schematische Darstellung der Cytochrom-c-Oxidase in der Mitochondrienmembran (s.a. BioAC II)

6. Cytochrom P_{450}

Dieses Cytochrom der Hämeisengruppe (zu Details vergl. Abb. 16) gehört zu den Monooxygenasen. Es katalysiert die Oxidation von Kohlenwasserstoffen zu Alkoholen; Gl. (21). Der Reaktionsablauf – unter Einbeziehung einer (hypothetischen) $\text{O}=\text{Fe}^{\text{V}}$ - oder $\bullet\text{O}-\text{Fe}^{\text{IV}}$ -Zwischenstufe am Ende des Zyklus – ist in Abb. 18 dargelegt. Der Einschub in Abb. 18 zeigt einen Komplex mit Fe^{IV} , der Reaktionen des P_{450} zu modellieren vermag (s.a. Abb. 26).



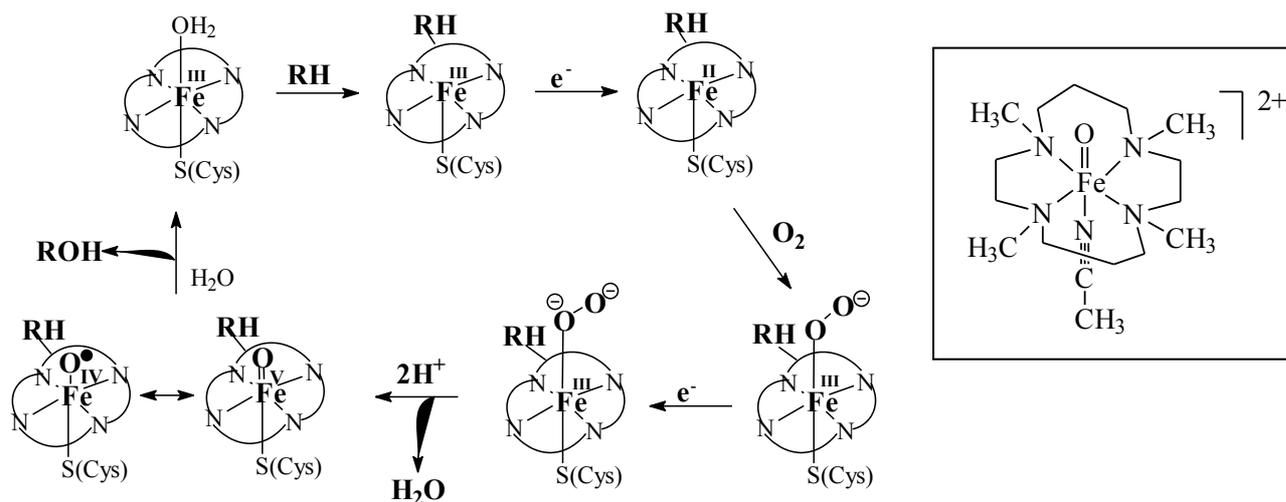
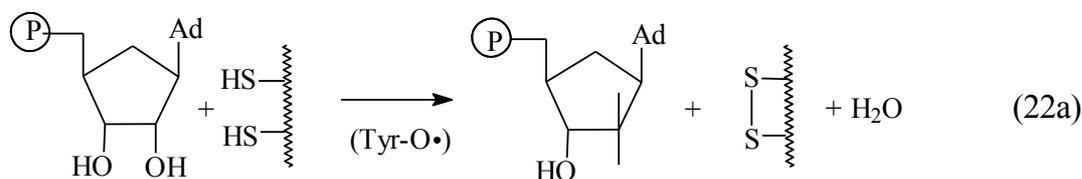


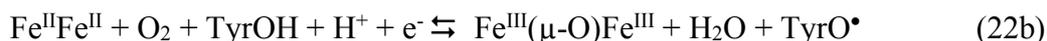
Abbildung 18. Ablauf der durch Cyt P₄₅₀ katalysierten Oxidation (Gl. (21)). RH steht für einen Kohlenwasserstoff, der in der Nähe der prosthetischen Gruppe (nicht direkt an das Eisen) gebunden wird. Die Reaktion verläuft über eine Hyperoxo- und Peroxozwischenstufe. Rechts oben ist ein Modellkomplex (mit Fe^{IV}) abgebildet. Der Ligand ist Tetramethylcyclam, das Gegenion SO₃CF₃⁻ (Triflat).

7. Zweieisen-Zentren

Das Sauerstofftransport-Protein Hämerythrin (S. 9/10) ist ein Beispiel für diese Art biologisch aktiver Verbindungen mit einem dinuklearen Eisenzentrum. Weitere Beispiele sind die Methanmonooxygenase (MMO) und Ribonukleotidreduktase (RNR). Die beiden Eisenzentren sind durch HO⁻/O²⁻ und zusätzlich durch eine oder zwei Carboxylatgruppen (aus Asp oder Glu) miteinander verbrückt. Weitere Liganden sind *N*- (His) und *O*-funktionelle (Carboxylat, Tyrosinat) Aminosäureseitenketten sowie Wasser. Das aktive Zentrum einer aus *E. coli* isolierten RNR (vier Untereinheiten: α₂β₂, α = 170, β = 87 kD) ist in Abb. 19 gezeigt. Das aktive Zentrum liegt am Interface der Untereinheiten. Die α-Untereinheit enthält Thiolgruppen, die β-Untereinheit ein Tyrosin bzw. Tyrosylradikal und das 2Fe-Zentrum. Die vom Enzym katalysierte Reaktion kann wie folgt beschrieben werden:



(Rück-Reduktion des Disulfids mit NADH)



Primärer Katalysator ist ein Tyrosylradikal, das gemäß Gl. (22b) sauerstoffabhängig durch das Zweieisenzentrum aus Tyrosin generiert wird. Das Tyrosylradikal abstrahiert ein H an der 3'-Position der Ribose (Tyr-O[•] + H → Tyr-OH). Die Rückbildung des Disulfids erfolgt durch Reduktion mittels NADPH.

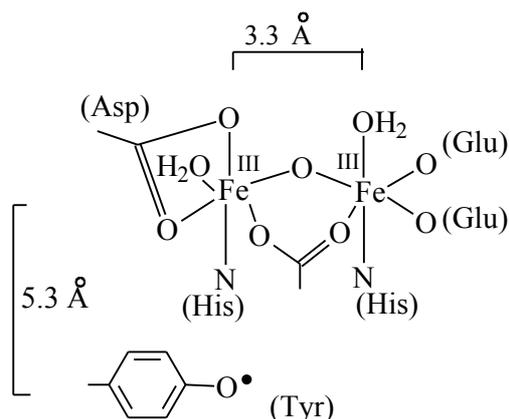


Abbildung 19: Oxidierte Form des aktiven Zentrums einer Ribonucleotidreduktase. In der Nähe des aktiven Zentrums befinden sich mehrere Cystein-Reste. In der reduzierten Form fehlt die verbrückende Oxogruppe.

Methanmonooxygenase katalysiert die folgende Reaktion:



Die aus *Methylococcus capsulatus* isolierte MMO hat eine Molmasse von 251 kD ($\alpha_2\beta_2\gamma_2$) und enthält zusätzlich noch eine Reduktase (mit [2Fe2S], FAD, FMN und NAD (M = 38.5 kD)) und ein Kopplungsprotein (M = 15.9 kD). Die Fe-Zentren durchlaufen die Oxidationsstufen II, III und IV; s. Abb. 20.

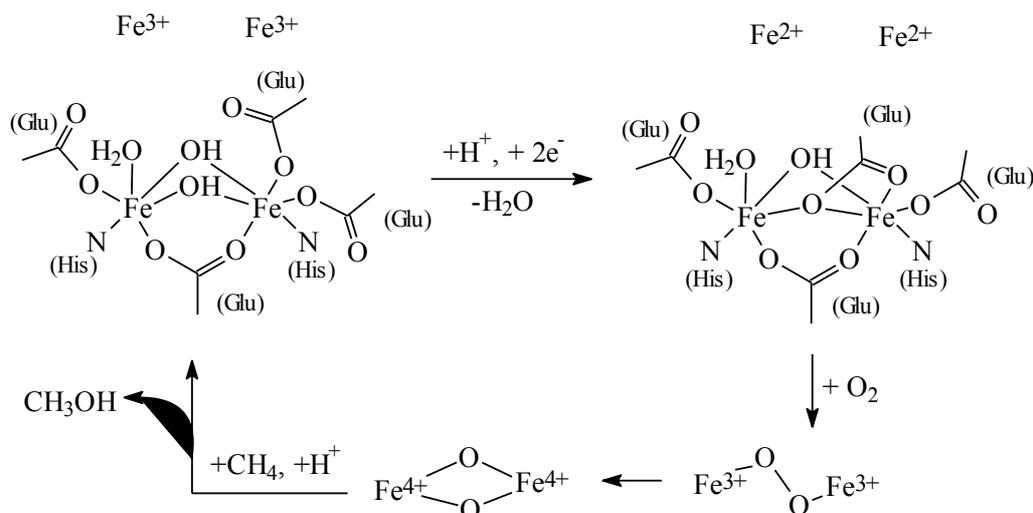


Abbildung 20. Aktives Zentrum und Funktionsweise einer Methanmonooxygenase.

8. Stickstofffixierung

8a. Der Stickstoffkreislauf

Einige wichtige Teile des globalen Stickstoffkreislaufes sind in Abb. 21 zusammengestellt. Die Fixierung des reaktionsträgen N_2 kann reduktiv erfolgen (biogene Fixierung; Bildung von NH_4^+ durch N_2 -fixierende Mikroorganismen) oder oxidativ (nicht-biogene Fixierung; Bildung von NO_x und Nitrat z.B. durch elektrische Entladungen (Gewitter),

stratosphärische Oxidation nach Aktivierung des N_2 durch kosmische Strahlung, hartes UV u. dergl. Ein erheblicher Anteil an Stickoxiden und Nitraten ist heute auch anthropogenen Ursprungs (Kfz-Verkehr, Düngung). In Form der Ammoniumionen kann der Stickstoff von Pflanzen weiterverarbeitet werden zu organische Stickstoffverbindungen. Biogene und nicht-biogene Oxidation von NH_3 führt zu Nitrat (Nitrifizierung), das durch denitrifizierende Bakterien über Nitrit, NO und Lachgas wieder biologisch zu N_2 abgebaut werden kann (vergl. die Nitratreduktase Abschnitt 9). Der nicht-oxidative Abbau organischer Stickstoff-Verbindungen führt zurück zum NH_3 . Die jährliche N_2 -Fixierung durch Mikroorganismen (freilebende N_2 -Fixierer wie *Azotobacter*, symbiontisch mit Schmetterlingsblütlern lebende N_2 -Fixierer; Cyanobakterien; Abb. 22) beträgt ca. 10^8 t Ammoniak und liegt damit in vergleichbarer Größenordnung wie die NH_3 -Produktion nach Haber-Bosch. Die Stickstoffgehalte verteilen sich wie folgt (Angaben in t): Pflanzen und Tiere: 10^{10} , Bodenorganismen: $3 \cdot 10^{11}$, Ozeane: 10^{12} , Atmosphäre: $4 \cdot 10^{15}$, Gestein: $2 \cdot 10^{17}$.

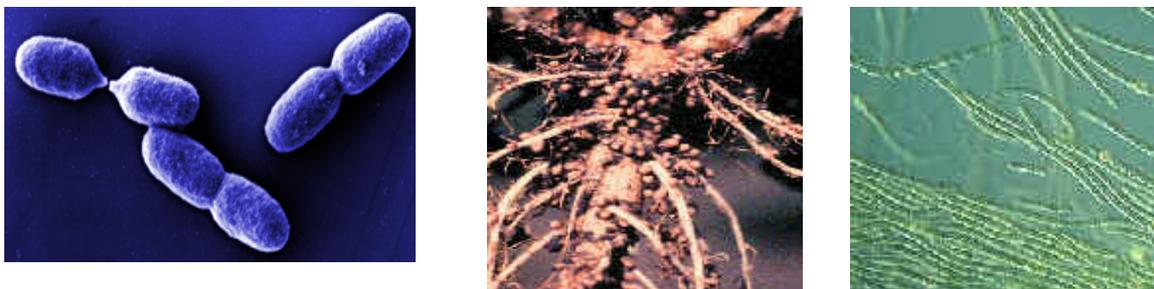
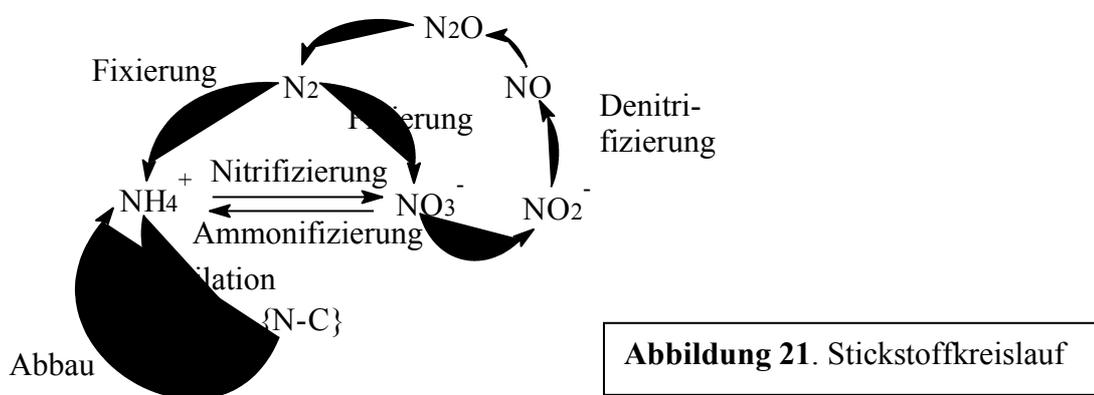


Abbildung 22. Stickstoff-fixierende Mikroorganismen. Links: *Azotobacter* (ein freilebendes Bakterium); Mitte: Knöllchenbakterien *Rhizobium* in Symbiose mit einem Schmetterlingsblütler; rechts: Cyanophyceen (Blaugrünalgen).

8b. Nitrogenasen

Nitrogenasen katalysieren die Bildung von Ammoniumionen aus Luftstickstoff [Gl. (24a, b)]; vergl. dazu die NH_3 -Produktion nach dem Haber-Bosch-Verfahren; Gl. (24c). Neben NH_4^+ wird auch H_2 gebildet, wobei die Mo-Nitrogenasen etwa 25%, die V-Nitrogenasen 50% der Reduktionsäquivalente hierfür aufwenden. Auch andere ungesättigte Substrate als N_2 werden von den Nitrogenasen reaktiv protoniert, z.B. Acetylen (zu Ethylen; Z-Isomer in Gegenwart von D_2O), Isonitril (zu primärem Amin, Methan und Ethylen). Der komplexe Aufbau der Metall-Cofaktoren der Nitrogenasen ist in Abb. 23 gezeigt. Neben den Mo- und V-Nitrogenasen ist häufig noch eine dritte, "iron-only"-Nitrogenase kodiert.

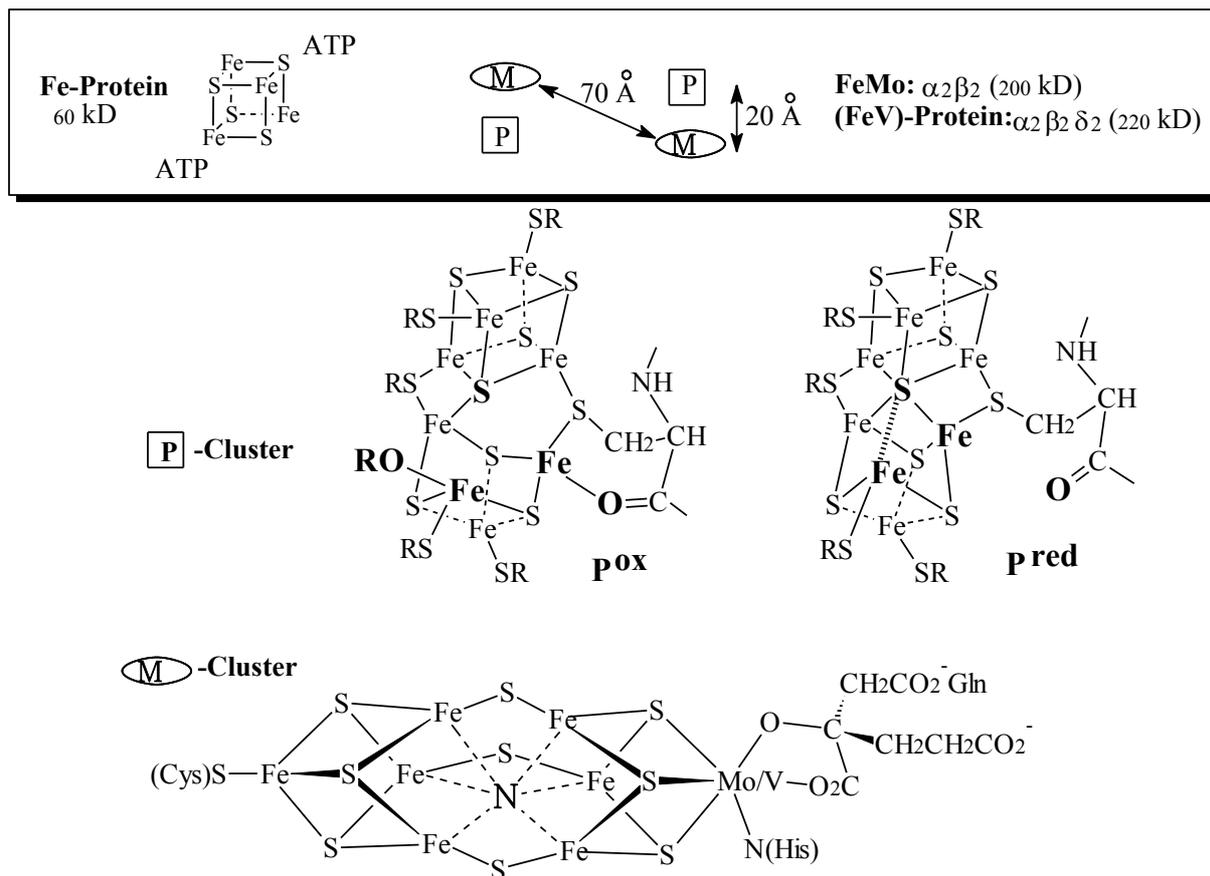
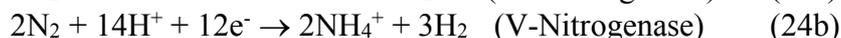


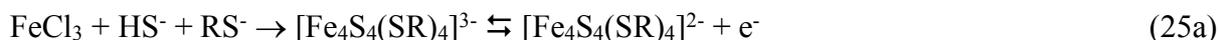
Abbildung 23. Organisation der Mo- und V-Nitrogenasen. SR = Cysteinat, OR = Serinat.



ca. 11% bei 200 bar und 500 °C, Kat.: $\alpha\text{-Fe}$ (+ Al_2O_3 , K_2O , Ca/MgO)

8c. Nitrogenasemodelle

Strukturelle Modelle des kuboidalen 4Fe-4S-Kernes entstehen durch Selbstorganisation (self-assembly) in Lösungen, die Eisenchlorid, Thiolat, Hydrogensulfid und Thiol enthalten [Gl. (25a)]. Mit Oligopeptiden sind die einzähnigen Thiolatliganden austauschbar, und man erhält Cubane, die in das Peptid eingebettet sind (**A** in Abb. 24). In Gegenwart von Thiomolybdat/vanadat sind auch Heterocubane erhältlich, d.h. solche, in denen ein Eisenzentrum durch Mo bzw. V ausgetauscht ist (**B** in Abb. 24); Gl. (25b). Auch andere Fe-Mo-S- und Fe-V-S-Cluster werden durch self-assembly gebildet; vergl. Gl. (25c) und **C** in Abb. 24.



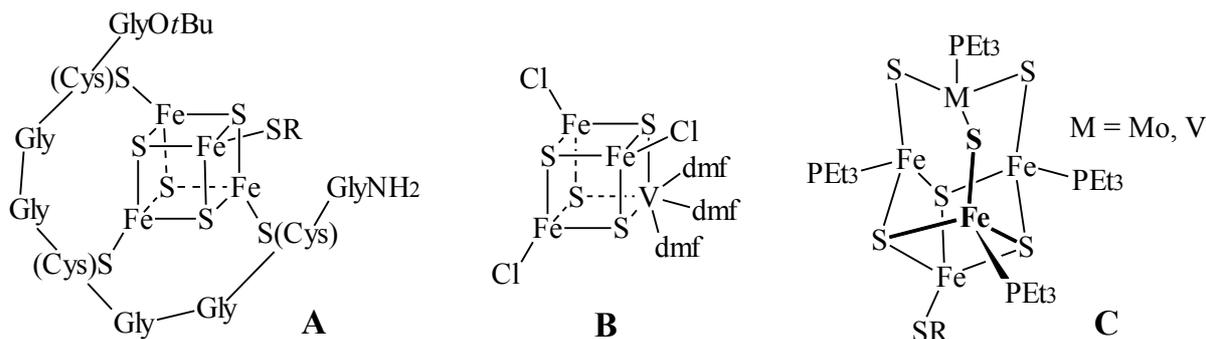


Abbildung 24. Strukturelle Modelle für die Eisen-Mo/V-Schwefelzentren in Nitrogenasen. dmf = Dimethylformamid

Der Cluster **C** hat auch den Charakter eines *funktionellen* Modells, da er die Reduktion von Hydrazin zu Ammoniak in Gegenwart der Elektronendonatoren Cobaltocen und des Protonenüberträgers 2,6-Lutidinium-Hydrochlorid zu katalysieren vermag (2,6-Lutidin = 2,6-Dimethylpyridin). Hydrazin tritt als Zwischenprodukt der Stickstofffixierung auf und kann im Falle der V-Nitrogenase als Nebenprodukt nachgewiesen werden.

Ein Modell für den P-Cluster in seiner reduzierten Form, ebenfalls durch Selbstorganisation gebildet, zeigt Abb. 25.

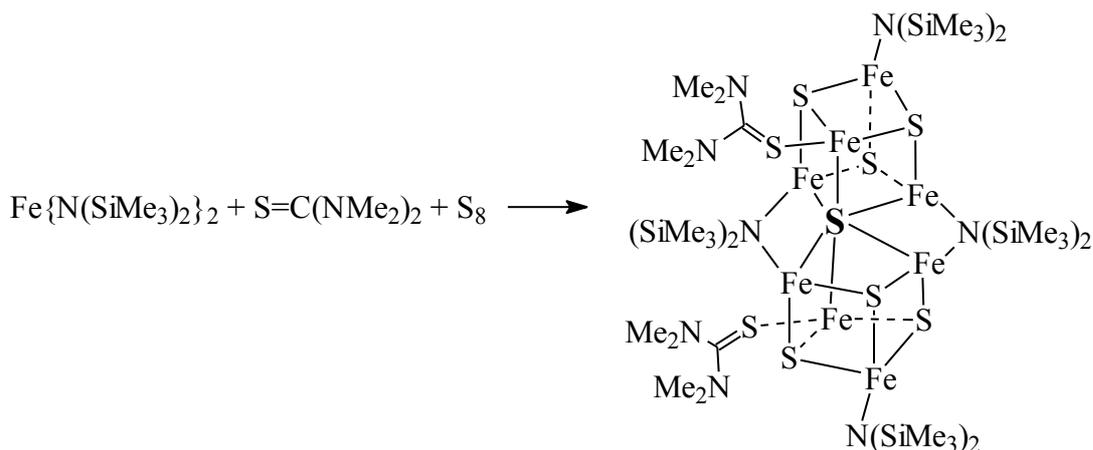
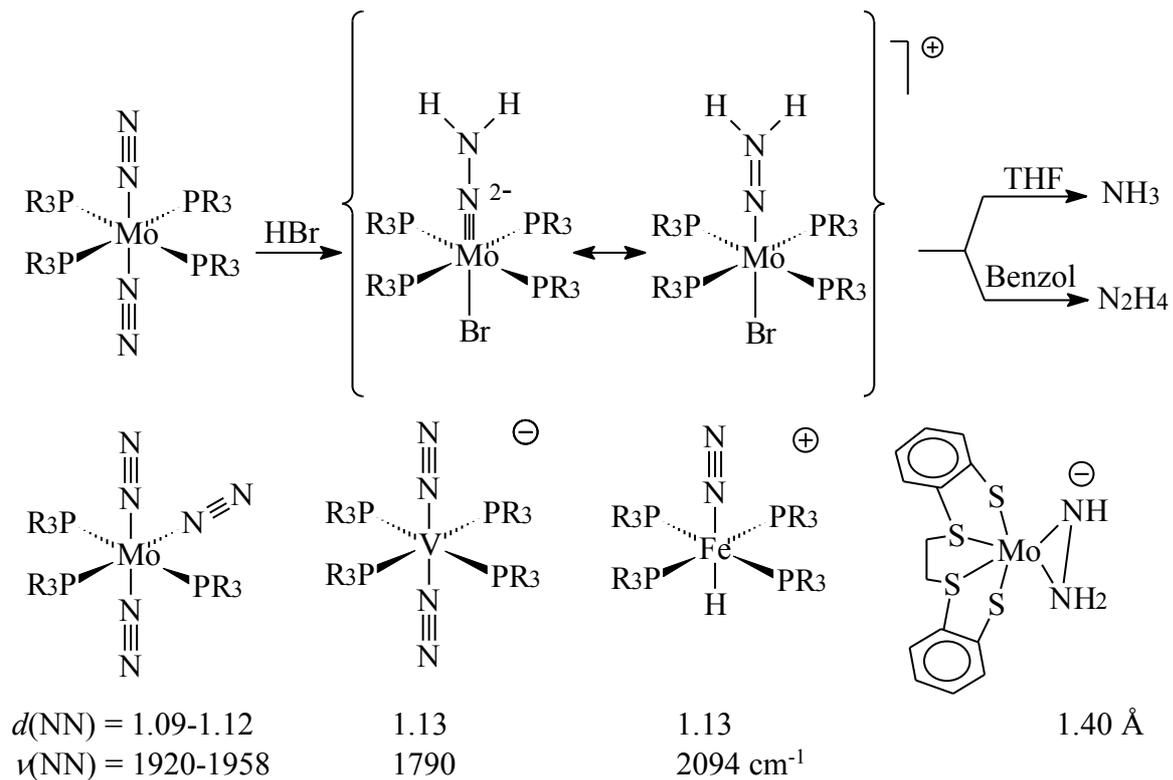


Abbildung 25. Modell für die reduzierte Form des P-Clusters. Die Verbrückung der beiden Teilcluster (Fe_4S_4 und Fe_4S_3) durch Cysteinat – vergl. Abb. 23 – übernimmt im Modell die Bis(trimethylsilyl)amid-Gruppierung. Die Abstände zwischen dem zentralen $\mu_6\text{-S}$ und den Fe-Zentren sind vergleichbar (2.41-2.52 im P-Cluster, 2.35-3.39 Å im Modell).

Als funktionelle Modelle der Nitrogenase werden Distickstoff-Komplexe des Mo und V angesehen, die nach Gl. (26) synthetisierbar sind. Mit protischen Agentien kann der Stickstoff hier zu Ammoniak und/oder Hydrazin reduziert werden, wobei die Reduktionsäquivalente durch das Metallzentrum geliefert werden. Der Ablauf dieser reduktiven Protonierung über Diazen- [bzw. Hydrazido(2-)] Zwischenstufen ist in Abb. 26 dargestellt. Abb. 26 enthält auch Bindungsparameter $d(\text{NN})$ und Wellenzahlen $\nu(\text{NN})$ einiger N_2 -Komplexe und wahrscheinlicher Zwischenstufen der N_2 -Fixierung, die zeigen, dass mit der Koordination von Stickstoff dessen Aktivierung (Schwächung der N-N-Bindung) einhergeht.

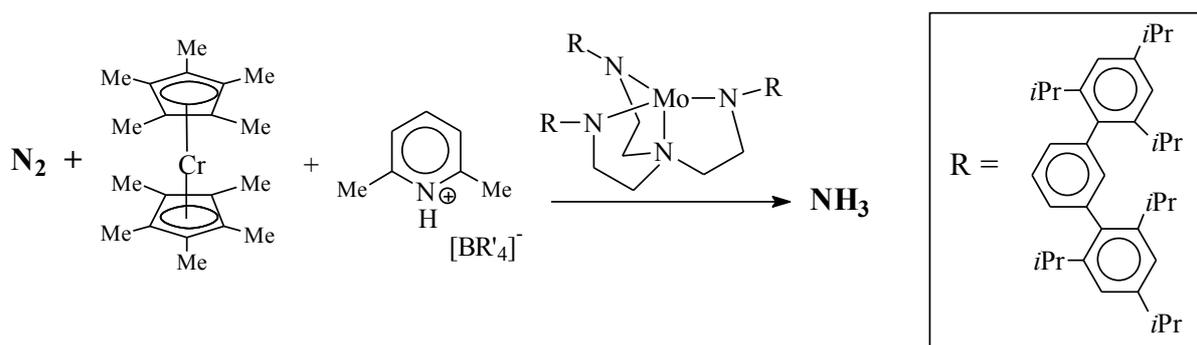




vergl. freies N_2 : $d(\text{NN}) = 1.098 \text{ \AA}$, $\nu(\text{NN}) = 2331 \text{ cm}^{-1}$; $\nu(\text{NN})$ in $[\text{Cr}(\text{CO})_5(\text{HN}=\text{NH})] = 1415 \text{ cm}^{-1}$

Abbildung 26. Funktionelle Modelle der Fe-V/Mo-Zentren in Nitrogenasen

Die unten dargestellte Modellreaktion bedient sich eines Katalysators, der ein durch die Reste R an den Aminfunktionen weitgehend abgeschirmten Mo^{III} -Zentrum enthält, an dem die Reduktion von N_2 zu NH_3 erfolgt. Elektronenlieferant ist *Bis*(pentamethylcyclopentadienyl)chrom(II), Protonenlieferant Lutidiniumborat.



9. Oxotransferproteine mit Mo, W und V

Diese Enzyme katalysieren die folgenden allgemeinen Reaktionen; Gl. (27):



Im Sinne der Gl. (27) sind die Enzyme also Oxigenasen oder Dehydrogenasen. Oxidationsmittel kann hierbei auch H_2O_2 (Peroxidasen) sein. Auch die umgekehrte Reaktion

wird katalysiert, d.h. die Enzyme wirken häufig auch (oder ausschließlich) als Reduktasen (Desoxygenasen).

Die Elemente Vanadium und Molybdän sind im Meerwasser in Form ihrer löslichen Oxoanionen gut verfügbar; sie sind die häufigsten Übergangsmetalle im Meerwasser: HVO_4^{2-} (30 nM), MoO_4^{2-} (100 nM); vergl. Eisen: 0.02–1 nM.

9a. Molybdopterin-Enzyme

Unter den drei Elementen spielt Molybdän die wichtigste Rolle. Außer in der in Kap. 8b schon behandelten Nitrogenase ist Mo das zentrale Metall in den Molybdopterin-Cofaktoren. Die Molybdopterine sind Abkömmlinge des Pterins. Der Pterinring ist partiell hydriert und enthält ein anneliertes Dihydropyran, das über ein Diphosphat mit Cytidin oder Guanosin verknüpft ist. Molybdän ist über eine Dithioleneinheit an dieses System koordiniert; vergl. Abb. 27.

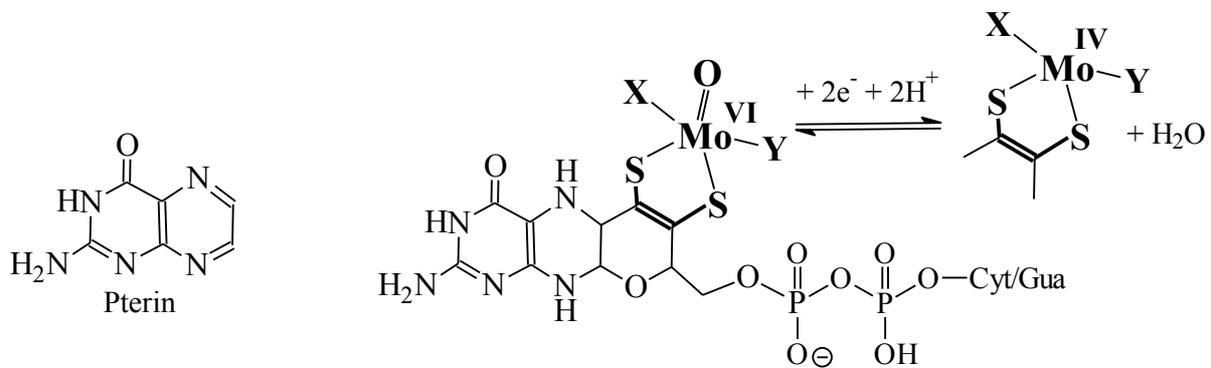


Abbildung 27. Pterin und Molybdopterin (oxidierte und reduzierte Form). Für X und Y s. Abb. 28 auf S. 23.

Man unterscheidet drei Familien von Molybdopterin-Enzymen (vergl. Abb. 28):

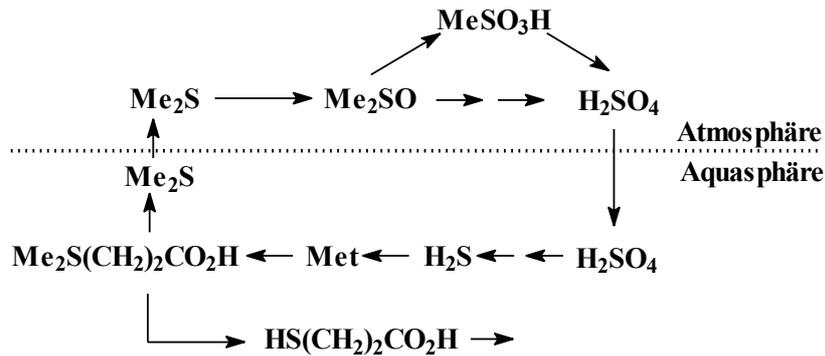
(1) DMSO-Reduktase-Familie

Hierzu gehören die DMSO-Reduktase (Gl. (28)), Formiat-Dehydrogenase (Gl. (29)) und Nitratreduktase (Gl. (30)).

Dimethylsulfoxid-Reduktase hat eine Molmasse von 85 kD. Dimethylsulfid ist für Seevögel ein Indikator für biologische Aktivität und damit potenzielle Nahrungsquellen.



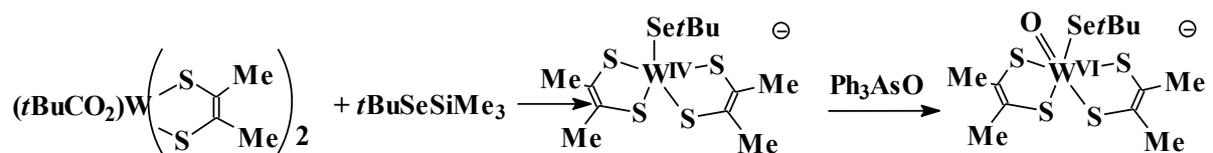
Durch Sauerstoff und andere O-Spezies kann Dimethylsulfid wieder zu DMSO oxidiert werden; unter Lichteinfluss erfolgt Oxidation bis zur Methylsulfonsäure (s.u.), die in Regenwolken als Keimbildner fungiert. Dimethylsulfid spielt eine zentrale Rolle im biologischen wie im globalen Schwefelkreislauf. Es wird durch biologische Tätigkeit aus Dimethylsulfoniopropionsäure im Meerwasser freigesetzt und gelangt als flüchtige Verbindung in die Atmosphäre. Zum Schwefelkreislauf s. das folgende Schema:



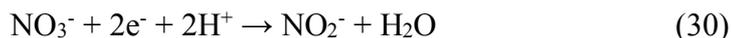
Die Formiatdehydrogenase (zur Reaktion s. Gl. (29)) enthält Selenocysteinat an das Mo-Zentrum koordiniert. In der reduzierten Form ist das Selenocystein protoniert und vom Mo^{IV} abgekoppelt. An die Stelle des Molybdäns kann – insbesondere in thermophilen Bakterien – auch Wolfram treten.



Zur Modellierung der aktiven Zentren der zur DMSO-Reduktase-Familie gehörenden Enzyme wird z.B. der Dithiolen-Ligand eingesetzt:



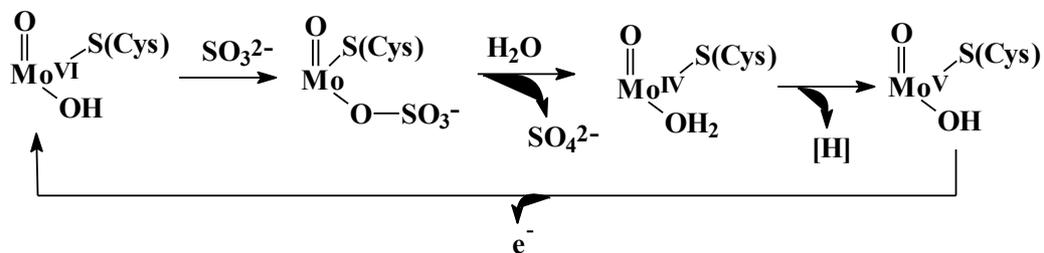
Nitratreduktase (sie leitet die Denitrifizierung ein; vergl. Abschnitt 8a und Abb. 21) besteht aus zwei Untereinheiten zu je 114 kD und enthält je Untereinheit ein Mo-Pterin, 1 Cytochrom-b und 1 FAD.



(2) Sulfitoxidase-Familie

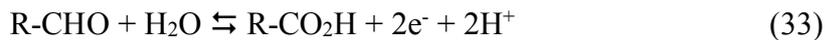
Hierzu gehört neben der Sulfitoxidase ($\text{HSO}_3^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + 3\text{H}^+ + 2\text{e}^-$) die Formylmethanofuran-Dehydrogenase; s. hierzu Abschnitt 10 (Methanogenese).

Modelluntersuchungen legen nahe, dass im Katalysezyklus ein Mo^V-Intermediat auftritt:



Mo^V-Intermediate treten wahrscheinlich auch in anderen Molybdopterin-Enzymen auf.

Die Aldehydoxidoreduktase gibt es auch in einer Wolfram-haltigen Variante.



9a. Vanadat-abhängige Haloperoxidasen

Sie kommen in marinen Algen vor (z.B. dem Knotentang, *Ascophyllum nodosum*) und einem niederen Pilz (*Curvularia inaequalis*) und katalysieren die Oxidation von Halogenid zu Unterhalogeniger Säure, die wiederum nicht-enzymatisch organische Substrate halogeniert; Gl. (34a und b). Das im Meerwasser im Tonnenmaßstab produzierte Methylbromid entstammt diesem Prozess. In Abwesenheit eines Substrats wird Singulett-Sauerstoff gebildet; Gl. (34c). Die Pilzoxidase ist ein Monomer der Molmasse 60 kD, die Algen-Peroxidasen sind Homodimere oder -octamere. Das aktive Zentrum – Vanadat koordiniert an ein Histidin – ist in Abb. 29 gezeigt, der Katalysezyklus, der ein Peroxo- und ein Hydroperoxo-Intermediat einschließt, in Abb. 30.

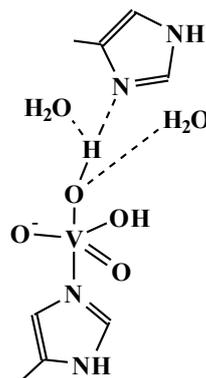
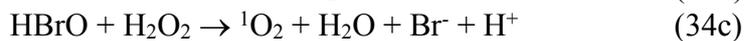
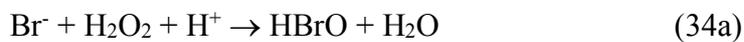


Abbildung 29. Aktives Zentrum (rechts) der Peroxidase aus dem Knotentang (*Ascophyllum nodosum*; links). Vanadium ist trigonal-bipyramidal koordiniert.

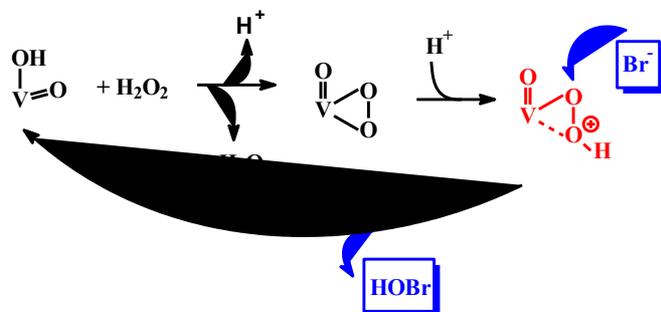
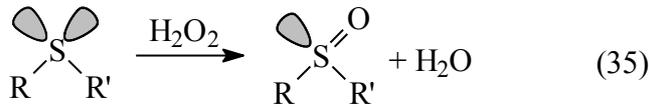


Abbildung 30. Katalysezyklus für die Bromoperoxidase-Aktivität des Enzyms aus *A. nodosum*.

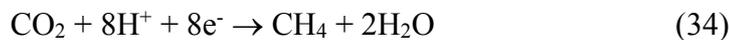
Zu den weiteren Aktivitäten der vanadatabhängigen Peroxidasen gehört die Oxidation (prochiraler) Sulfide zu (chiralen) Sulfoxiden; Gl. (35).



10. Methanogenese und Nickelenzyme

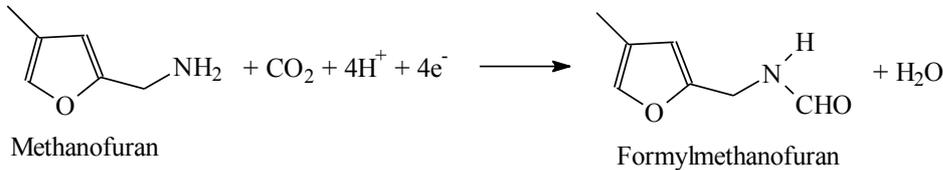
10a. Molybdän und Nickel in der Methanogenese

Die Methangärer (methanogenen Bakterien) unter den Archaeobakterien reduzieren CO_2 (und auch andere C-Quellen) zu Methan, Gl. (34), (vergl. die umgekehrte Reaktion – Steam-Reforming – zur industriellen Erzeugung von Wasserstoff).

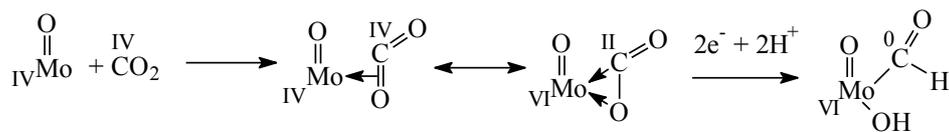


Im Einzelnen laufen die folgenden Schritte ab:

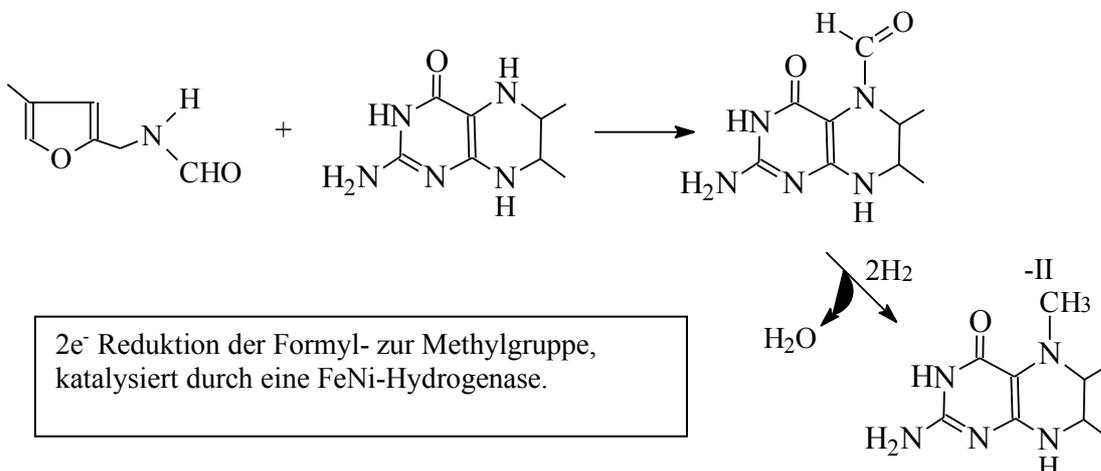
- (1) Reduktive Fixierung von CO_2 durch Methanofuran (eine 2e-Reduktion), katalysiert durch Formylmethanofuran-Dehydrogenase; s. das folgende Schema. Deren Cofaktoren sind ein Eisen-Schwefelprotein und (ein zur Sulfitoxidase-Familie gehörendes) Molybdopterin (vergl. Abb. 28):



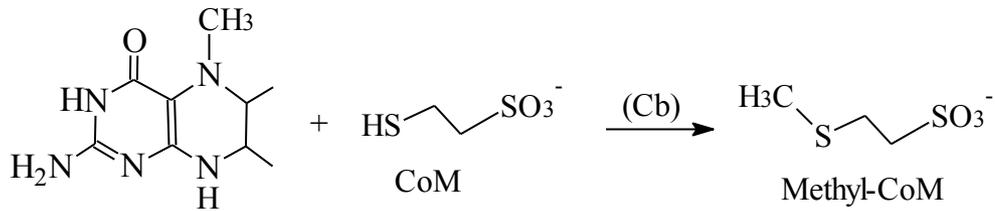
katalysiert durch Molybdopterin:



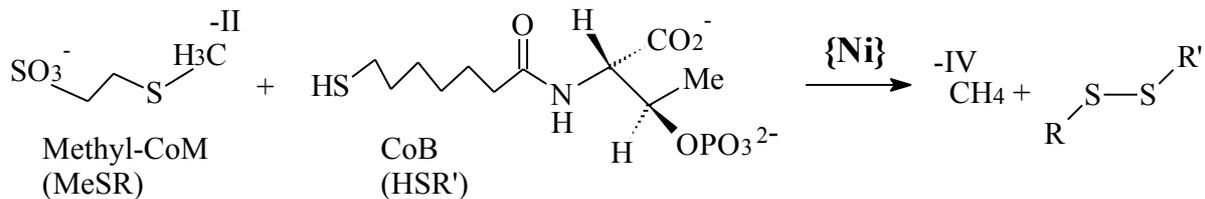
- (2) Übertragung der Formylgruppe auf Tetrahydropterin:



- (4) Übertragung der Methylgruppe auf Coenzym-M (CoM = Mercapto-Ethansulfonsäure; dieser Transfer verläuft über Methylcobalamin, Cb, als Zwischenstufe. Zum Cobalamin vergl. Bioanorg. Chemie II):



- (5) Bildung von Methan durch die Reaktion zwischen Methyl-CoM und Coenzym-B (CoB = 7-Mercaptoheptanoyl-threoninphosphat). CoM und CoB werden dabei oxidativ zum Disulfid verknüpft:



Diese Reaktion wird katalysiert durch die Methyl-CoM-Reduktase, einem Enzym der Molmasse 300 000 kD, das 2 Cofaktoren (Faktor F₄₃₀, {Ni}, Abb. 31) enthält. Eine der axialen Positionen im F₄₃₀ ist durch ein O von Glutamin (Gln) besetzt; in der freien axialen Position liegt das CoM, das im Turnover über den Thiolatschwefel oder die Sulfonsäuregruppierung koordinieren kann. Das Nickel des Faktors F₄₃₀ liegt in der Oxidationsstufe +I vor; durch Übertragung der Methylgruppe läuft es durch die Oxidationsstufe +III und wird dann durch CoM/CoB wieder reduziert.

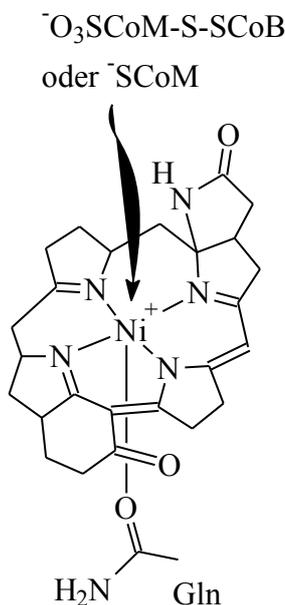
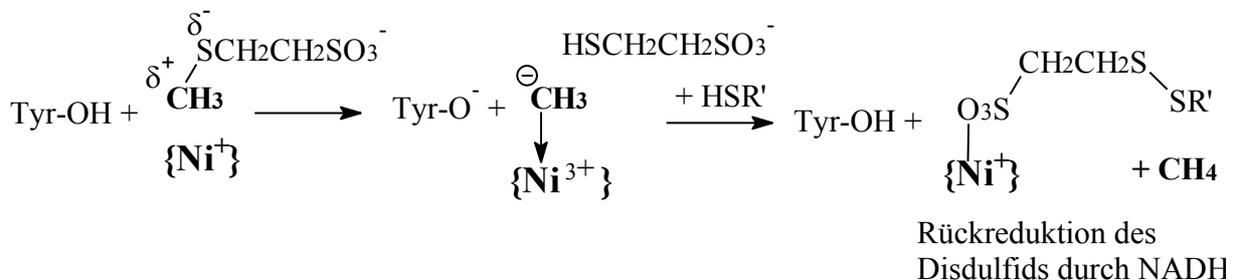
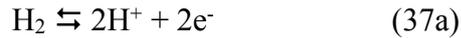
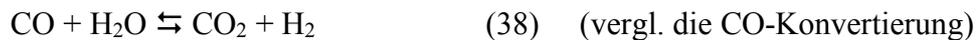


Abbildung 31: Faktor F₄₃₀ (ohne Substituenten am Liganden) der Methyl-Coenzym-M-Reduktase



Die Reaktion (37a) verläuft über eine heterolytische Spaltung des H_2 ($\text{H}_2 \rightarrow \text{H}^+ + \text{H}^- \rightarrow 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$); der Beweis hierfür ist die Reaktion in Gl. (37b). Die Elektronen verwenden die Organismen zur Reduktion diverser Substrate wie O_2 , CO_2 (s.a. Methanogenese), Sulfat. In den Ni-haltigen Hydrogenasen ist die Koordinationssphäre am Ni überwiegend von Cysteinat besetzt (Abb. 34).

Ni-Hydrogenasen haben zusätzlich auch die Funktion einer CO-Oxidoreduktase („CO-Dehydrogenase“), Gl. (38), und einer Acetyl-Coenzym-A-Synthese, Gl. (39):



Reaktion (39) entspricht einer migratorischen CO-Insertion. Derartige Insertionen sind aus der Organometallchemie wohl bekannt und können mit Modellkomplexen der in Abb. 33 gezeigten Art nachgestellt werden:

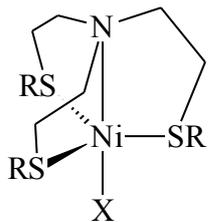
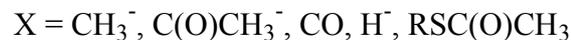


Abbildung 33. Modell für Ni-Hydrogenasen/ CO-Dehydrogenasen/ AcetylCoA-Synthese



Strukturell charakterisierte Fe-Ni-Hydrogenasen aus Schwefelbakterien haben die in Abb. 34 skizzierte Zusammensetzung. Die drei Eisen-Schwefel-Cluster bilden eine Elektronentransportkette; das eigentliche Reaktionszentrum ist das heterodinukleare Fe-Ni-Zentrum, in dem Fe und Ni Cysteinat-verbrückt sind. Ni ist fünffach koordiniert (4 Cys und eine apikale OH-Gruppe); das Fe ist gleichfalls fünffach koordiniert (2 Cys, 2 CN und ein CO). Eine weitere Besonderheit ist die Koordination eines His an eines der Ferredoxine.

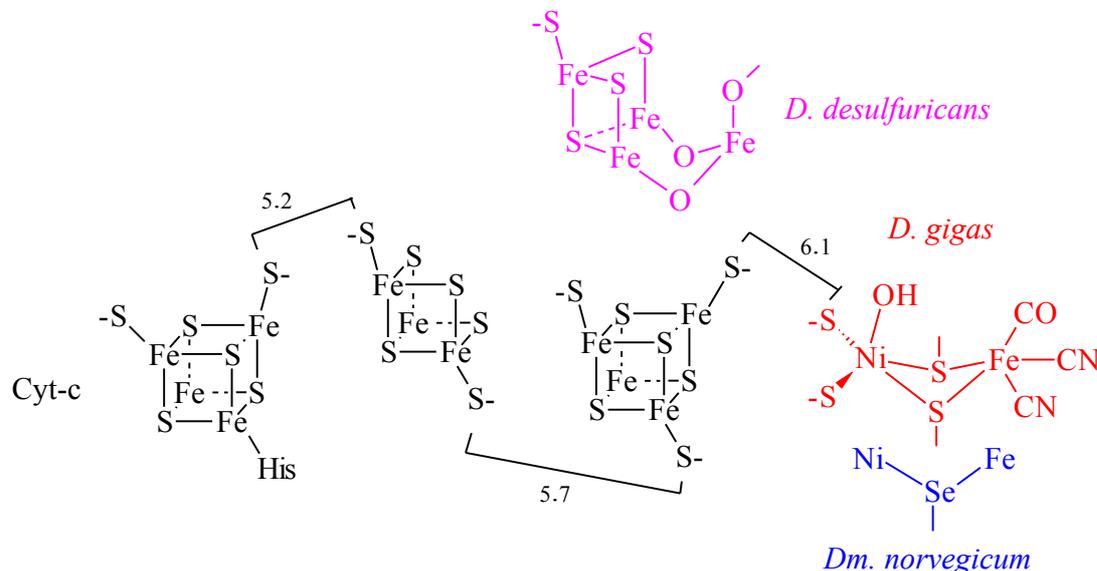


Abbildung 34. Die Eisen-Nickel-Hydrogenase aus *Desulfuvibrio gigas* bzw. *D. desulfuricans*. In *Desulfomicrobium norvegicum* ist eines der verbrückenden Cysteinate durch Selenocysteinat ausgetauscht.

Die Acetylcoenzym-A-Synthase aus dem Bakterium *Moorella thermoacetica* (im Verdauungstrakt vieler Tiere) enthält zwei Ni- und ein $4\text{Fe}_4\text{S}$ -Zentrum. Ein zentrales Ni verbrückt eines der Fe mit einem terminalen Ni über insgesamt drei Cysteinatreste. Im ersten Schritt des Katalysezyklus wird CO (durch Reduktion von CO_2) an das zentrale Ni koordiniert. Im weiteren Verlauf überträgt Methylcobalamin eine Methylgruppe auf das terminale Ni. Schließlich kommt es zu einer CO-Insertion unter Bildung der Acetylgruppe, die an Coenzym-A übertragen wird; Abb. 35.

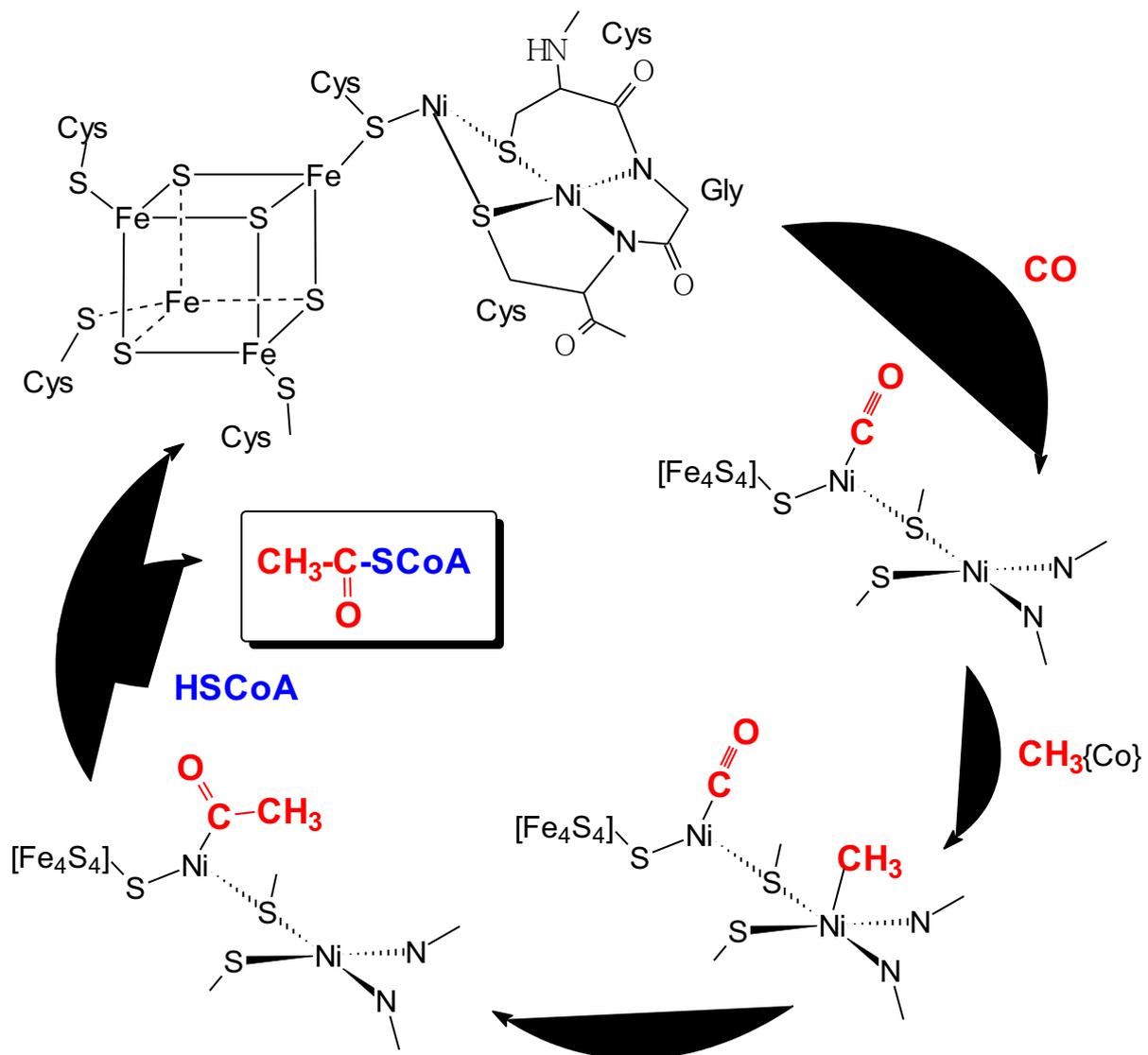


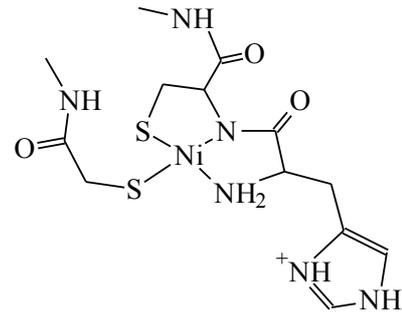
Abbildung 35. Die Fe-Ni₂ Acetyl-Coenzym-A-Synthase aus *M. thermoacetica* und ein möglicher Ablauf der Katalyse. $\text{CH}_3\{\text{Co}\}$ = Methylcobalamin.

10d. Nickel-Superoxiddismutase

Sie katalysiert die Disproportionierung von Hydroperoxid: $2\text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$.

Zum aktiven Zentrum s. das nebenstehende Bild. Im Einzelnen laufen die folgenden Reaktionsschritte ab:

- (1) $\text{Ni}^{2+}(\text{HisH}^+) + \text{O}_2^- \rightarrow \text{O}_2^-\text{-Ni}^{2+}(\text{HisH}^+)$
- (2) $\text{O}_2^-\text{-Ni}^{2+}(\text{HisH}^+) + \text{Tyr-OH} \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Ni}^{3+}(\text{His}) + \text{Tyr-O}^-$
- (3) $\text{Ni}^{3+}(\text{His}) + \text{O}_2^- \rightarrow \text{O}_2^-\text{-Ni}^{3+}(\text{His})$
- (4) $\text{O}_2^-\text{-Ni}^{3+}(\text{His}) + \text{H}^+ \rightarrow \text{Ni}^{2+}(\text{HisH}^+) + \text{O}_2$

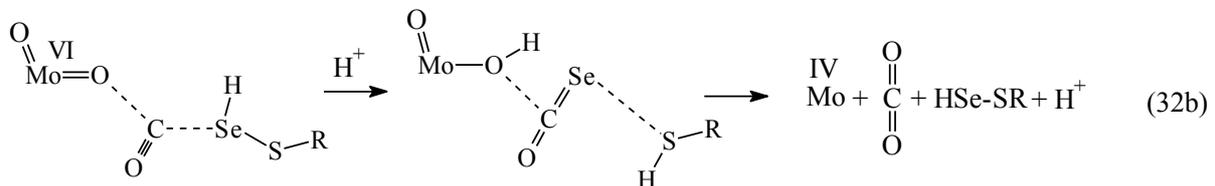


11. Biogene M-C-Bindungen

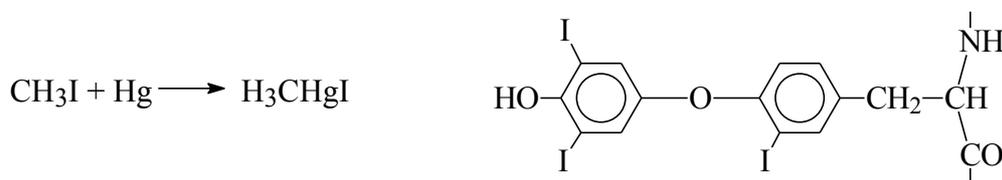
Im Folgenden werden einige Beispiele für $\text{M} = \text{S}, \text{Se}, \text{I}, \text{As}, \text{Co}, \text{Ni}, \text{Fe}, \text{Mo}, \text{V}, \text{Cd}$ und Hg angesprochen. Zum Cd und Hg s. a. Kap. 6. in BioAC II; zum Ni, Fe und Mo die ausführlicheren Darstellungen weiter oben.

- (1) **Se-C:** Selenocystein, $\text{HSe-CH}_2\text{-CH}(\text{NH}_3^+)\text{CO}_2^-$; spielt im aktiven Zentrum der Glutathionperoxidase, der Iodthyroxin-Deiodinase (Thyroxin $\text{T}_4 \rightarrow \text{Thyroxin T}_3$, s. (2)) und in einer Ni -haltigen Hydrogenase eine Rolle. (s.a. Metabolismus von Selenit unter (3)).

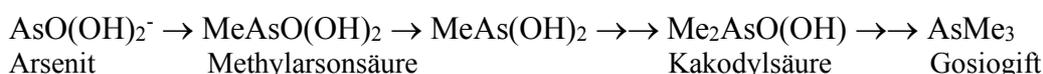
Rolle von Selenylcystein in der durch ein Molybdopterin katalysierten CO -Dehydrogenase-Reaktion:



- (2) **I-C:** Methyljodid, 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. Thyroxin T_3 (s. Formel) eine Rolle.



- (3) **S-C:** Adenosylmethionin (Abb. 36, A); wirkt als Methylierungsmittel (CH_3^+ -Transfer) z.B. im Metabolismus von Arsenit und Selenit:



$\text{SeO}_2(\text{OH})^- \rightarrow \text{Me}_2\text{SeO}$ und Me_2Se (weitere Metaboliten: Me_3SeCl , Se)

Selenit Dimethylselenon und Dimethylselan

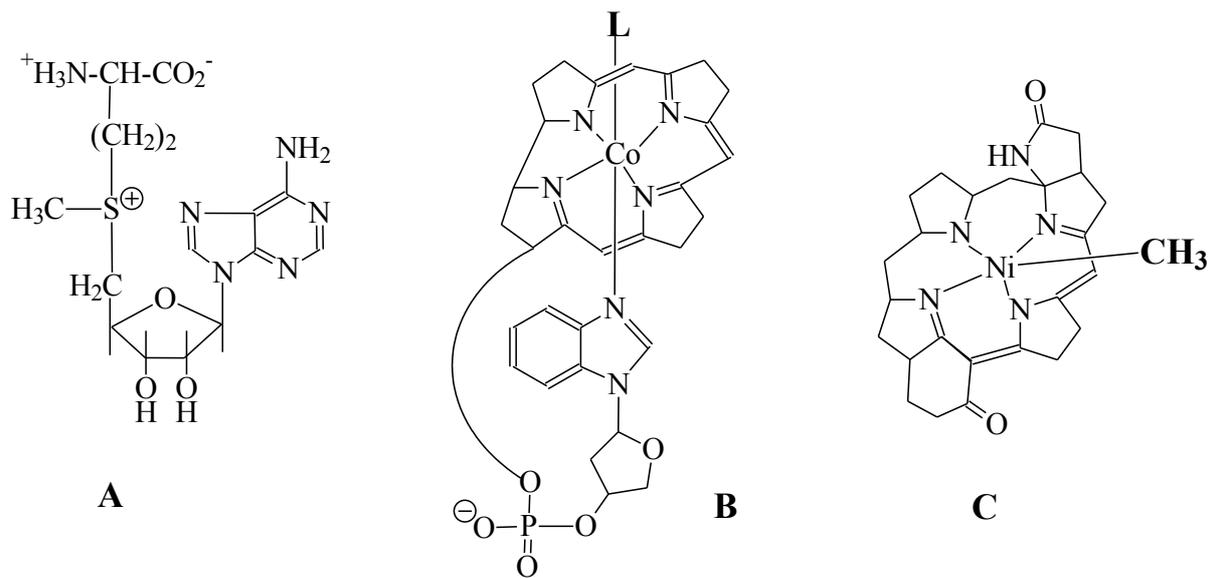
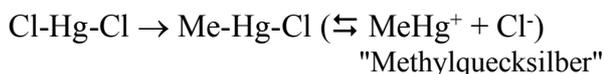


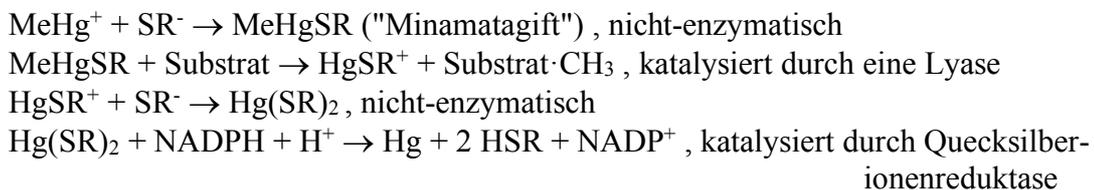
Abbildung 36. **A:** Adenosylmethionin; **B:** Cobalamin (L = CN: Cyanocobalamin, L = Me: Methylcobalamin, M = 5'-Adenosyl (vergl. **A**): Adenosylcobalamin); **C:** Methylierter Faktor F₄₃₀ aus dem Enzym Methyl-Coenzym-M-Reduktase.

(4) Co-C: Methyl-, Adenosyl-, Cyanocobalamin ("Vitamin B₁₂"); s. Abb. 36, **B**.

Adenosylcobalamin katalysiert insbesondere Isomerisierungen (1,2-Verschiebungen), Methylcobalamin die Übertragung von C₁-Fragmenten. Auch anorganischer Quecksilberverbindungen werden methyliert (CH₃⁻-Transfer):

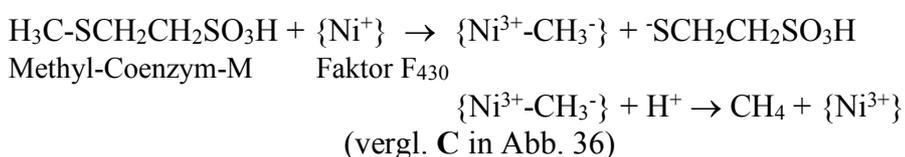


Die weitere Metabolisierung des Quecksilbers verläuft über mehrere enzymatische und nicht-enzymatische Stufen, deren letzte - die nur in spezialisierten Bakterien beobachtete Bildung von Hg - als Entgiftung interpretiert wird:

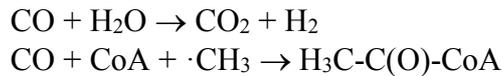


(5) Ni-C: Faktor F₄₃₀ der Methyl-Coenzym-M-Reduktase

Dieses Enzym katalysiert den letzten Schritt der Methanogenese durch methanogene Bakterien (z.B. $1/6 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{CH}_4$; auch CO₂ kann Kohlenstoffquelle sein):



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

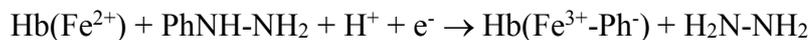


Die Aktivierung von CO erfolgt durch Koordination an Ni oder Fe. Es gibt auch eine Ni-Fe CO-Dehydrogenase, die auch im Ruhezustand bereits CO (sowie CN⁻) an das Eisenzentrum koordiniert enthält.

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.

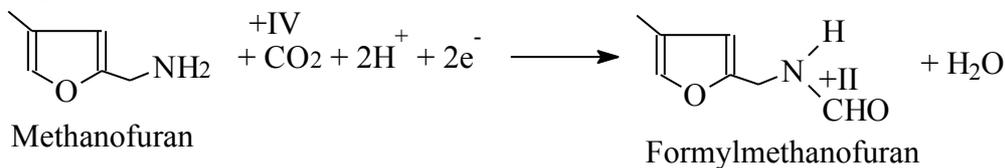
Zu den aktiven Zentren s. Abb. 35.

(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 O₂-Transportfunktion inhibiert wird:

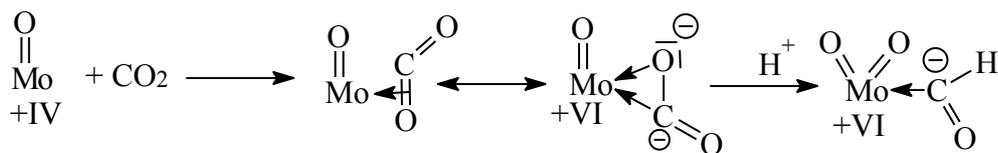


Fe-CO: Blockierung des Hämoglobins durch Kohlenmonoxid (bindet ca. 270 mal effizienter als Sauerstoff.)

(8) **Mo-C**: Aktivierung von CO₂ durch den Molybdopterin-Cofaktor in der Formylmethanofuran-Dehydrogenase (1. Schritt der von CO₂ ausgehenden Methanogenese; vergl. (5)).



katalysiert durch Molybdopterin:



(9) **Mo-C und V-C**: Vergl. die Alkinreduktase- Isonitrilreduktase- und Isonitril-Ligase-Aktivität der Mo- und V-Nitrogenasen: Die reduktive Protonierung von Acetylen zu Z-Ethylen (in Gegenwart von D₂O) 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 entsteht hier als C-C-Kupplungsprodukt auch Ethen.

