

Enzymmechanismen

Katalyse durch Rezyklisierung von Radikalen oder Elektronen

Wolfgang Buckel*

Coenzyme · Enzymkatalyse · Radikale · Radikalenzyme · Synthesemethoden

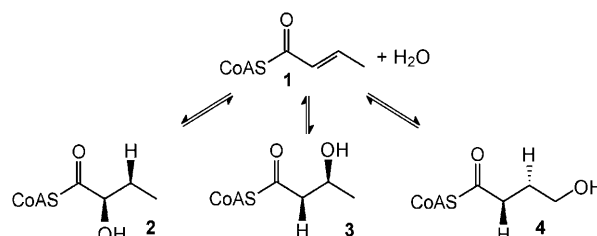
Zurzeit werden immer mehr Enzyme entdeckt, die entweder selbst Radikale enthalten oder Reaktionen mit radikalischen Intermediaten katalysieren. Diese Radikalenzyme machen Reaktionswege möglich, die in Zweielektronenschritten nicht begehbar sind. Kürzlich begannen Organiker, Radikale für präparative Zwecke anzuwenden, in denen ein durch Licht angeregtes Elektron katalytisch aktiv ist und nach jedem Umsatz wiederverwendet wird. Dieser Kurzaufsatz vergleicht diese neuen Synthesemethoden mit Enzymmechanismen, die auf der Rezyklisierung eines Radikals oder Elektrons als Cofaktor beruhen.

1. Einführung

Leonor Michaelis, der zusammen mit Maud Menten die berühmte Michaelis-Menten-Gleichung in die Enzymologie einführte, postulierte 1939, dass viele enzymatische Reaktionen als Einelektronenübergänge zu betrachten sind.^[1] Diese Feststellung, die sich im Wesentlichen auf Redoxreaktionen bezog, wurde in der zweiten Hälfte des zwanzigsten Jahrhunderts durch die aufkommende Enzymologie infrage gestellt. Man war der Meinung, dass keine Reaktion, die man mit Zweielektronenschritten formulieren konnte, über Radikale verlief. Heutzutage wird nun eine zunehmende Zahl von Enzymen entdeckt, die entweder selbst Radikale enthalten oder radikalische Zwischenstufen stabilisieren können. Diese Radikalenzyme nutzen die aktivierungsfreie Reaktivität der Radikale und „zähmen“ diese durch spezifische Bindung ans Protein, um die Entstehung „freier Radikale“ zu vermeiden, die das Protein oder sogar die ganze Zelle schädigen könnten^[2,3] (vgl. Lit. [4]). Zwar bedeutet die Bildung von Radikalen für die Zelle oft einen hohen energetischen

und mechanistischen Aufwand, allerdings ermöglichen Radikale neue Reaktionswege, die mit Zweielektronenschritten nicht begangen werden können. Ein Beispiel ist die reversible Hydratisierung von Crotonyl-CoA [1,

Coenzym-A-Thioester der (*E*)-2-Butensäure; Schema 1]. Das „normale“ Zweielektronenprodukt ist (*S*)-3-Hydroxybutyryl-CoA (3), während Reaktionen über Ketylradikale zu (*R*)-2-Hydroxybutyryl-CoA (2)^[5] oder 4-Hydroxybutyryl-CoA (4) führen.^[6]



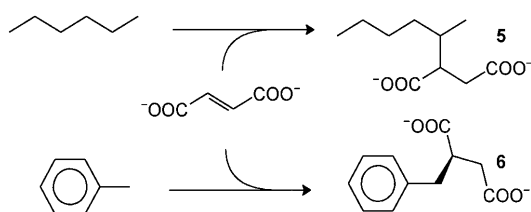
Schema 1. Radikale ermöglichen neue Reaktionswege.

Es stellt sich nun die Frage, warum solche Radikalreaktionen in der organischen Chemie nur selten angewendet werden. Erst kürzlich erschienen zwei Publikationen, die den erfolgreichen Einsatz von reduktiv gebildeten Ketylradikalen beschreiben.^[7,8] Der vorliegende Aufsatz will nun zeigen, dass einige biologische Radikalreaktionen dem gleichen Prinzip gehorchen wie diese neuen Syntheseansätze. Es ist die Rezyklisierung eines Elektrons, die eine Katalyse in Ein- oder Zweielektronenschritten ermöglicht. In Abschnitt 2 soll jedoch zunächst zusammenfassend auf diejenigen biologischen Radikalreaktionen eingegangen werden, bei denen nicht das Elektron allein, sondern das Radikal selbst rezykliert wird.

[*] Prof. Dr. W. Buckel
Laboratorium für Mikrobiologie, Fachbereich Biologie
Philipps-Universität
35032 Marburg (Deutschland)
und
Max-Planck-Institut für terrestrische Mikrobiologie
Marburg (Deutschland)
Fax: (+49) 6421-282-8978
E-Mail: buckel@staff.uni-marburg.de
Homepage: <http://www.uni-marburg.de/fb17/fachgebiete/mikrobio/mikrobiocchem>

2. Rezyklisierung von Radikalen durch Enzyme

Die Mehrheit der Radikalenzyme katalysiert die Homolyse von nichtaktivierten C-H-Bindungen, die weniger Energie erfordert als die Abspaltung eines Protons oder Hydrids. Unter aeroben Bedingungen ist die reaktive Spezies, die die Kohlenwasserstoffe irreversibel funktionalisiert, meist ein Derivat des molekularen Sauerstoffs. Allerdings wird die Beteiligung von Radikalen an diesen Prozessen kontrovers diskutiert.^[9,10] Unter anaeroben Bedingungen gibt es verschiedene alternative Wege zum Abbau von Kohlenwasserstoffen. Ein kürzlich isoliertes bakterielles Konsortium oxidiert Methan statt mit Sauerstoff wahrscheinlich mit dem durch Reduktion von Nitrit gebildeten N_2O ,^[11] dieser Prozess dürfte auch in die chemische Industrie Eingang finden.^[12] Die Oxidation von Methan mit Sulfat zu CO_2 und H_2S in Meeresedimenten und in der anaeroben Zone des Schwarzen Meeres erfordert vermutlich zwei Organismen in syntropher („zusammen fressender“) Lebensweise: ein Archaeon, das die Oxidation von CH_4 zu CO_2 und 4H_2 über die reverse Methanogenese katalysiert (siehe Abschnitt 3), sowie ein Bakterium, das unter Verbrauch von vier H_2 -Molekülen Sulfat zu H_2S reduziert.^[13] Kohlenwasserstoffe mit mehr als einem C-Atom werden häufig succinyliert, um die folgende β -Oxidation zu Acetyl-CoA und Propionyl-CoA zu ermöglichen.^[14] Dies führt zu sehr charakteristischen Intermediaten, z. B. 2-(1-Methylpentyl)succinat (**5**)^[15] oder (*R*)-Benzylsuccinat (**6**; Schema 2).^[14,16–18] Eine Ausnahme ist Ethylbenzol, das je nach Organismus entweder zu 2-Methyl-2-benzylsuccinat succinyliert^[19] oder zu (*S*)-1-Phenylethanol hydroxyliert wird. In diesem Fall kommt der Sauerstoff unter Katalyse eines Molybdopterin enthaltenden Enzyms aus dem Wasser.^[20]

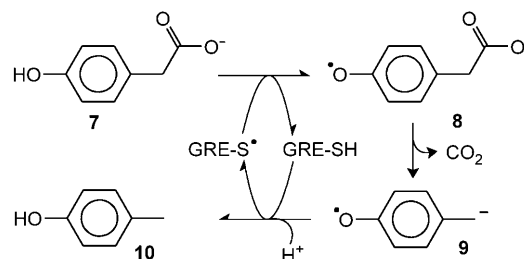


Schema 2. Der erste Schritt eines verbreiteten Wegs des anaeroben Kohlenwasserstoffabbaus, der von Glycylradikalenzymen (GRE) katalysiert wird.



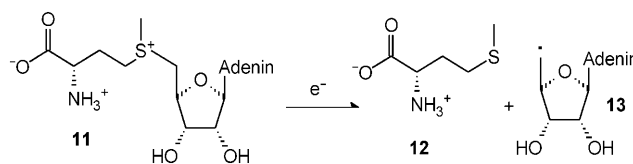
Wolfgang Buckel studierte Chemie an der LMU München (Diplom 1965) und promovierte 1968 in Biochemie bei F. Lynen und H. Eggerer. Er war Postdoktorand an der UC Berkeley bei H. A. Barker (1970–1971) und akademischer Rat an der Universität Regensburg; Habilitation 1975. Von 1987 bis 2008 hatte er eine Professur für Mikrobiologie an der Philipps-Universität Marburg inne. Nach seiner Pensionierung wurde er Fellow der Max-Planck-Gesellschaft. Sein Forschungsinteresse gilt Mechanismen von Enzymen aus anaeroben Bakterien.

Die Alkyl- und Benzylsuccinat-Synthasen (Schema 2) gehören zu einer Enzymfamilie, die im Ruhezustand ein stabiles Glycylradikal (GRE, Glycylradikalenzym) enthalten. Während der Katalyse wird das Radikal auf einen Cysteinrest unter Bildung eines Thiylradikals (GRE-S \cdot ; siehe auch Schema 3) übertragen, das ein H-Atom vom Substrat entfernt. Addition von Fumarat an das gebildete Substratradikal liefert das Produktadikal (**5 \cdot** oder **6 \cdot**), das abschließend das Thiylradikal regeneriert. Die prominentesten Mitglieder dieser äußerst sauerstoffempfindlichen Enzymfamilie sind die Pyruvat-Formiat-Lyase^[21] und die Ribonucleotid-Reduktase,^[22] die von *Escherichia coli* und einigen anderen Bakterien nur unter strikt anaeroben Bedingungen produziert werden. Weitere Mitglieder sind die Coenzym-B₁₂-unabhängige Glycerin-Dehydratase^[23] (siehe Schema 7) und die *p*-Hydroxyphenylacetat-Decarboxylase aus *Clostridium difficile*,^[24] die die Bildung von 3-Hydroxypropanal und *p*-Kresol katalysieren.^[25] Im Fall von *p*-Hydroxyphenylacetat (**7**; Schema 3) entsteht sehr wahrscheinlich zunächst das Phenoxyradikal **8**, das zum resonanzstabilisierten *p*-Kresylradikalanion **9** decarboxyliert. Protonierung von **9** und Regenerierung des Thiylradikals liefern *p*-Kresol (**10**).^[26]



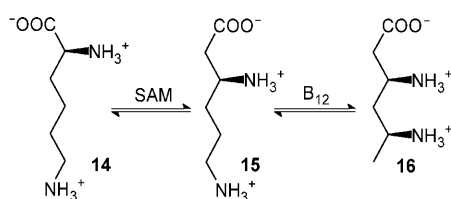
Schema 3. Vorgeschlagener Mechanismus der Decarboxylierung von *p*-Hydroxyphenylacetat (**7**) zu *p*-Kresol (**10**), die von einem Glycylradikalenzym (GRE-S \cdot) katalysiert wird.

Die Bakterienzelle synthetisiert Glycylradikalenzyme als inaktive Proenzyme, die durch die so genannten SAM-Radikalenzyme aktiviert werden. Diese Aktivasen benötigen ein starkes Reduktionsmittel wie Ferredoxin oder Flavodoxin, um das an einen [4Fe-4S]-Cluster gebundene *S*-Adenosylmethionin (**11**, SAM; Schema 4) zu Methionin (**12**) und zur ersten reaktiven Spezies, dem 5'-Desoxyadenosylradikal (**13**) zu spalten. Dieses Radikal abstrahiert vom konservierten Glycinrest des Proenzyms irreversibel ein H-Atom, um den Ruhezustand des aktiven Enzyms zu bilden.^[27,28] Addition des spezifischen Substrats, z. B. Pyruvat an Pyruvat-Formiat-Lyase, veranlasst das Glycinradikal, aus dem konservierten Cysteinrest das Thiylradikal zu erzeugen.^[29]



Schema 4. Reduktive Spaltung von *S*-Adenosylmethionin (SAM, **11**) zu Methionin (**12**) und dem 5'-Desoxyadenosylradikal (**13**).

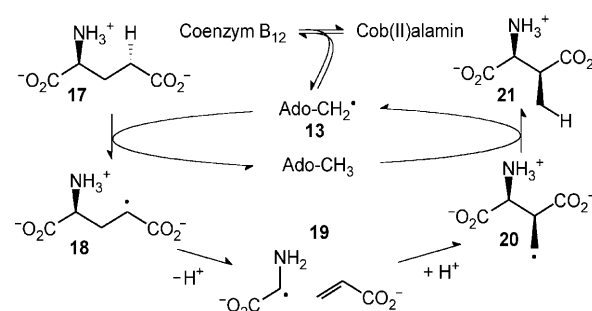
Durch bioinformatische Analysen der Genome wurden bis jetzt fast 3000 Mitglieder der SAM-Radikalenzymfamilie entdeckt.^[30] Das aus SAM gebildete **13** ist außer an der Aktivierung der Glycylradikenzyme noch an einer großen Zahl von Enzymaktivierungen, tRNA-Reifungen und Biosynthesen von Coenzymen beteiligt.^[30] Beispiele sind die Biosynthesen der aktiven Zentren der Enzyme [FeFe]-Hydrogenase, Nitrogenase und Sulfatase, sowie die der Cofaktoren Biotin, Thiamin, Protoporphyrin und Molybdopterin. Alle diese Reaktionen sind irreversibel und führen zu 5'-Desoxyadenosin, das abgebaut werden muss. Nur zwei Ausnahmen sind bekannt, die Sporen-Photoprodukt-Lyase, ein DNA-Reparaturenzym (siehe Abschnitt 3.2), und α -Lysin-2,3-Aminomutase, die den ersten Schritt bei der Fermentation von (S)- α -Lysin zu Ammonium, Acetat und Butyrat im anaeroben Bakterium *Clostridium subterminale* vermittelt (Schema 5).^[31] In beiden Enzymen wird das Radikal nach jedem



Schema 5. Die beiden ersten Schritte der anaeroben Lysin-fermentation.

Umsatz regeneriert. Das Radikal ist in der Lage, sowohl ein nichtaktiviertes Wasserstoffatom vom β -Kohlenstoffatom des α -Lysins (**14**) als auch ein aktiviertes Wasserstoffatom vom Kohlenstoffatom des Produkts (S)- β -Lysin (**15**) zu abstrahieren. Die wandernde Aminogruppe ist dabei an Pyridoxal-5'-phosphat gebunden.^[4] Das durch die Carboxygruppe stabilisierte Radikal am α -Kohlenstoffatom des β -Lysins kann EPR-spektroskopisch leicht detektiert werden.^[32]

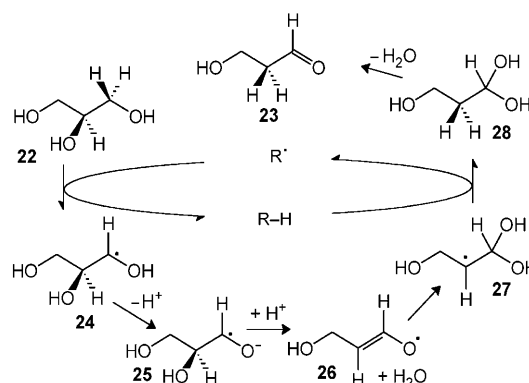
Interessanterweise wird **15** (Schema 5) weiter zu (3S,5S)-3,5-Diaminohexansäure (**16**) umgesetzt, wobei die Aminogruppe, ebenfalls an Pyridoxal-5'-phosphat gebunden, von der ϵ - zur δ -Position geschoben wird. Zwar scheint diese Reaktion, die von der β -Lysin-5,6-Aminomutase katalysiert wird, der oben erwähnten 2,3-Aminogruppenwanderung zu gleichen, allerdings ist Coenzym B_{12} und nicht SAM der Generator des 5'-Desoxyadenosylradikals (**13**).^[33] Coenzym B_{12} , auch Adenosylcobalamin genannt, enthält eine kovalente Cobalt-Kohlenstoff-Bindung, die auch bei Bindung des Cofaktors an das Enzym stabil bleibt. Erst nach Zugabe des Substrats findet eine Homolyse zu Radikal **13** und Cob(II)alamin statt. Nach jedem Umsatz wird die Cobalt-Kohlenstoff-Bindung regeneriert, wie im Schema 6 für die reversible Kohlenstoffgerüstumlagerung von (S)-Glutamat (**17**) zu (2S,3S)-3-Methylaspartat (**21**) gezeigt ist. Im ersten Schritt der von Glutamat-Mutase katalysierten Reaktion abstrahiert Radikal **13** stereospezifisch das 4- H_{SR} -Atom von Glutamat. Das resultierende Substratradikal **18** koppelt im Austausch mit dem ungepaarten Elektron von Cob(II)alamin (exchange coupling), wie EPR-spektroskopisch festgestellt wurde.^[34] Radikal **18** fragmentiert zum Glycinradikal und



Schema 6. Vorgeschlagener Fragmentierungsmechanismus der Glutamat-Mutase im anaeroben Bakterium *Clostridium cochlearium*.

Acrylat (**19**), die zum Methylenaspartatradikal (**20**) rekombinieren. Abschließend wird das anfangs abstrahierte Wasserstoffatom an das Methylenradikal **20** zurückgegeben, wobei Produkt **21** entsteht und Radikal **13** regeneriert wird. **13** vereint sich mit Cob(II)alamin zu Adenosylcobalamin.^[35,36] Die weit verbreitete Coenzym- B_{12} -abhängige Kohlenstoffgerüstumlagerung von (R)-Methylmalonyl-CoA zu Succinyl-CoA kommt in Archaeen, Bakterien und tierischen Mitochondrien vor.^[37]

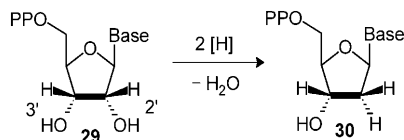
Coenzym B_{12} hat den Vorteil, dass es wesentlich weniger sauerstoffempfindlich als die Glycylradikenzyme und das [4Fe-4S]-Cluster/SAM-System ist. Außerdem gibt es zu Coenzym B_{12} bei den „schwierigen“ reversiblen Kohlenstoffgerüstumlagerungen und Aminogruppenwanderungen, die über hochreaktive Methylenradikale verlaufen, keinen alternativen Radikalgenerator. Man vermutet deshalb, dass bei diesen Reaktionen Cob(II)alamin nicht als Zuschauer (spectator) wirkt, sondern aktiv Radikale stabilisiert (conductor).^[38,39] Die „einfachere“ irreversible Dehydratisierung von Glycerin wird dagegen sowohl von einem Coenzym- B_{12} -abhängigen Enzym^[40] als auch von einem Glycylradikalenzym^[41] katalysiert (Schema 7). Das Radikal – **13** oder GRE-S' – entfernt ein Wasserstoffatom am Nachbarkohlenstoffatom der wandernden Hydroxygruppe. Deprotonierung von Radikal **24** liefert das Ketylradikal **25**, das die benachbarte Hydroxygruppe zum Enoxyradikal **26** eliminiert. Wasseraddition führt zum reaktiveren Radikal **27**, das in der Lage ist, sich das Wasserstoffatom von 5'-Desoxyadenosin oder GRE-SH (R-H in Sche-



Schema 7. Vorgeschlagener Mechanismus der Glycerin-Dehydratase. R' ist entweder das Thiylradikal von GRE-S' oder das Radikal **13** aus Coenzym B_{12} . Alternativ dazu könnte **24** direkt zu **27** umlagern.^[42]

ma 7) zurückzuholen. Dadurch werden die Radikale **13** und GRE-S[•] regeneriert. Abschließend dehydratisiert das *gem*-Diol **28** zu 3-Hydroxypropanal (**23**).

Eine faszinierende Radikalreaktion ist die Reduktion der Ribonucleotide (**29**) zu 2'-Desoxyribonucleotiden (**30**), den DNA-Bausteinen (Schema 8). Es gibt vier Klassen von En-



Schema 8. Reduktion von Ribonucleotiden. PP = Diphosphat.

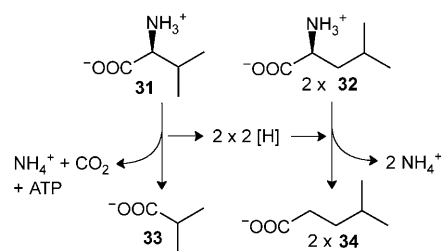
zymen, die diese Reaktion katalysieren. Sie haben verwandte Kristallstrukturen, unterscheiden sich aber in der Erzeugung des Thiylradikals im aktiven Zentrum.^[43] Klasse Ia, die sowohl im Menschen als auch im aerob lebenden *E. coli* vorkommt, hat ein zweikerniges Eisenzentrum, das Sauerstoff aktiviert und ein Tyrosylradikal bildet, das erste stabile Radikal, das in biologischen Systemen entdeckt wurde.^[44] Bei Substratzugabe induziert das Radikal über eine Distanz von 40 Å die Bildung des Thiylradikals, wobei eine Staffel von Tyrosinresten als Elektronenleiter wirkt.^[45] Diese große Entfernung ist wahrscheinlich notwendig, um das empfindliche Thiylradikal vor Sauerstoff zu schützen. Im Enzym aus dem Bakterium *Chlamydia trachomatis* (Klasse Ib) ist ein Eisen- durch ein Manganatom ersetzt, und das Tyrosylradikal fehlt. Offensichtlich übernimmt das Manganzentrum die Funktion des Tyrosylradikals.^[46] Klasse II nutzt Coenzym B₁₂ als Radikalgenerator,^[47] und Klasse III ist ein Glycylradikalenzym.^[48] Ähnlich wie Glycerin-Dehydratase (Schema 7; **22**→**26**), sind die ersten Schritte der Reduktion von Ribonucleotiden die Entfernung des 3'-Wasserstoffatoms durch das Thiylradikal^[49] und Deprotonierung der 3'-OH-Gruppe. Das gebildete Ketylradikal eliminiert die 2'-OH-Gruppe, gefolgt von zwei Einelektronenreduktionen über ein Disulfidradikalanion,^[50] die das Produktradikal liefern. Die abschließende Rückkehr des 3'-Wasserstoffatoms regeneriert das Thiylradikal.

3. Rezyklisierung von Elektronen durch Enzyme

Abschnitt 2 hat gezeigt, dass die Bildung von Radikalen entweder Sauerstoff oder komplexe Cofaktoren wie *S*-Adenosylmethionin oder Coenzym B₁₂ benötigt. Die Glycylradikalenzyme, die reversiblen SAM-Radikalenzyme und die Coenzym-B₁₂-abhängigen Enzyme regenerieren das Radikal nach jedem Umsatz (Schemata 3, 6, 7 und 16). Eine Alternative ist die Addition eines energiereichen Elektrons an eine Carbonylgruppe, die ein Ketylradikal erzeugt, das die Katalyse in Zweielektronenschritten ermöglicht und das Elektron für den nächsten Umsatz wieder bereitstellt. Die 2-Hydroxyacyl-CoA-Dehydratasen^[51] und die DNA-Photolyasen^[52–54] nutzen diesen Mechanismus.

3.1. 2-Hydroxyacyl-CoA-Dehydratasen

Einige anaerobe Bakterien der Ordnung *Clostridiales* und der Gattung *Fusobacterium* sind in der Lage, anstelle von Zuckern α-Aminosäuren zu fermentieren. Dieser Prozess wird allgemein als Stickland-Reaktion bezeichnet.^[55] Enzyme dieser Bakterien oxidieren und decarboxylieren eine Aminosäure über die entsprechende 2-Oxosäure zu einem „energiereichen“ CoA-Thioester, der über ein Acylphosphat (Substratstufenphosphorylierung) zur Bildung von Adenosintriphosphat (ATP) führt. Die Elektronen akzeptierenden Coenzyme werden regeneriert, indem eine andere oder die gleiche Aminosäure zu einer kurzkettigen Fettsäure reduziert wird (Schema 9).

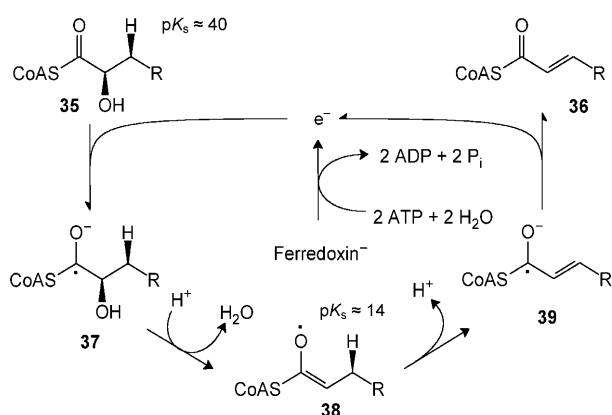


Schema 9. Stickland-Reaktion bei der Fermentation der Aminosäuren Valin (**31**) als Donor und Leucin (**32**) als Akzeptor zu Isobutyrat (**33**) und Isocaproat (**34**).

Zur Reduktion der Aminosäuren, z. B. L-Leucin (**32**) zu Isocaproat (**34**), muss die Aminogruppe aus der α-Position zusammen mit einem β-Wasserstoffatom, das außer im Fall von Aspartat nicht acidisch ist ($pK_s \approx 40$), eliminiert werden. Für diese schwierige Reaktion wird die Aminosäure im Hydroxysäureweg, der in strikt anaeroben Bakterien im menschlichen Darm vorkommt, zunächst zum Ammoniumion und zur 2-Oxosäure oxidiert, um anschließend zur (*R*)-2-Hydroxysäure reduziert zu werden. Der Transfer des CoAS[−]-Ions eines Acyl-CoA-Moleküls auf die (*R*)-2-Hydroxysäure liefert (*R*)-2-Hydroxyacyl-CoA (**35**; Schema 10), das in einer *syn*-Konformation zu (*E*)-2-Enoyl-CoA (**36**) dehydratisiert wird. Anschließend wird **36** zum gesättigten Acyl-CoA reduziert, und ein zweiter CoA-Transfer setzt die Fettsäure frei. In verschiedenen Organismen können über diesen Weg bis zu 12 der 20 in Proteinen vorkommenden Aminosäuren zu den entsprechenden Fettsäuren mit dem gleichen Kohlenstoffgerüst wie die ursprüngliche Aminosäure reduziert werden.^[56]

Das interessanteste Enzym dieses Wegs ist die 2-Hydroxyacyl-CoA-Dehydratase, bei deren Substrat genauso wie bei der ursprünglichen Aminosäure das β-Wasserstoffatom nicht aktiviert ist. Bis jetzt wurden vier dieser Enzyme charakterisiert, die folgende Reaktionen katalysieren:

- 1) (*R*)-Lactyl-CoA aus Alanin, Serin und Cystein zu Acryloyl-CoA oder (*R*)-2-Hydroxybutyryl-CoA (**2**; Schema 1) aus Methionin und Threonin zu Crotonyl-CoA (**1**);
- 2) (*R*)-2-Hydroxyglutaryl-CoA aus Glutamat, Glutamin und Histidin zu (*E*)-Glutaconyl-CoA;
- 3) (*R*)-2-Hydroxyisocaprolyl-CoA aus Leucin zu 2-Iso-caprenoyl-CoA (vermutlich das *E*-Isomer);

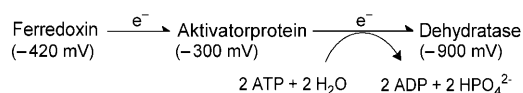


Schema 10. Vorgeschlagener Mechanismus der *syn*-Dehydratisierung von (*R*)-2-Hydroxyacyl-CoA (**35**) zu (*E*)-2-Enoyl-CoA (**36**); R = H, CH₃, CH₂-COO⁻, Phenyl oder Isopropyl; ADP = Adenosindiphosphat; P_i = Phosphat.

4) (*R*)-3-Phenyllactyl-CoA aus Phenylalanin zum CoA-Thioester der (*E*)-Zimtsäure.

Phenyllactyl-CoA-Dehydratase katalysiert wahrscheinlich auch die Dehydratisierung der 3-Aryllactyl-CoA-Derivate aus Tyrosin und Tryptophan zu den entsprechenden 3-Arylacryloyl-CoA-Derivaten, die nach Reduktion 3-Arylpropionate liefern. Alle diese Dehydratasen bestehen aus zwei äußerst sauerstoffempfindlichen Proteinen: einem homodimeren Aktivator mit einem [4Fe-4S]-Cluster zwischen den beiden Untereinheiten sowie der eigentlichen, heterodimeren Dehydratase mit je einem [4Fe-4S]-Cluster in den beiden Untereinheiten. Die Kristallstruktur des Aktivatorproteins aus dem anaeroben Bakterium *Acidaminococcus fermentans* (2 × 27 kDa) zeigte, dass vier Cysteinreste, je zwei von einer Untereinheit, den Cluster koordinieren, der zwischen zwei Helices liegt, die einen Helix-Cluster-Helix-Winkel von 105° bilden.^[57] Jede Untereinheit enthält eine ATP-Bindedomäne, die mit denen der Acetat- und Zucker-Kinasen, des Hitzeschockproteins Hsp70 und des Actins verwandt ist (ASKHA).^[58] Die beiden [4Fe-4S]-Cluster der Dehydratase sind wahrscheinlich ähnlich gebaut wie der Cluster der Aconitase des Krebs-Zyklus^[59] oder der Cluster in den SAM-Radikalenzymen.^[60] Mößbauer-Spektroskopie der 2-Hydroxyisocaproyl-CoA-Dehydratase ergab zwei verschiedene Eisenspezies im Verhältnis 1:3. Daraus ist zu schließen, dass drei Cysteinreste den Cluster über drei Eisenatome koordinieren, während das vierte Eisenzentrum das Substrat bindet.^[89]

Diese Daten und chemische Modellreaktionen (siehe Abschnitt 4) führten zu folgendem Mechanismus (Schema 10): Ferredoxin, ein starkes Reduktionsmittel in der anaeroben Zelle, oder die künstlichen Elektronendonoren Ti^{III}-Citrat und Dithionit reduzieren den [4Fe-4S]²⁺-Cluster des Aktivatorproteins spontan zum [4Fe-4S]¹⁺-Cluster, der in Gegenwart von 2 ATP und Mg²⁺ das Elektron weiter auf die Dehydratase überträgt (Schema 11). Eine direkte Oxidation von Ferredoxin durch die Dehydratase ist vermutlich wegen deren stark negativen Potentials nicht möglich. Wahrscheinlich ist dieser Transfer von einer großen Konformationsänderung begleitet. Der Helix-Cluster-Helix-Winkel von 105°

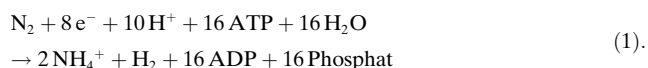


Schema 11. Aktivierung der 2-Hydroxyacyl-CoA-Dehydratase durch Elektronentransfer. Die Zahlen in Klammern sind die ungefähren Redoxpotentiale (*E*⁰) gegenüber der Normalwasserstoffelektrode.

könnte sich bei ATP-Hydrolyse auf 180° aufweiten, wobei sich der Aktivatorcluster dem Cluster der Dehydratase soweit nähert, dass das Elektron übertragen werden kann.^[61] Diese Hypothese könnte durch die Kristallstruktur des durch ADP-AlF₄⁻ stabilisierten Komplexes aus Aktivatorprotein und Dehydratase überprüft werden, allerdings sind die bisher gewonnenen Kristalle noch nicht für eine Röntgenstrukturanalyse geeignet.^[62]

Es wurde postuliert, dass das auf die Dehydratase übertragene Elektron die Thioester-Carbonylgruppe des Substrats **35** zum Ketylradikal **37** reduziert (Schema 10). Dieses Radikal hat nucleophile Eigenschaften und eliminiert die benachbarte Hydroxygruppe unter Bildung des Enoxyradikals **38**.^[63,64] Diese Eliminierung erhöht die Acidität des β-Wasserstoffatoms um 26 Einheiten von p*K*_s ≈ 40 auf p*K*_s ≈ 14, wie Rechnungen gezeigt haben.^[65] Wie bei der 3-Hydroxyacyl-CoA-Dehydratase (Crotonase)^[66] lässt die beobachtete *syn*-Wasserabspaltung^[67,68] darauf schließen, dass die eliminierte Hydroxygruppe die Base ist, die ein Proton in β-Stellung abstrahiert.^[69] Durch EPR-Spektroskopie konnte das dabei gebildete allylische Ketylradikal (**39**, R = Isopropyl) identifiziert werden, obgleich seine Konzentration nur etwa 1 % jener des Enzyms betrug. Das EPR-Spektrum zeigte die erwarteten Kopplungen des Radikals mit den beiden Wasserstoffatomen an C-3 und C-4, deren Substitution durch Deuterium das Spektrum vereinfachte. Mit Gefrierstopp-EPR-Spektroskopie wurde die katalytische Kompetenz des Radikals nachgewiesen; das Radikal wird mit der gleichen Geschwindigkeit [(140 ± 30) s⁻¹] gebildet, in der die Gesamtreaktion abläuft (150 s⁻¹).^[51] Im abschließenden Schritt der Dehydratisierung wird das Elektron wieder an das Enzym zurückgegeben und das gebildete Produkt freigesetzt. Das Elektron auf der Dehydratase ist jetzt für den nächsten Umsatz bereit. Nach etwa 10⁴ Zyklen wird das Enzym inaktiviert, indem es wahrscheinlich ein zweites Elektron irreversibel auf das Substrat überträgt. Ein weiterer „Schuss“ des Aktivators genügt aber, um das Enzym wieder vollständig zu reaktivieren.^[70]

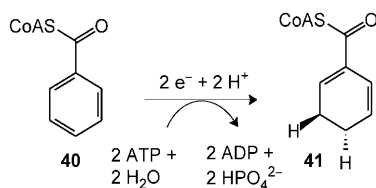
Dieser Mechanismus erinnert zum Teil an jenen der Nitrogenase, die die Reduktion von Distickstoff zu Ammonium und Wasserstoff in vielen Archaeen und Bakterien katalysiert [Gl. (1)]. Nitrogenase ist ein Zweikomponenten-Enzymsystem



tem aus dem Eisenprotein, das dem Aktivatorprotein der 2-Hydroxyacyl-CoA-Dehydratasen ähnelt, und dem Eisen-Molybdän-Protein, an dem N₂ reduziert wird. Unter Hydrolyse von zwei ATP-Molekülen pro Elektron überträgt das Eisenprotein die acht Elektronen einzeln auf das Eisen-Mo-

lybdän-Protein.^[71] Obwohl das Eisenprotein phylogenetisch nicht mit dem Aktivatorprotein der 2-Hydroxyacyl-CoA-Dehydratasen verwandt ist, enthält es ebenfalls einen [4Fe-4S]-Cluster zwischen den beiden identischen Untereinheiten, die einen ähnlichen Helix-Cluster-Helix-Aufbau mit einem Winkel von 150° haben. In der Kristallstruktur des mit ADP-AlF₄⁻ stabilisierten Komplexes der beiden Nitrogenaseproteine beträgt der Winkel beinahe 180°, wahrscheinlich ebenso wie beim Elektronentransfer.^[72]

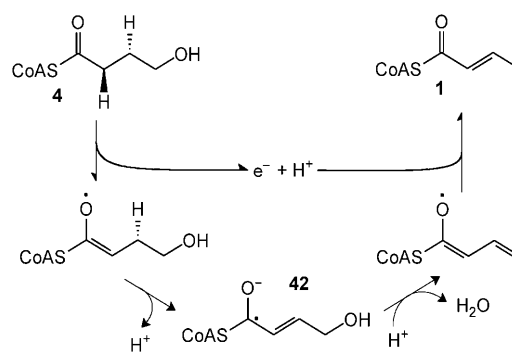
Phylogenetisch verwandt zu den 2-Hydroxyacyl-CoA-Dehydratasen ist die Benzoyl-CoA-Reduktase, die die Bildung von Cyclohexancarboxy-CoA (**41**; Schema 12) kataly-



Schema 12. Reduktion von Benzoyl-CoA (**40**) zu Cyclohexadienyl-CoA (**41**).

siert. Dabei verwendet sie zwei Elektronen von Ferredoxin sowie zwei Protonen, die in einer *anti*-Konfiguration an den aromatischen Ring addiert werden.^[73,74] Wahrscheinlich reduziert das erste Elektron unter Hydrolyse von zwei ATP-Molekülen die Thioester-Carbonylgruppe von Benzoyl-CoA (**40**) zu einer Ketylradikal-Zwischenstufe, wobei das erste Proton in der *para*-Position addiert. Anschließend reduziert das zweite Elektron das intermediäre Enoxyradikal zum Enolat, das schließlich in der *meta*-Position zu **41** protoniert wird. Der Enzymkomplex aus dem fakultativen anaeroben Bakterium *Thauera aromatica* besteht aus vier Untereinheiten, von denen zwei dem Aktivatorprotein mit einem [4Fe-4S]-Cluster und die beiden anderen der Dehydratase mit zwei [4Fe-4S]-Clustern ähneln. Ungeachtet dieser strukturellen und funktionellen Gemeinsamkeiten benötigen Nitrogenase und Benzoyl-CoA-Reduktase die Elektronen in stöchiometrischen Mengen, die nicht wie bei den 2-Hydroxyacyl-CoA-Dehydratasen wiederverwertet werden können.

Interessanterweise wird Wasser an Crotonyl-CoA (**1**) unter Bildung von 4-Hydroxybutyryl-CoA (**4**) nach einem Mechanismus addiert, der entgegengesetzt zur Hydratisierung zu 2-Hydroxybutyryl-CoA (**2**) verläuft (Schemata 1 und 13): Hier wird das allylische Ketylradikal **42** durch eine Ein-Elektronenoxidation und zwei stereospezifische Deprotonierungen erzeugt.^[26,75] Das homotetramere Enzym aus *Clostridium aminobutyricum* enthält in jeder Untereinheit ein Molekül Flavin-Adenin-Dinucleotid (FAD) sowie einen [4Fe-4S]²⁺-Cluster, der durch drei Cysteinreste und einen Histidinrest koordiniert ist. Sehr wahrscheinlich bindet die Hydroxygruppe von 4-Hydroxybutyryl-CoA an den [4Fe-4S]²⁺-Cluster und ersetzt den Histidinrest, der dann ein Proton in α -Stellung abstrahiert.^[76] Das entstandene Enolat wird durch FAD oxidiert und deprotoniert. EPR-Spektroskopie identifizierte das FADH[•]-Semichinon, während die Substrat- oder Produktradikale noch keinem Signal zugeordnet werden

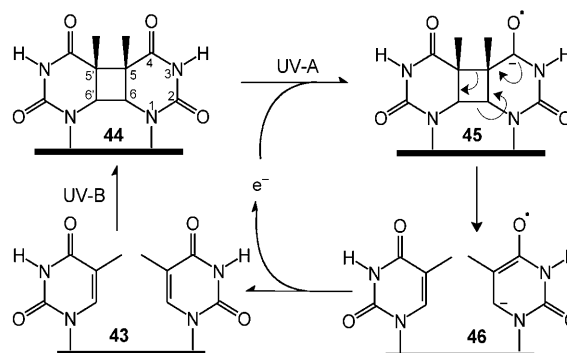


Schema 13. Vorgeschlagener Mechanismus der Wasserabspaltung aus 4-Hydroxybutyryl-CoA (**4**) zu Crotonyl-CoA (**1**).

konnten.^[77] Das gebildete Zwischenprodukt **42** eliminiert die Hydroxygruppe zum Dienoxyradikal, das mit FADH[•] wieder reduziert und an C-4 zum Produkt **1** protoniert wird. Stereospezifische Markierung von **4** an C-4 mit Deuterium und Tritium führte nach Dehydratisierung zur chiralen Methylgruppe von **1**, deren stereochemische Analyse eine Retention bei der Substitution der Hydroxygruppe durch ein Wasserstoffatom ergab.^[75]

3.2. DNA-Photolyase

Bei Bestrahlung von DNA mit UV-B-Licht (290–320 nm) bilden zwei benachbarte Thymidinreste (**43**; Schema 14) ein Cyclobutan-Pyrimidindimer (CPD, **44**) durch [2+2]-Cyclo-

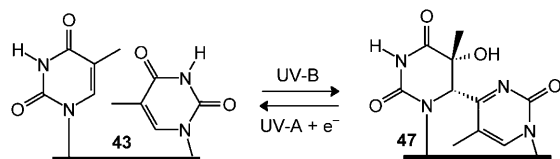


Schema 14. Bildung und Spaltung des CPD-Schadens (**44**) in der DNA.

photoaddition. DNA-Photolyase repariert diesen Schaden mit blauem Licht (350–450 nm) in einer Radikalreaktion.^[52,53] Das Enzym aus *Escherichia coli* enthält Methylentetrahydrofolat (CH₂=FH₄) und FAD als prosthetische Gruppen. Zur Katalyse muss das FAD im reduzierten, anionischen Zustand (FADH⁻) vorliegen, der fast kein blaues Licht absorbiert. Die Lichtantenne CH₂=FH₄ (λ_{max} = 380 nm) überträgt die Energie eines Photons auf FADH⁻, das dadurch in den angeregten Zustand, FADH^{-*}, überführt wird. Bei Bindung der Lyase an die Schadstelle der DNA klappt das CPD in das aktive Zentrum hinein.^[78] Nun überträgt FADH^{-*} das energiereiche Elektron auf das CPD, wobei sich

ein Ketylradikal in Nachbarschaft des Cyclobutanrings (**45**) bildet. Ähnlich wie bei 2-Hydroxyacyl-CoA-Dehydratase kann das Ketylradikal als Nucleophil wirken, das die 5'-5' und 6'-6-Bindungen des Cyclobutanrings spaltet, wobei ein resonanzstabilisiertes Ketylradikal und ein wiederhergestellter Thymidinrest (**46**) entstehen. Abschließend kehrt das Elektron zum kurzlebigen FADH-Semichinon zurück, liefert den zweiten wiederhergestellten Thymidinrest und regeneriert FADH⁻. Jetzt kann ein Photon das Elektron wieder für die nächste Umsetzung anregen.

Ein ähnlicher Mechanismus spaltet den (6-4)-Schaden (**47**; Schema 15) in der DNA.^[54] Wieder stellt FADH⁻* ein energiereiches Elektron zur Verfügung, das den Schaden in

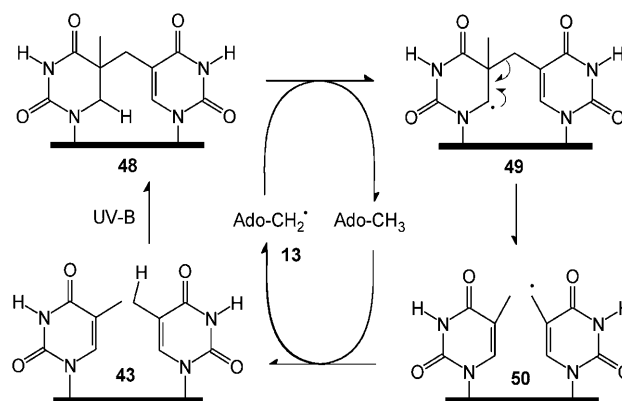


Schema 15. Bildung und Spaltung des (6-4)-Schadens (**47**) in der DNA.

Zweielektronenschritten repariert. Dabei wird der Sauerstoff ohne Austausch mit dem Lösungsmittel übertragen. Der Schaden entsteht durch [2+2]-Cyclophotoaddition der 5'-6'-Doppelbindung des einen Thymidinrestes an die C-4-Carbonylgruppe der anderen Base, wahrscheinlich über einen viergliedrigen Oxetanring als Zwischenstufe.

Somit gleichen sich die Mechanismen der Photolyasen und der 2-Hydroxyacyl-CoA-Dehydratase in vielerlei Hinsicht: Ein energiereiches Elektron bildet ein Substrat-Ketylradikal, das in einer möglicherweise konzertierten Reaktion ins Produkt-Ketylradikal überführt wird, während das Elektron wieder für die nächste Umsetzung zur Verfügung steht. Nur in einer Hinsicht unterscheiden sich die Mechanismen: Während die Photolyasen für jeden Reaktionszyklus ein Photon verbrauchen, können die Dehydratase das Elektron ohne jeglichen zusätzlichen Energieeintrag 10⁴-mal wiederverwenden. Bei der Photolyase ist die Energiedifferenz zwischen den beiden Radikalen **45** und **46** für eine Elektronenrekycling im Dunklen wahrscheinlich zu hoch. Andererseits könnte auch die Lebensdauer von FADH⁻* nicht ausreichen, um die Zeit zu überbrücken, die das Enzym zum Auffinden eines weiteren Schadens auf der DNA benötigt.

Die Bestrahlung der trockenen DNA in bakteriellen Sporen mit UV-B-Licht führt nicht zu einem CPD, sondern zur radikalischen Addition der Methylgruppe eines Thymidinrestes an die Doppelbindung des benachbarten Thymidinrestes, einem Schaden, der als Sporenphotoprodukt (**48**; Schema 16) bezeichnet wird.^[79] Zur Reparatur dieses Schadens benötigt die Sporenphotoprodukt-Lyase das 5'-Desoxyadenosinradikal aus SAM (**13**; Schema 4), das ein Wasserstoffatom von **48** abstrahiert, wobei Radikal **49** entsteht, das zum Thymidin und dem Thymidinradikal fragmentiert (vgl. Mechanismus der Glutamat-Mutase; Schema 6). Das Thymidinradikal abstrahiert wieder ein Wasserstoffatom der Methylgruppe des transient gebildeten 5'-Desoxyadenosins,



Schema 16. Bildung und Spaltung des Sporenphotoprodukts Thymidinimer (**48**) in der DNA.

wobei der zweite Thymidinrest wiederhergestellt wird und **13** regeneriert wird.^[80] Somit wird bei dieser Reaktion nicht das Elektron, sondern das Radikal wiederverwertet. Zudem ist die Fragmentierung von **49**→**50** eine Radikalreaktion, während die Bindungsspaltungen in den Photolyasen sehr wahrscheinlich in Zweielektronenschritten ablaufen.

3.3. Weitere Elektronen rezyklierende Enzyme

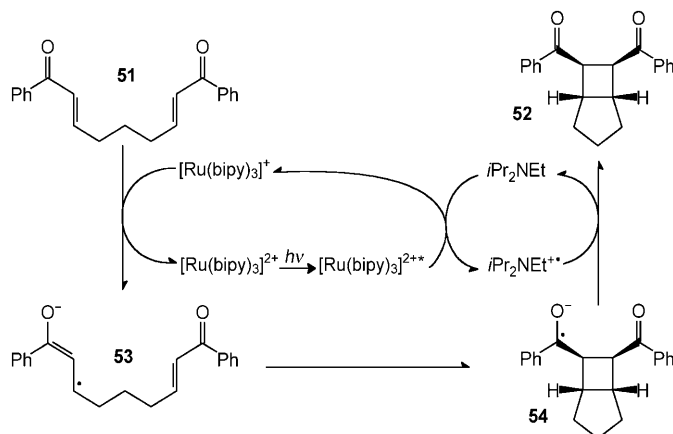
Bei der Methanogenese und der anaeroben Methanoxidation mit Sulfat verläuft die reversible Bildung von Methan aus Methyl-S-CoM und CoB-SH (Co = Coenzym), die von der Methyl-CoM-Reduktase katalysiert wird, sehr wahrscheinlich über Radikale.^[81] Dabei wird das Elektron von Ni^I im Porphyrinoid-Cofaktor F₄₃₀ bei jedem Katalysezyklus wieder verwendet. Ein anderes Beispiel ist die FMNH₂ (reduziertes Riboflavin-5'-phosphat) benötigende Chorismat-Synthase, die die *anti*-1,4-Eliminierung von Phosphat aus 5-Enolpyruvylshikimat-3-phosphat katalysiert, wobei das nichtaktivierte 6*Re*-Wasserstoffatom entfernt werden muss.^[82,83] Im plausibelsten Mechanismus dieses Schlüsselenzyms der Arenbiosynthese über den Shikimisäure-Weg wird ein Elektron von FMNH₂ auf die Doppelbindung übertragen, wobei das entstandene Radikalanion das Phosphat eliminiert. Das gebildete Allylradikal senkt den p*K*_s-Wert des 6*Re*-Wasserstoffatoms soweit, dass dieses von einer Base des Enzyms entfernt werden kann. Abschließend wird das allylische Ketylradikal vom kurzlebigen FMNH[•] zum Produkt Chorismat oxidiert.^[84,85] Da beide Mechanismen noch umstritten sind, soll hier von einer ausführlicheren Beschreibung abgesehen werden.

4. Rezyklisierung von Elektronen in der organischen Synthese

Eine Modellreaktion, die dazu beitrug, den Mechanismus der 2-Hydroxyacyl-CoA-Dehydratase zu formulieren, war die Reduktion von α -Hydroxyketonen mit Einelektronendonoren wie metallischem Zink in Essigsäure, Cr^{II} oder Dithionit.^[86] Diese Reduktion verläuft wahrscheinlich über ein

Ketylradikal, das als Nucleophil die nachbarständige Hydroxygruppe eliminiert. Das zweite Elektron reduziert anschließend das kurzlebige Enoxyradikal zum unsubstituierten Keton. Kürzlich wurden zwei Beiträge veröffentlicht, die die Anwendung von Licht zur Erzeugung von Ketylradikalen in der organischen Synthese beschreiben.^[7,8]

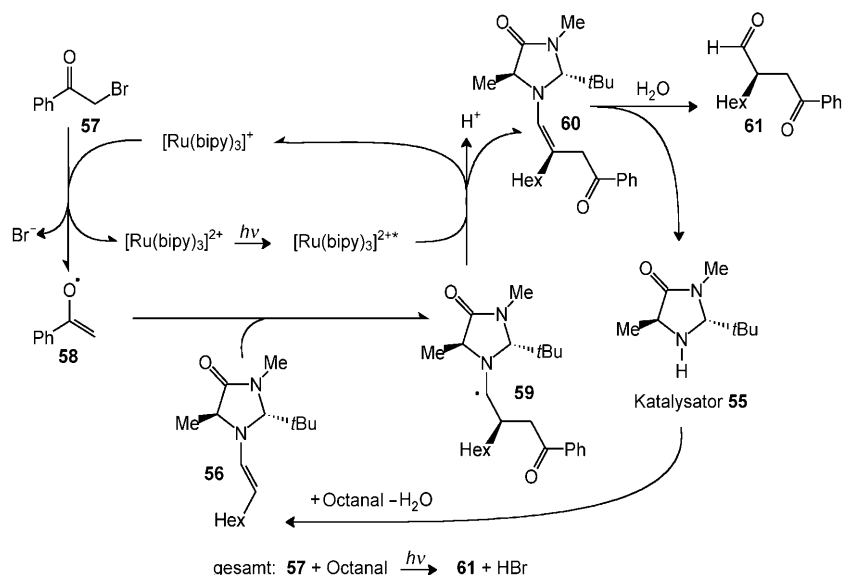
Die intramolekulare [2+2]-Cycloaddition eines Bis(enons) **51** (Schema 17) zu einem Cyclobutan **52** erinnert an die Bildung und Zerlegung von Thymindimeren (**44**, CPD; Schema 14). Organische Radikale oder der Elektronentransfer an einer Kathode induzieren die Cycloaddition, die über resonanzstabilisierte Ketylradikale verläuft.^[87] Ischay et al. nutzten $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]\text{Cl}_2$ (bipy = 2,2'-Bipyridin) als Photokatalysator in Acetonitril.^[7] Bestrahlung dieses Chromophors mit sichtbarem Licht ($\lambda_{\text{max}} = 452 \text{ nm}$) liefert den angeregten Zustand, $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^{2+*}$, der das tertiäre Amin $i\text{Pr}_2\text{NEt}$ zum Radikalkation $i\text{Pr}_2\text{NEt}^{+\bullet}$ oxidiert. Das so gebildete, starke Reduktionsmittel $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^+$



Schema 17. Lichtgetriebene [2+2]-Enonycycloaddition.

überträgt ein Elektron auf das Bis(enon), das zu einem allylischen Ketylradikal **53** reduziert wird. Dieses wird zusätzlich durch den Phenylsubstituenten und Li^+ der benötigten Lewis-Säure LiBF_4 stabilisiert. Nach der Cycloaddition zu **54**, die mit hoher Ausbeute und Diastereoselektivität abläuft, schließt das Elektron durch Reduktion des Radikalkations $i\text{Pr}_2\text{NEt}^{+\bullet}$ zum neutralen Amin den Katalysezyklus.

Der zweite Beitrag, von Nicewicz und MacMillan, beschreibt eine zwar kompliziertere, aber allgemeiner anwendbare Synthese, bei der ein rezykliertes Elektron die enantioselektive α -Alkylierung von aliphatischen Aldehyden mit α -Bromcarbonylverbindungen katalysiert (Schema 18).^[8] Zusätzlich zum schon erwähnten $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^+$ benötigt die Reaktion das chirale Imidazolidinon **55** als Organokatalysator. **55** kondensiert mit dem Aldehyd zum Enamin **56**, das als Radikalakzeptor wirkt. $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^+$ reduziert die Bromcarbonylverbindung **57** über ein Ketylradikal zum Enoxyradikal **58**, das stereospezifisch an die offene *Si*-Seite der Doppelbindung in **56** addiert. Das dabei gebildete $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^{2+}$



Schema 18. Lichtgetriebene α -Alkylierung von Octanal mit Bromacetophenon (**57**).

oxidiert das neue Radikal **59** zum Enamin **60** und regeneriert $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^+$ für den nächsten Umsatz. Die abschließende Hydrolyse von **60** liefert das hochangereicherte *R*-Enantiomer des alkylierten Aldehyds **61** sowie regeneriertes **55**. Zum Beispiel reagiert Octanal unter Bestrahlung mit einer fluoreszierenden 125-W-Lichtquelle binnen sechs Stunden bei 25°C mit α -Bromacetophenon (**57**) in Gegenwart von Lutidin in DMF zu (*R*)-2-(2-Oxo-2-phenylethyl)octanal (**61**; 84 % Ausbeute, 95 % *ee*). So vereint ein zweifacher Einelektronentransfer zwei Zyklen. Der Photoredoxzyklus „leiht“ ein Elektron dem organokatalytischen Zyklus („lending an electron“),^[88] in dem ein Radikal erzeugt wird, das stereospezifisch an die Doppelbindung des Enamins addiert. Danach bekommt der Photoredoxzyklus das Elektron zurück.

Diese aufregende Synthese setzt auf das gleiche Prinzip, das die Natur wahrscheinlich schon drei Milliarden Jahre früher erfunden hat. Katalyse durch ein rezykliertes Elektron oder durch Ausleihen eines Elektrons ist ein bisher wenig bekanntes Prinzip in der Enzymologie und ein neues Hilfsmittel in der „grünen“ organischen Synthese.

Ich danke Professor Rudolf K. Thauer und den anonymen Gutachtern für die Hilfe bei der Erstellung des Manuskripts. Die Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Fonds der chemischen Industrie und der Max-Planck-Gesellschaft unterstützt.

Eingegangen am 9. Februar 2009

Online veröffentlicht am 21. Juli 2009

- [1] L. Michaelis, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **1939**, 2, 33–49.
- [2] J. Stubbe, W. A. van der Donk, *Chem. Rev.* **1998**, 98, 705–762.
- [3] W. Buckel, B. T. Golding, *Annu. Rev. Microbiol.* **2006**, 60, 27–49.
- [4] P. A. Frey, A. D. Hegeman, G. H. Reed, *Chem. Rev.* **2006**, 106, 3302–3316.

- [5] A. E. Hofmeister, W. Buckel, *Eur. J. Biochem.* **1992**, *206*, 547–552.
- [6] U. Scherf, W. Buckel, *Eur. J. Biochem.* **1993**, *215*, 421–429.
- [7] M. A. Ischay, M. E. Anzovino, J. Du, T. P. Yoon, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12886–12887.
- [8] D. A. Nicewicz, D. W. MacMillan, *Science* **2008**, *322*, 77–80.
- [9] J. T. Groves, *J. Inorg. Biochem.* **2006**, *100*, 434–447.
- [10] S. Shaik, S. P. de Visser, F. Ogliaro, H. Schwarz, D. Schröder, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, *6*, 556–567.
- [11] K. F. Ettwig, T. van Alen, K. T. van de Pas-Schoonen, M. S. Jetten, M. Strous, *Appl. Environ. Microbiol.* **2009**, *75*, 3656–3662.
- [12] H. Jiang, H. Wang, F. Liang, S. Werth, T. Schiestel, J. Caro, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 3027–3030; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 2983–2986.
- [13] S. Shima, R. K. Thauer, *Curr. Opin. Microbiol.* **2005**, *8*, 643–648.
- [14] J. Heider, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2007**, *11*, 188–194.
- [15] R. Rabus, H. Wilkes, A. Behrends, A. Armstroff, T. Fischer, A. J. Pierik, F. Widdel, *J. Bacteriol.* **2001**, *183*, 1707–1715.
- [16] T. Biegert, G. Fuchs, J. Heider, *Eur. J. Biochem.* **1996**, *238*, 661–668.
- [17] L. Li, E. N. Marsh, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 16056–16057.
- [18] C. J. Krieger, W. Roseboom, S. P. Albracht, A. M. Spormann, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 12924–12927.
- [19] O. Knimeyer, T. Fischer, H. Wilkes, F. O. Glöckner, F. Widdel, *Appl. Environ. Microbiol.* **2003**, *69*, 760–768.
- [20] D. P. Kloor, C. Hagel, J. Heider, G. E. Schulz, *Structure* **2006**, *14*, 1377–1388.
- [21] J. Knappe, F. A. Neugebauer, H. P. Blaschkowski, M. Gänzler, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1984**, *81*, 1332–1335.
- [22] X. Sun, S. Ollagnier, P. P. Schmidt, M. Atta, E. Mulliez, L. Lepape, R. Eliasson, A. Graslund, M. Fontecave, P. Reichard, B. M. Sjöberg, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 6827–6831.
- [23] C. Raynaud, P. Sarcabal, I. Meynial-Salles, C. Croux, P. Soucaille, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 5010–5015.
- [24] T. Selmer, P. I. Andrei, *Eur. J. Biochem.* **2001**, *268*, 1363–1372.
- [25] T. Selmer, A. J. Pierik, J. Heider, *Biol. Chem.* **2005**, *386*, 981–988.
- [26] W. Buckel, B. T. Golding, *FEMS Microbiol. Rev.* **1999**, *22*, 523–541.
- [27] M. Frey, M. Rothe, A. F. Wagner, J. Knappe, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 12432–12437.
- [28] J. L. Vey, J. Yang, M. Li, W. E. Broderick, J. B. Broderick, C. L. Drennan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 16137–16141.
- [29] W. Plaga, G. Vielhaber, J. Wallach, J. Knappe, *FEBS Lett.* **2000**, *466*, 45–48.
- [30] P. A. Frey, A. D. Hegeman, F. J. Ruzicka, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **2008**, *43*, 63–88.
- [31] B. W. Lepore, F. J. Ruzicka, P. A. Frey, D. Ringe, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 13819–13824.
- [32] M. D. Ballinger, P. A. Frey, G. H. Reed, *Biochemistry* **1992**, *31*, 10782–10789.
- [33] F. Berkovitch, E. Behshad, K. H. Tang, E. A. Enns, P. A. Frey, C. L. Drennan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 15870–15875.
- [34] H. Bothe, D. J. Darley, S. P. Albracht, G. J. Gerfen, B. T. Golding, W. Buckel, *Biochemistry* **1998**, *37*, 4105–4113.
- [35] B. Beatrix, O. Zelder, F. Kroll, G. Örlýsson, B. T. Golding, W. Buckel, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 2573–2576; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2398–2401.
- [36] H.-W. Chih, E. N. G. Marsh, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 10732–10733.
- [37] R. Banerjee, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2083–2094.
- [38] W. Buckel, C. Kratky, B. T. Golding, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 352–362.
- [39] P. M. Kozlowski, T. Kamachi, T. Toraya, K. Yoshizawa, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 998–1001; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 980–983.
- [40] M. Yamanishi, M. Yunoki, T. Tobimatsu, H. Sato, J. Matsui, A. Dokiya, Y. Iuchi, K. Oe, K. Suto, N. Shibata, Y. Morimoto, N. Yasuoka, T. Toraya, *Eur. J. Biochem.* **2002**, *269*, 4484–4494.
- [41] J. R. O'Brien, C. Raynaud, C. Croux, L. Girbal, P. Soucaille, W. N. Lanzilotta, *Biochemistry* **2004**, *43*, 4635–4645.
- [42] T. Toraya, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2095–2127.
- [43] S. Licht, G. J. Gerfen, J. Stubbe, *Science* **1996**, *271*, 477–481.
- [44] C. L. Atkin, L. Thelander, P. Reichard, G. Lang, *J. Biol. Chem.* **1973**, *248*, 7464–7472.
- [45] M. R. Seyedsayamdost, J. Xie, C. T. Chan, P. G. Schultz, J. Stubbe, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15060–15071.
- [46] W. Jiang, D. Yun, L. Saleh, J. M. Bollinger, Jr., C. Krebs, *Biochemistry* **2008**, *47*, 13736–13744.
- [47] H. P. Hogenkamp, *Pharmacol. Ther.* **1983**, *23*, 393–405.
- [48] R. Eliasson, M. Fontecave, H. Jornvall, M. Krook, E. Pontis, P. Reichard, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, *87*, 3314–3318.
- [49] J. Stubbe, M. Ator, T. Krenitsky, *J. Biol. Chem.* **1983**, *258*, 1625–1631.
- [50] C. C. Lawrence, M. Bennati, H. V. Obias, G. Bar, R. G. Griffin, J. Stubbe, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 8979–8984.
- [51] J. Kim, D. J. Darley, W. Buckel, A. J. Pierik, *Nature* **2008**, *452*, 239–242.
- [52] A. Sancar, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2203–2237.
- [53] L. O. Essen, T. Klar, *Cell. Mol. Life Sci.* **2006**, *63*, 1266–1277.
- [54] M. J. Maul, T. R. Barends, A. F. Glas, M. J. Cryle, T. Domratheva, S. Schneider, I. Schlichting, T. Carell, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 10230–10234; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 10076–10080.
- [55] L. H. Stickland, *Biochem. J.* **1934**, *28*, 1746–1759.
- [56] J. Kim, M. Hetzel, C. D. Boiangiu, W. Buckel, *FEMS Microbiol. Rev.* **2004**, *28*, 455–468.
- [57] K. P. Locher, M. Hans, A. P. Yeh, B. Schmid, W. Buckel, D. C. Rees, *J. Mol. Biol.* **2001**, *307*, 297–308.
- [58] K. A. Buss, D. R. Cooper, C. Ingram-Smith, J. G. Ferry, D. A. Sanders, M. S. Hasson, *J. Bacteriol.* **2001**, *183*, 680–686.
- [59] H. Beinert, M. C. Kennedy, *Eur. J. Biochem.* **1989**, *186*, 5–15.
- [60] G. Layer, J. Moser, D. W. Heinz, D. Jahn, W. D. Schubert, *Embo J.* **2003**, *22*, 6214–6224.
- [61] J. Kim, Y. Lu, W. Buckel, *C. R. Chim.* **2007**, *10*, 742–747.
- [62] M. Hetzel, Dissertation, Philipps-Universität Marburg, **2005**.
- [63] W. Buckel, R. Keese, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1595–1598; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 1502–1506.
- [64] U. Müller, W. Buckel, *Eur. J. Biochem.* **1995**, *230*, 698–704.
- [65] D. M. Smith, W. Buckel, H. Zipse, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 1911–1915; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 1867–1870.
- [66] P. Willadsen, H. Eggerer, *Eur. J. Biochem.* **1975**, *54*, 247–252.
- [67] W. Buckel, *Eur. J. Biochem.* **1980**, *106*, 439–447.
- [68] C. Pitsch, H. Simon, *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.* **1982**, *363*, 1253–1257.
- [69] B. J. Bahnson, V. E. Anderson, G. A. Petsko, *Biochemistry* **2002**, *41*, 2621–2629.
- [70] J. Kim, D. Darley, W. Buckel, *FEBS J.* **2005**, *272*, 550–561.
- [71] D. C. Rees, J. B. Howard, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 559–566.
- [72] H. Schindelin, C. Kisker, J. L. Schlessman, J. B. Howard, D. C. Rees, *Nature* **1997**, *387*, 370–376.
- [73] H. Möbitz, M. Boll, *Biochemistry* **2002**, *41*, 1752–1758.
- [74] B. Thiele, O. Rieder, B. T. Golding, M. Müller, M. Boll, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 14050–14051.
- [75] P. Friedrich, D. J. Darley, B. T. Golding, W. Buckel, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 3298–3301; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3254–3257.
- [76] B. M. Martins, H. Dobbek, I. Çinkaya, W. Buckel, A. Messerschmidt, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 15645–15649.
- [77] U. Näser, A. J. Pierik, R. Scott, I. Çinkaya, W. Buckel, B. T. Golding, *Bioorg. Chem.* **2005**, *33*, 53–66.

- [78] A. Mees, T. Klar, P. Gnau, U. Hennecke, A. P. Eker, T. Carell, L. O. Essen, *Science* **2004**, *306*, 1789–1793.
- [79] J. E. Donnellan, Jr., R. B. Setlow, *Science* **1965**, *149*, 308–310.
- [80] A. Chandor-Proust, O. Berteau, T. Douki, D. Gasparutto, S. Ollagnier-de-Choudens, M. Fontecave, M. Atta, *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 36361–36368.
- [81] B. Jaun, R. K. Thauer, *Met. Ions Life Sci.* **2007**, *2*, 323–356.
- [82] R. K. Hill, G. R. Newkome, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 5893–5894.
- [83] D. K. Onderka, H. G. Floss, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 5894–5896.
- [84] A. Osborne, R. N. Thorneley, C. Abell, S. Bornemann, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 35825–35830.
- [85] O. Dmitrenko, H. B. Wood, Jr., R. D. Bach, B. Ganem, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 4137–4140.
- [86] G. A. Molander, G. Hahn, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 1135–1138.
- [87] J. Yang, G. A. Felton, N. L. Bauld, M. J. Krische, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 1634–1635.
- [88] Editorial, *Science* **2008**, *322*, 12.
- [89] J. Kim, W. Buckel, E. Bill, unveröffentlichte Ergebnisse.

Feeling the Chemistry...

Better Looking, Better Living, Better Loving

How Chemistry can Help You Achieve Life's Goals

John Emsley *Ampthill, Bedfordshire, Great Britain*

Welcome to a tour of some of the recent advances in chemistry, taking in the cosmetic factory, the pharmacy, the grooming salon, the diet clinic, the power plant, the domestic cleaning company, and the art gallery along the way.

Award-winning popular science writer John Emsley is our guide as he addresses questions of grooming, health, food, and sex. The trip is for all those of us wanting to know more about the impact of chemical products on our everyday lives.

May 2007

ISBN: 978-3-527-31863-6

249 Pages • Hardback

 **WILEY-VCH**



13059