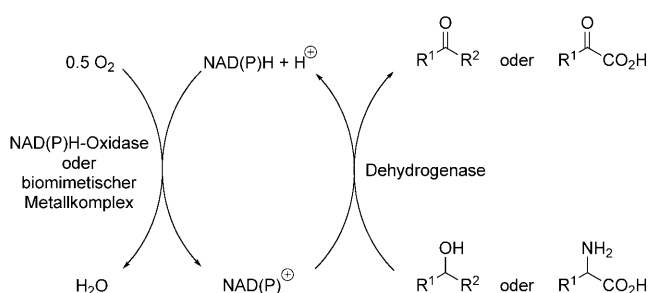


Eisenkatalyse zur In-situ-Regenerierung oxidierten Cofaktoren durch Aktivierung und Reduktion von O₂: ein synthetisches Metalloporphyrin als biomimetische NAD(P)H-Oxidase**

Harald Maid, Philipp Böhm, Stefan M. Huber, Walter Bauer, Werner Hummel, Norbert Jux und Harald Gröger*

Eines der wesentlichen Ziele der biomimetischen Katalyse ist die Entwicklung niedermolekularer synthetischer Verbindungen, die die Funktion eines Enzyms als Katalysator nachahmen können.^[1a] Biomimetische Redoxenzyme sollten dabei einerseits als Katalysatoren in Wasser fungieren können und andererseits Cofaktoren, insbesondere NADH und NADPH (NAD(P) = Nicotinamadeninucleotid-(phosphat)) oder deren oxidierte Formen NAD⁺ bzw. NADP⁺, als Substrate akzeptieren. Die bislang zumeist mithilfe von Biotransformationen erfolgende In-situ-Regenerierung dieser teuren Cofaktoren gilt als Schlüsseltechnik, um enzymatische Redoxreaktionen in effizienter Weise durchführen zu können.^[1b] Für die reduktive Richtung der Cofaktorregenerierung (zur Regenerierung der reduzierten Formen NADH und NADPH) wurde von Steckhan et al. mit einem geeigneten Rhodiumkomplex bereits eine „biomimetische Formiatdehydrogenase“ zur Regenerierung von NAD(P)H durch Oxidation von Ameisensäure zu Kohlendioxid entwickelt.^[2] Für die oxidative Richtung der Cofaktorregenerierung konnten außer NAD(P)H-Oxidasen^[3] als natürlichen Katalysatoren auch chemoenzymatische,^[4] elektrochemische^[5] und auch biomimetische^[6] Katalysatorsysteme angewendet werden. Allerdings liefern die bislang entwickelten biomimetischen Katalysatoren als Nebenprodukt das ungewünschte Wasserstoffperoxid anstelle von (vorzugsweise) Wasser.^[6] Bis dato ist nach unserem Kenntnisstand noch kein biomimetischer Katalysator für die Regenerierung von NAD(P)⁺ aus NAD(P)H durch Aktivierung und Reduktion von molekularem Sauerstoff zu Wasser entsprechend der Wirkungsweise einer NAD(P)H-Oxidase bekannt. Die Wir-

kungsweise einer solchen Wasser produzierenden NAD(P)H-Oxidase ist in Schema 1 gezeigt. Zudem sind bisher nur wenige präparativ geeignete NAD(P)H-Oxidasen – als entscheidende Hilfsmittel für die „oxidative Cofaktorregenerie-



Schema 1. Konzept der NAD(P)H-Oxidase-katalysierten oder biomimetischen In-situ-Cofaktorregenerierung von NAD(P)⁺.

– bekannt, wobei diese teilweise noch dazu durch geringe Stabilitäten unter Prozessbedingungen, unterschiedliche Präferenz für die beiden Cofaktoren NADH und NAD(P)H sowie die Generierung des unerwünschten Nebenprodukts Wasserstoffperoxid (statt Wasser) gekennzeichnet sind.^[1b,3] Auch aus dieser Perspektive wäre die Verfügbarkeit von „künstlichen“, biomimetischen, Wasser bildenden NAD(P)H-Oxidasen wünschenswert und eine wertvolle Alternative zu NAD(P)H-Oxidase-Enzymen in der Synthese.

Hier berichten wir über die Verwendung eines synthetischen, wasserlöslichen Eisen(III)-porphyrins als „künstliche“, biomimetische, Wasser generierende NAD(P)H-Oxidase; dieses Metalloporphyrin ist in gleicher Weise wie diese Enzyme sowohl für die In-situ-Regenerierung der beiden Cofaktoren NAD⁺ und NADP⁺ durch Aktivierung und Reduktion von molekularem Sauerstoff geeignet als auch kompatibel mit verschiedenen präparativen enzymatischen Oxidationsreaktionen. Zudem gelingt damit nach unserem Kenntnisstand erstmals die Anwendung eines synthetischen Metalloporphyrins als Katalysator für die Aktivierung und Reduktion von molekularem Sauerstoff zu Wasser mithilfe eines natürlichen Cofaktors in wässriger Lösung. Darüber hinaus steht damit eine neuartige Möglichkeit zur Verfügung, enzymatische Oxidationsreaktionen unter In-situ-Regenerierung des oxidierten Cofaktors NAD(P)⁺ mithilfe von einem nichtenzymatischen, synthetischen Katalysator als „künstlichem Enzymmimetikum“ durchzuführen.

[*] Dr. H. Maid, P. Böhm, Dr. S. M. Huber, Prof. Dr. W. Bauer, Priv.-Doz. Dr. N. Jux, Prof. Dr. H. Gröger
Department Chemie und Pharmazie
Universität Erlangen-Nürnberg
Henkestraße 42, 91054 Erlangen (Deutschland)
E-Mail: harald.groeger@chemie.uni-erlangen.de

Prof. Dr. W. Hummel
Institut für Molekulare Enzymtechnologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Forschungszentrum Jülich
Stettener Forst, 52426 Jülich (Deutschland)

[**] Wir danken Evonik-Degussa GmbH, Amano Enzymes Inc. und Oriental Yeast Company Ltd. Japan für die großzügige Unterstützung mit Chemikalien sowie der DFG für die großzügige Unterstützung im Rahmen des SFB 583 „Redoxaktive Metallkomplexe“ (Teilprojekt B7).

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201004101> zu finden.

Am Beginn unserer Arbeiten stand die Suche nach einem niedermolekularen und wasserlöslichen Metallkomplex, der den natürlichen Cofaktor NAD(P)H als Hydriddonor zur Aktivierung von molekularem Sauerstoff akzeptiert und dadurch zugleich die Reduktion von Sauerstoff zu Wasser ermöglicht, wobei er als Katalysator regeneriert wird. Da die im aktiven Zentrum der Monooxygenasen integrierte Fe^{III} -Porphyrin-Untereinheit in den einleitenden Schritten der Monohydroxylierung vergleichbare Eigenschaften aufweist (wobei hier ein Ein-Elektronen-Transfer unter Beteiligung von einem weiteren Cofaktor stattfindet),^[7] konzentrierten wir uns beim einleitenden Screening auf niedermolekulare Eisen(III)-Komplexe mit einem wasserlöslichen Porphyrinliganden.^[8,9] Eine Reihe von hoch wasserlöslichen Porphyrinliganden wurde kürzlich von Jux et al. entwickelt.^[10] Die Fe^{III} -Komplexe **1–3**, die auf diesen Porphyrinderivaten mit entweder vierfach/achtfach positiv oder achtfach negativ geladenem Substitutionsmuster basieren, wurden spektrophotometrisch auf ihre Eignung als Katalysatoren für die Oxidation des Cofaktors NADH in Gegenwart von molekularem Sauerstoff unter Generierung der oxidierten Form NAD^+ (und Wasser oder Wasserstoffperoxid als Koppelprodukt) untersucht. Allerdings erwies sich keiner davon im wässrigen Reaktionsmedium als geeignet für die oxidative Umsetzung des Cofaktors NADH zu NAD^+ (Abbildung 1). Eine mögliche Ursache könnte darin bestehen, dass der Zugang des ebenfalls geladenen Cofaktors zum Eisenzentrum erschwert ist, da dieses durch die sterisch anspruchsvollen (geladenen) Substituenten in den Eisen-Porphyrin-Komplexen **1–3** abgeschirmt wird.

Als Alternative verwendeten wir daher den strukturell vereinfachten Eisen(III)-Komplex **4**,^[11] der das ebenfalls wasserlösliche meso-Tetrakis(*p*-sulfonatophenyl)porphyrin (TSPP) als Ligand enthält. Zunächst untersuchten wir spektrophotometrisch die Eignung dieses Eisen-TSPP-Komplexes **4** als Katalysator für die Oxidation des Cofaktors NADH in Gegenwart von molekularem Sauerstoff unter Bildung der oxidierten Form NAD⁺ (und Wasser oder Wasserstoffperoxid als Koppelprodukt). Hierbei wurde der Cofaktor NADH im wässrigen Reaktionsmedium als Substrat akzeptiert und durch Oxidation in NAD⁺ umgewandelt (Abbildung 1). Für die auf die Katalysatormenge (in mg) bezogene Aktivität von **4** wurde ein Wert von 6.3 U mg⁻¹ ermittelt. Diese „biomimetische spezifische Aktivität“ liegt damit in einem präparativ interessanten Aktivitätsbereich. **4** eignet sich auch für die Regenerierung des Cofaktors NADP⁺ durch Oxidation von NADPH, wobei hier eine verminderte, aber immer noch präparativ nützliche spezifische Aktivität von 3.7 U mg⁻¹ (59% im Vergleich zur Aktivität bei Nutzung von NADH) erhalten wurde. Umgerechnet in die für Chemokatalysatoren gebräuchlicheren Umsatzfrequenzen (TOFs) werden Werte von 0.11 bzw. 0.06 s⁻¹ für die Oxidation von NADH bzw. NADPH erhalten. Unseres Wissens ist dies das erste Beispiel für die Eignung eines metallhaltigen Porphyrinkomplexes als Katalysator zur Oxidation der Cofaktoren NADH sowie NADPH mit molekularem Sauerstoff in wässrigem Reaktionsmedium.^[12]

Die guten Ergebnisse der Aktivitätsuntersuchungen des Eisen-TSP- Komplexes **4** veranlassten uns, mit **4** eine kata-

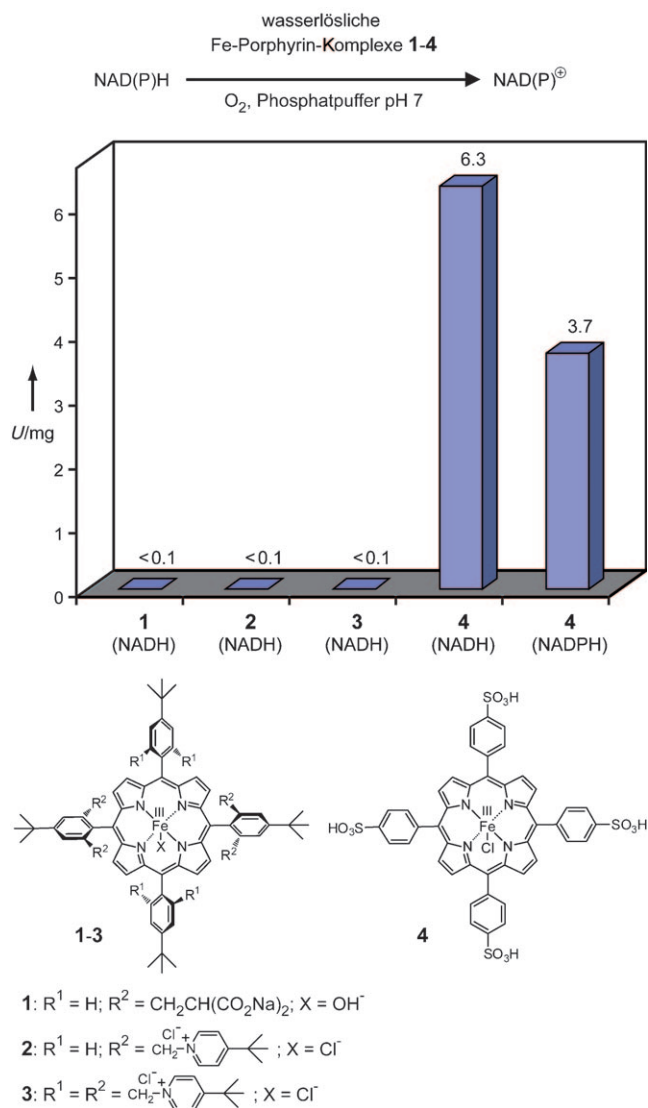
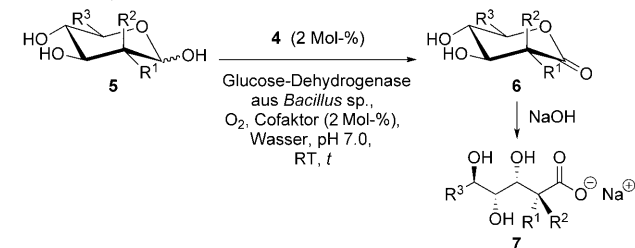


Abbildung 1. Aktivitäten der Eisen(III)-porphyrine **1–4** für die Oxidation von NAD(P)H; die mit **4** als Katalysator erhaltenen Aktivitäten von 6.3 und 3.7 U mg⁻¹ entsprechen Umsatzfrequenzen (TOFs) von 0.11 bzw. 0.06 s⁻¹.

lytische biomimetische Cofaktoroxidation zur In-situ-Cofaktorregenerierung in Kombination mit einer Biotransformation in wässrigem Reaktionsmedium durchzuführen. Der Cofaktor wurde entsprechend in katalytischen Mengen eingesetzt und dadurch die Voraussetzung für eine „biomimetische NAD(P)H-Oxidase“ (entsprechend dem in Schema 1 dargestellten Synthesekonzept) erfüllt. Als gekoppelte Biotransformation wurde die enzymatische Oxidation von D-Glucose (**5a**) zu D-Gluconolacton (**6a**) in Gegenwart einer Glucose-Dehydrogenase ausgewählt, bei der die oxidierte Cofaktorform NAD(P)⁺ benötigt und in die reduzierte Form umgewandelt wird. Anschließend wird das in situ gebildete D-Gluconolacton (**6a**) zur D-Gluconsäure hydrolysiert, die durch Zugabe von Natronlauge unter Bildung des Natriumsalzes der D-Gluconsäure^[13] (**7a**) neutralisiert wird, wodurch der pH-Wert auf pH 7.0 konstant gehalten werden kann.

Tabelle 1: Eisen(III)-porphyrin-katalysierte In-situ-Cofaktorregenerierung bei der enzymatischen Oxidation von Monosacchariden 5.



Nr. ^[a]	Substrat	R ¹	R ²	R ³	Cofaktor	t [h]	Umsatz [%] ^[b]
1	D-Glucose (5a)	OH	H	CH ₂ OH	NADH	24	> 95
2	D-Glucose (5a)	OH	H	CH ₂ OH	NAD ⁺	24	> 95
3	D-Glucose (5a)	OH	H	CH ₂ OH	NADP ⁺	24	> 95
4	D-Mannose (5b)	H	OH	CH ₂ OH	NADP ⁺	113	73
5	D-Xylose (5c)	OH	H	H	NADP ⁺	66	> 95

[a] Versuchsvorschrift siehe Hintergrundinformationen. [b] Der Umsatz ist bezogen auf die Bildung von 7 (produktbezogener Umsatz), wobei keine Bildung von Nebenprodukten bei der enzymatischen Oxidation von 5 beobachtet wird und die Hydrolyse von 6 zu 7 quantitativ verläuft.

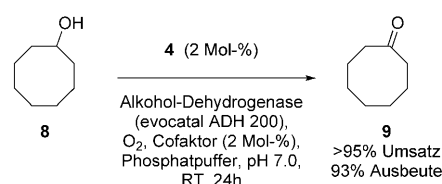
Dieses Syntheseprinzip unter Einsatz des Metalloporphyrins 4 als „biomimetischer NAD(P)H-Oxidase“ ist in Tabelle 1 gezeigt.

In Gegenwart von 2 Mol-% 4 und 2 Mol-% des Cofaktors NADH konnte der Cofaktor regeneriert und in Gegenwart einer Glucose-Dehydrogenase aus *Bacillus* sp. das gewünschte Natriumsalz der D-Gluconsäure (7a) mit > 95 % (produktbezogenem) Umsatz erhalten werden (Tabelle 1, Nr. 1). Auch bei Einsatz der oxidierten Cofaktorform NAD⁺ wurde ein Umsatz von > 95 % erzielt (Tabelle 1, Nr. 2), ebenso wie bei der Verwendung des Cofaktors NADP⁺ (Tabelle 1, Nr. 3). Die Wechselzahlen (TONs) für die Versuche 1–3 liegen jeweils im Bereich von 48–50. Anschließend wurden noch weitere Biotransformationen unter Verwendung anderer Monosaccharide durchgeführt, um die Eignung der entwickelten Methode zur In-situ-Cofaktorregenerierung von NAD(P)⁺ auch für diese Reaktionen zu untersuchen. Tatsächlich gelang ganz analog die Herstellung von D-Mannonsäure (7b) sowie D-Xylonsäure (7c) mit guten bzw. exzellenten (produktbezogenen) Umsätzen von 73 bzw. > 95 %, entsprechend TON-Werten von 37 bzw. 48–50 (Tabelle 1, Nr. 4 bzw. 5).

Die Notwendigkeit, dass alle beteiligten Komponenten (molekularer Sauerstoff, Glucose-Dehydrogenase und 4) für den Katalyseprozess vorliegen müssen, wurde zusätzlich durch negativ verlaufende Kontrollversuche bestätigt, bei denen jeweils eine dieser Komponenten fehlte.^[14] Eine interessante Frage ist die nach der Art des Koppelprodukts, das bei der Reduktion von molekularem Sauerstoff gebildet wird. Bei der früheren biomimetischen Synthese^[6] wie auch teilweise beim Einsatz von NAD(P)H-Oxidasen entsteht als Koppelprodukt das nachteilige Wasserstoffperoxid, das zur

Desaktivierung von beteiligten Enzymen und Cofaktoren führt. Dementsprechend erfordern solche Reaktionen den Einsatz von Katalase zur Zersetzung von Wasserstoffperoxid.^[6] Eine solche Entstehung von Wasserstoffperoxid als Koppelprodukt wäre grundsätzlich auch bei unseren Reaktionen denkbar – da allerdings sowohl Testreaktionen auf Wasserstoffperoxid negativ ausfielen (siehe Hintergrundinformationen) als auch für das Gelingen der Biotransformationen kein Einsatz von Katalase erforderlich ist, kann man davon ausgehen, dass bei unserem Synthesekonzept ein Vier-Elektronen-Transfer auf molekularen Sauerstoff stattfindet, wobei das vorteilhafte Koppelprodukt Wasser entsteht.

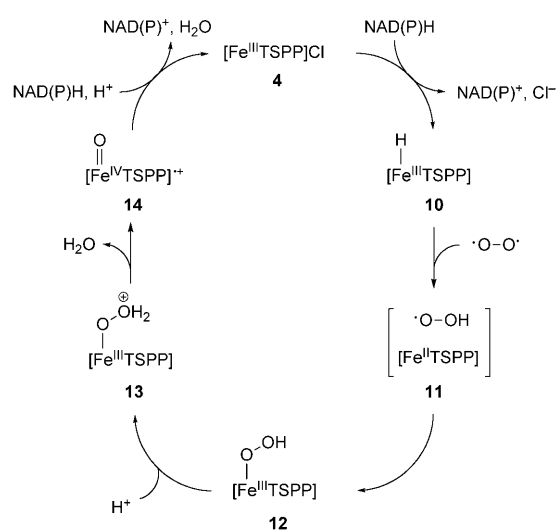
Das als biomimetische NADH-Oxidase identifizierte Metalloporphyrin 4 erwies sich darüber hinaus auch als geeignet für die Cofaktorregenerierung bei anderen Oxidationsreaktionen. Dies sei am Beispiel der oxidativen, Alkohol-Dehydrogenase-katalysierten Modellumsetzung von Cyclooctanol (8) zum Keton verdeutlicht (Schema 2).^[15] In Ge-



Schema 2: Eisen(III)-porphyrin-katalysierte In-situ-Cofaktorregenerierung bei der enzymatischen Oxidation von Cyclooctanol (8).

genwart eines solchen Enzyms wird ausgehend von 8 unter Einsatz von 2 Mol-% des Katalysators 4 und 2 Mol-% des Cofaktors NAD⁺ ein exzellenter Umsatz von > 95 % für die Oxidation zu Cyclooctanon (9) erzielt, das letztlich nach einfacher Isolierung durch Extraktion in 93 % Ausbeute erhalten wird.

Der Katalysemechanismus des Eisen(III)-porphyrins 4 wird wie folgt vorgeschlagen (Schema 3): Ausgehend von 4 und der reduzierten Cofaktorform NAD(P)H bildet sich zu-



Schema 3: Postulierter Reaktionsmechanismus der Eisen(III)-porphyrin-katalysierten In-situ-Cofaktorregenerierung von NAD(P)⁺.

nächst ein Eisen(III)-Hydrid-Komplex **10**,^[16] der anschließend unter Koordination und Reduktion von molekularem Sauerstoff in den Eisen-Hydroperoxo-Komplex **12** überführt wird. Dieser Schritt könnte über eine homolytische Fe-H-Bindungsspaltung unter Bildung eines Komplexes **11**, bestehend aus einer Eisen(II)-Spezies und einem Hydroperoxylradikal, verlaufen. **12** wird nach Protonierung und Abspaltung von Wasser (analog dem Mechanismus der P450-Monooxygenasen) in eine Eisen(IV)-Oxo-Spezies **14** überführt.^[17] Der abschließende Schritt besteht in der Regenerierung des Eisen(III)-porphyrins **4** unter gleichzeitiger Bildung von Wasser als Koppelprodukt.

Zusammenfassend ist es uns mit dem Komplex **4** erstmals gelungen, ein synthetisches Metalloporphyrin als Katalysator für die Aktivierung und Reduktion von molekularem Sauerstoff zu Wasser mithilfe des natürlichen Cofaktors NAD(P)H in wässriger Lösung zu verwenden. Darüber hinaus erwies sich das synthetische, wasserlösliche Eisen(III)-porphyrin **4** als „künstliche“, biomimetische NAD(P)H-Oxidase, die kompatibel mit verschiedenen präparativen enzymatischen Oxidationsreaktionen ist. Damit steht nunmehr eine neuartige Möglichkeit zur Verfügung, in präparativen enzymatischen Oxidationsreaktionen die In-situ-Regenerierung des oxidierten Cofaktors NAD(P)⁺ ausschließlich mithilfe von nichtenzymatischen, synthetischen Katalysatoren durchzuführen. Aufgrund der katalytischen Effizienz und einfachen Verfügbarkeit von **4** kann diese biomimetische Regenerierung der Cofaktoren NAD⁺ und NADP⁺ in Wasser darüber hinaus als Alternative zu enzymatischen Cofaktorregenerierungen mit NAD(P)H-Oxidasen angesehen werden.

Eingegangen am 5. Juli 2010,

veränderte Fassung am 1. Oktober 2010

Online veröffentlicht am 8. Februar 2011

Stichwörter: Cofaktoren · Eisen · Eisenkatalyse · Enzymkatalyse · Porphyrine

- [1] a) Übersicht zur biomimetischen Katalyse: *Artificial Enzymes* (Hrsg.: R. Breslow), Wiley-VCH, Weinheim, **2005**; b) A. Weckbecker, H. Gröger, W. Hummel, *Adv. Biochem. Engin./Biotechnol.* **2010**, *120*, 195–242.
- [2] D. Westerhausen, S. Herrmann, W. Hummel, E. Steckhan, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 1496–1498; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 1529–1531.
- [3] a) W. Hummel, M. Kuzu, B. Geueke, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3649–3650; b) B. Geueke, B. Riebel, W. Hummel, *Enzyme Microb. Technol.* **2003**, *32*, 205–211; c) B. R. Riebel, P. R. Gibbs, W. B. Wellborn, A. S. Bommarius, *Adv. Synth. Catal.* **2003**, *345*, 707–712; d) W. Hummel, B. Riebel, *Biotechnol. Lett.* **2003**, *25*, 51–54; B. R. Riebel, P. R. Gibbs, W. B. Wellborn, A. S. Bommarius, *Adv. Synth. Catal.* **2002**, *344*, 1156–1168.
- [4] Über ein interessantes Beispiel einer chemoenzymatischen Cofaktorregenerierung wurde vor kurzem berichtet in: S. L. Pival, M. Klímacek, B. Nidetzky, *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350*, 2305–2312.
- [5] I. Schröder, E. Steckhan, A. Liese, *J. Electroanal. Chem.* **2003**, *541*, 109–115.
- [6] G. Hilt, B. Lewall, G. Montero, J. H. P. Utley, E. Steckhan, *Liebigs Ann.* **1997**, 2289–2296.
- [7] a) I. Schlichting, J. Berendzen, K. Chu, A. M. Stock, S. A. Maves, D. E. Benson, R. M. Sweet, D. Ringe, G. A. Petsko, S. G. Sligar, *Science* **2000**, *287*, 1615–1622; b) K. Faber, *Biotransformations in Organic Chemistry*, 5. Aufl., Springer, Berlin, **2004**, S. 227–230.
- [8] Dieser Ligand erwies sich in Form seines Mangankomplexes als geeignet zur Umsetzung synthetischer Dihydropyridinderivate mit Flavinmononucleotid (FMN) als Elektronenübertragungsreagens: I. Tabushi, M. Kodera, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 1101–1103.
- [9] Übersichtsartikel zu bioinspirierten oder biomimetischen Eisenkatalysierten Reaktionen: S. Enthaler, K. Junge, M. Beller, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 3363–3367; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3317–3321.
- [10] J.-E. Jee, S. Eigler, N. Jux, A. Zahl, R. van Eldik, *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 3336–3352.
- [11] a) Pionierarbeit zur Synthese und Charakterisierung des Eisen-TSPP-Komplexes **4**: E. B. Fleischer, J. M. Palmer, T. S. Srivastava, A. Chatterjee, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 3162–3167; b) **4** ist kommerziell von TriPorTech GmbH erhältlich (Produktkurzbezeichnung: TSPP-Fe^{III}; Produktnummer: TPT00142617).
- [12] Bisherige Anwendungen von Metall-Porphyrin-Komplexen in Oxidationsreaktionen beruhten entweder auf nichtnatürlichen Nicotinamidderivaten als „NADH-Analoga“ oder verliefen gänzlich mit anderen Oxidationsmitteln als Sauerstoff, z.B. Wasserstoffperoxid, organischen Peroxiden und Iodosylbenzol: a) Lit. [8]; b) S. Othman, V. Mansuy-Mouries, C. Bensoussan, P. Battioni, D. Mansuy, *C. R. Chim.* **2000**, *3*, 751–755; c) G. de Freitas Silva, D. C. da Silva, A. S. Guimaraes, E. do Nascimento, J. S. Reboucas, M. P. de Araujo, M. E. M. D. de Carvalho, Y. M. Idemori, *J. Mol. Catal. A* **2007**, *266*, 274–283.
- [13] Die Entwicklung von Methoden zur Synthese von Zuckersäuren ist wegen deren vielfältiger Anwendung von grundlegendem Interesse. Beispielsweise ist D-Gluconsäure eine im jährlichen 100000-Tonnen-Maßstab biotechnologisch aus D-Glucose produzierte Industriechemikalie für die Lebensmittel-, Metall- und Textilindustrie. Eine kürzlich entwickelte, hocheffiziente chemokatalytische Alternative: a) A. Mirescu, U. Prüße, *Catal. Commun.* **2006**, *7*, 11–17; b) C. Baatz, U. Prüße, *Catal. Today* **2007**, *122*, 325–329.
- [14] H. Maid, S. Huber, P. Böhm, H. Gröger, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [15] Diese als Modellreaktion verwendete Alkohol-Dehydrogenase-katalysierte Oxidation von Cyclooctanol wurde früher unter enzymatischer In-situ-Cofaktorregenerierung durchgeführt: a) T. Itozawa, H. Kise, *Biotechnol. Lett.* **1993**, *15*, 843–846; b) G. L. Lemiere, J. A. Lepoivre, F. C. Alderweireldt, *Bioorg. Chem.* **1988**, *16*, 165–174.
- [16] Bildung verwandter Eisen(III)-Porphyrin-Komplexe aus Eisen(III)-porphyrinen und Natriumborhydrid als Hydriddonor: J.-i. Setsune, Y. Ishimaru, A. Sera, *Chem. Lett.* **1992**, 377–380.
- [17] Über die Bildung von verwandten Eisen(III)-Hydroperoxyl-, Eisen(III)-Peroxo- oder Eisen(IV)-Oxo-Komplexen als reaktiven Zwischenstufen wurde auch im Zusammenhang mit dem Reaktionsmechanismus der enzymatischen Hydroxylierung mit Häm-haltigen P450-Monooxygenasen und nicht Häm-haltigen Monooxygenasen berichtet; ausgewählte Beiträge: a) Lit. [7]; b) L. Que, Jr., *J. Biol. Inorg. Chem.* **2004**, *9*, 643–690; c) L. Que, Jr., W. B. Tolman, *Nature* **2008**, *455*, 333–340.