

Die *E.-coli*-Siderophore Enterobactin und Salmochelin bilden sechs-fach koordinierte Siliciumkomplexe bei physiologischen pH-Werten**

Timo Schmiederer, Saskia Rausch, Marianne Valdebenito, Yogita Mantri, Eva Mösker, Todor Baramov, Kamil Stelmaszyk, Peter Schmieder, Diane Butz, Silke I. Müller, Kathrin Schneider, Mu-Hyun Baik, Klaus Hantke und Roderich D. Süßmuth*

Professor Siegfried Blechert zum 65. Geburtstag gewidmet

Eisen ist essenziell für das Leben nahezu aller Organismen, da es eine Schlüsselkomponente vieler Metalloenzyme ist, die entscheidend für das Zellwachstum sind. Die meisten Bakterienarten brauchen im Medium eine Fe^{3+} -Konzentration von 10^{-6} – 10^{-5} M. Allerdings ist Fe^{3+} unter aeroben Bedingungen biologisch nicht verfügbar, da es in Wasser kaum lösliches Eisenhydroxid bildet. Bei pH 7.4 liegt lösliches Eisen im Gleichgewicht mit polymeren Aquohydroxo-Eisenkomplexen in einer Konzentration von 10^{-10} M vor.^[1a] Um Eisen aus ihrer Umgebung aufzunehmen zu können, synthetisieren Bakterien und Pilze spezielle niedermolekulare Chelatoren, genannt Siderophore, die eine hohe Fe^{3+} -Affinität aufweisen. Hierbei kommen Catechol-, Hydroxamat- oder Carboxylatreste als Chelatorgruppen zum Einsatz. Von allen bekannten Siderophoren hat Enterobactin (Ent), das von *E.-coli*- und *Salmonella*^[2]-Stämmen produziert wird, die höchste bekannte Komplexbildungskonstante. Im menschlichen Körper findet man Eisen vor allem gebunden an spezielle Transportproteine, wie Transferrin und Lactoferrin, oder als

zentralen Bestandteil von Eisenspeicherproteinen und Hämproteinen, wie Ferritin, Myoglobin und Hämoglobin oder in P450-Monooxygenasen. Die Komplexbildungskonstanten dieser Proteine sind jedoch sehr viel niedriger als die der bakteriellen Siderophore, weshalb Siderophore in der Lage sind, proteingebundenes Eisen aus dem menschlichen Körper zu extrahieren.^[3] Aus diesem Grund werden Siderophore als Virulenzfaktoren angesehen.

Vor kurzem konnte Salmochelin (2, Schema 1), ein aus uropathogenen *E.-coli*- und *Salmonella-enterica*-Stämmen isoliertes Siderophor, als C-glycosyierte Form von Enterobactin charakterisiert werden.^[4,5] Nun haben wir die überraschende Entdeckung gemacht, dass Enterobactin und Salmochelin Si^{IV} mit einer hohen Affinität binden können. Sie sind damit die ersten Naturstoffe, die Siliciumkomplexe bilden, die unter physiologischen Bedingungen stabil sind. Zusätzlich weisen unsere Untersuchungen auf die Bildung eines sechs-fach koordinierten Komplexes mit oktaedrischer Koordinationsgeometrie hin. Hypervalente Siliciumkomplexe und insbesondere sechs-fach koordinierte Siliciumkomplexe wurden in der Vergangenheit durch Anorganiker intensiv erforscht.^[6,7] In der Literatur wurde über die Synthese kationischer,^[8] anionischer^[7] und neutraler^[9,10] sechs-fach koordinierter Siliciumkomplexe berichtet. Diese Verbindungen wurden in einem biologischen Kontext bisher nicht gründlich erforscht. Die Entdeckung eines transienten sechs-fach koordinierten Siliciumkomplexes in der Kieselalge *Navicula pelliculosa*^[11] stellt hier eine Ausnahme dar.

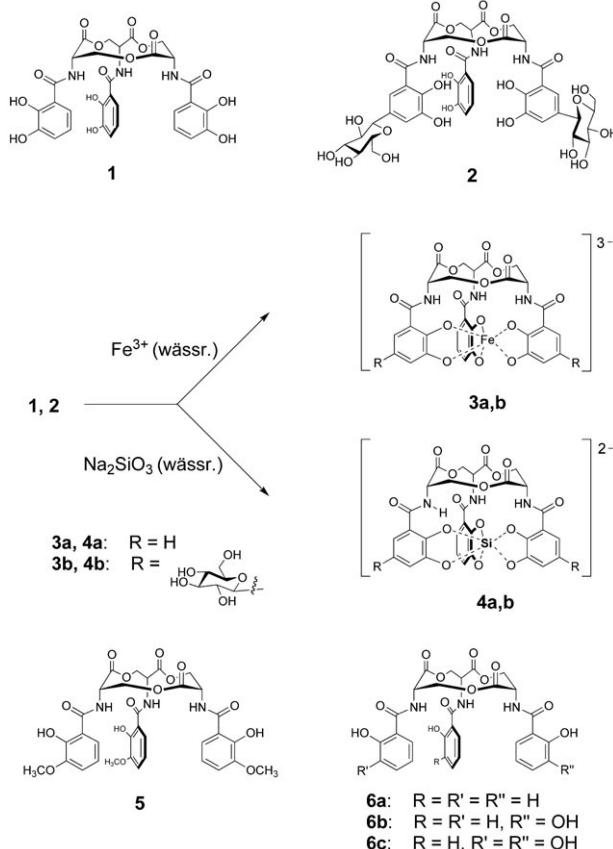
Die Siliciumkomplexe von Ent (1) und Sal (2) wurden in Kulturfiltraten von in Glaskolben gezüchteten *E.-coli*-Kulturen bei der Analyse mit HPLC-ESI-MS entdeckt und hatten ein Signal für $[\text{M}-\text{H}]^-$ (692 Da) mit einer Massendifferenz von $\Delta m = 24$ amu im Vergleich zu Enterobactin und ein Signal für $[\text{M}-\text{H}]^-$ (1016 Da) mit einer Massendifferenz von $\Delta m = 24$ amu im Vergleich zu Salmochelin. Ausgehend von ihrer Massensignatur erwarteten wir eine enge strukturelle Korrelation dieser Verbindungen. Die exakten Molekülmassen für Enterobactin, Salmochelin und ihre Siliciumkomplexe Si-Ent (4a) und Si-Sal (4b) wurden durch hochauflösende ESI-Orbitrap-MS bestimmt: $[\text{M}-\text{H}]^-$: 692.0809 (4a; $\text{C}_{30}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_{15}\text{Si}$) und $[\text{M}-\text{H}]^-$: 1016.1865 (4b; $\text{C}_{42}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{O}_{25}\text{Si}$) (siehe die Hintergrundinformationen). Die Bildung der Siliciumkomplexe wird demnach formal durch den Verlust von vier Protonen begleitet. Durch Inkubation von Enterobactin (1) und Salmochelin (2) mit Wasserglas (Na_2SiO_3) unter physiologischen Bedingungen (pH 7.6) in

[*] T. Schmiederer,^[4] S. Rausch,^[4] E. Mösker, T. Baramov, K. Stelmaszyk, D. Butz, K. Schneider, Prof. Dr. R. D. Süßmuth
Technische Universität Berlin
10623 Berlin (Deutschland)
Fax: (+49) 30-314-79651
E-Mail: suessmuth@chem.tu-berlin.de
M. Valdebenito, S. I. Müller, Prof. Dr. K. Hantke
Eberhard-Karls-Universität Tübingen
72076 Tübingen (Deutschland)
Dr. P. Schmieder
Leibniz-Institut für Molekulare Pharmakologie (FMP)
13125 Berlin (Deutschland)
Y. Mantri, Prof. Dr. M.-H. Baik
Department of Chemistry, Indiana University
Bloomington, IN 47405 (USA)

[†] Diese Autoren haben im gleichen Maße zu dieser Veröffentlichung beigetragen.

[**] Wir danken der DFG (SU239/10-1 und HA485/3-3,4) und der NSF (CHE-0645381 und CNS-0521433) für finanzielle Hilfe sowie der Research Foundation für einen Cottrell Award (M.H.B.) und der Sloan Foundation für ein Sloan Fellowship (M.H.B.). Wir danken Prof. Dr. Matthias Drieß, TU Berlin, für die hilfreiche Diskussion und Graeme Nicholson für die Aufnahme der ESI-FT-ICR-Massenspektren.

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag (ausführliche Beschreibung der Experimente) sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201005792> zu finden.



Schema 1. Strukturen von Catecholat-Siderophoren: Modelle der Eisen- (3) und Siliciumkomplexe (4) der natürlichen Siderophore Enterobactin (Ent) und Salmochelin (Sal) sowie die Strukturen der synthetischen Modell-Siderophore 5 und 6a–c.

Pufferlösung konnte die Bildung von Si-Ent und Si-Sal als monomere Komplexe reproduziert werden. Zudem konnten präparative Mengen an Si-Ent und Si-Sal gebildet und mit Hilfe von Festphasenextraktion (solid phase extraction, SPE) und präparativer HPLC isoliert werden (siehe die Hintergrundinformationen).

Im 1D-²⁹Si-NMR-Spektrum zeigte sich sowohl für Si-Sal als auch für Si-Ent ein einzelnes Signal bei $\delta = -140$ ppm (Abbildung 1). Diese chemische Verschiebung ist in den meisten untersuchten Fällen charakteristisch für Hexaoxo-Siliciumkomplexe^[12–14] ($\delta^{29}\text{Si} = -135$ bis -145 ppm), während chemische Verschiebungen von $\delta = -71$ bis -110 ppm typisch für Tetraoxo- und von $\delta = -98$ bis -110 ppm typisch für Pentaoxo-Siliciumkomplexe sind. Ausgehend von den NMR-Daten kann daher ein hexaoxokoordiniertes Siliciumatom vermutet werden. Die NMR-Daten geben jedoch keinen Hinweis auf die Beteiligung der C-glykosidisch gebundenen Zucker an der Komplexierung des Siliciums. Für den Fe^{3+} -Enterobactinkomplex wurden zwei unterschiedliche Bindungstypen vorgeschlagen, die Catechol- und die Salicylatbindung, wobei der Protonierungsgrad bestimmt, welcher Bindungstyp bevorzugt wird.^[15] Der Vergleich der IR- und NMR-Spektren von Enterobactin und Salmochelin mit den Spektren der jeweiligen Siliciumkomplexe liefert Hinweise

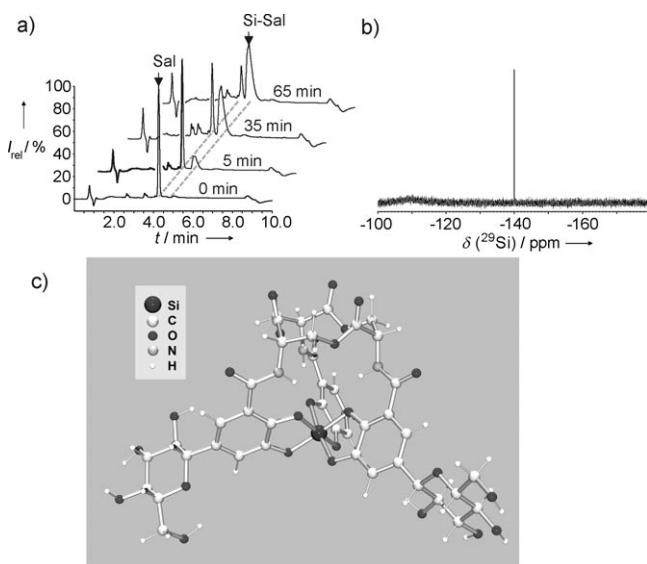


Abbildung 1. Untersuchung des Silicium-Salmochelin-Komplexes. a) In-vitro-Umwandlung von Salmochelin (2) in Si-Sal (4b), detektiert mit HPLC-ESI-MS. Die Chromatogramme zeigen die zeitliche Abnahme von Salmochelin und die Zunahme von Si-Sal (100 mM Tris, 10 mM Si^{IV} (Na_2SiO_3), pH 7.6). b) 1D-²⁹Si-NMR-Spektrum von Si-Sal ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$; Standard: TMS) mit einem Signal bei $\delta = -140$ ppm. c) errechnete Struktur von Si-Sal.

darauf, dass bei der Siliciumbindung alle drei Catecholatgruppen beteiligt sind (siehe die Hintergrundinformationen). Zum Beispiel zeigt sich in den IR-Spektren keine Verschiebung der Banden für die Carbonylgruppen der Benzoesäuren, was nicht für eine direkte Beteiligung dieser Funktionen an der Komplexierung spricht.

Um die Frage des möglichen Bindungstyps zu untersuchen, wurde 3-Methoxy-Enterobactin **5** (SER(3M)SAM) nach einer literaturbekannten Vorschrift^[15] synthetisiert. Im Vergleich zu Enterobactin sind bei **5** die drei 3-Hydroxygruppen blockiert, weshalb es mit Fe^{3+} nur zur Bildung eines Salicylatkomplexes kommen kann. Für unser Experiment haben wir die Bindung von Fe^{3+} und Silicium durch beide Systeme unter identischen Bedingungen mit FeCl_3 und Na_2SiO_3 in wässriger Lösung untersucht. Genau wie in der Literatur beschrieben, konnte die Bindung von Fe^{3+} für beide Systeme mit ESI-MS detektiert werden. Die Bildung des Siliciumkomplexes erfolgte jedoch nur mit Enterobactin. Zusätzlich wurden zeitabhängige NMR-Messungen durchgeführt, bei denen Silicium in Form von $\text{Si}(\text{OMe})_4$ zu Lösungen von **1** und **5** in $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ zugesetzt wurde. Auch hier konnte für **1** ein Umsatz zum Si-Ent-Komplex (**4a**) innerhalb von 24 h detektiert werden, während das ¹H-NMR-Spektrum von **5** über den gesamten Messzeitraum unverändert blieb. Sowohl massenspektrometrische Experimente als auch das NMR-Experiment sprechen gegen den Salicylatbindungstyp.

Um die sterische Hinderung durch den Methoxyrest von **5** weiter zu untersuchen, wurde eine statistische Mischung der Verbindungen **6a–c** sowie Enterobactin **1** synthetisiert (siehe die Hintergrundinformationen) und auf Si^{IV} -Bindung getestet. Bei ESI-MS-Messungen mit Direktinjektion konnten keine Siliciumkomplexe von SERSAM (**6a**) oder SERCAM-

(SAM)₂ (**6b**), die beide auf den Salicylatbindungstyp angewiesen wären, detektiert werden (siehe die Hintergrundinformationen). Als Interpretation dieser Ergebnisse postulieren wir die Bildung von anionischen, oktaedrisch koordinierten Siliciumkomplexen durch Enterobactin und Salmochelin, wie sie in Schema 1 dargestellt sind. Genauere Aussagen über die Koordinationsgeometrie werden jedoch erst nach kristallographischen Studien der Siliciumkomplexe und weiteren Studien mit Enterobactin- und Salmochelinderivaten möglich sein.

Um eine bessere Vorstellung von den Siliciumkomplexen zu bekommen, haben wir quantenchemische Simulationen kombiniert mit klassischen Moleküldynamikrechnungen durchgeführt. Wir schätzen, dass die freie Bindungsenthalpie in Lösung für Salmochelin um 25 kcal mol⁻¹ kleiner ist als für Enterobactin. Auch wenn das Ausmaß dieser Energiedifferenz unrealistisch und etwas zu groß geraten sein könnte, zeigt dieser Wert doch einen eindeutigen Trend. Die lokalen Strukturen der Si-Bindung in Enterobactin und Salmochelin sind identisch in Si-O-Bindungslänge und Koordination, was darauf hindeutet, dass die Glycosylierung an sich zu keiner Verstärkung der Si-O-Bindung führt. Die errechnete Struktur des Si-Sal-Komplexes ist in Abbildung 1 zu sehen. In Abbildung 2 ist das von uns vorgeschlagene Bindungskonzept unter physiologischen Bedingungen gezeigt.

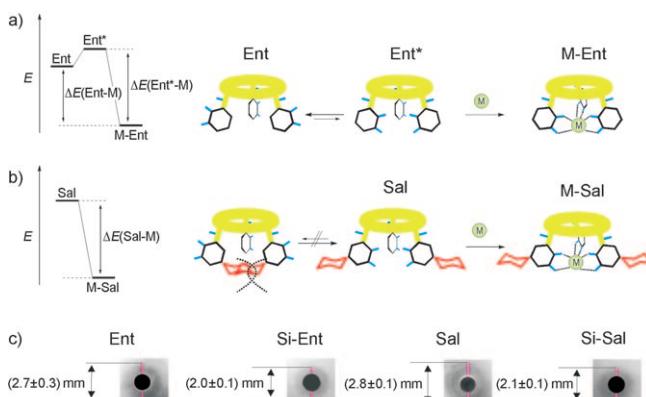


Abbildung 2. Konzept der Siliciumbindung durch a) Enterobactin und b) Salmochelin. c) Auswirkung von Enterobactin (Ent), Salmochelin (Sal), Si-Enterobactin (Si-Ent) und Si-Salmochelin (Si-Sal) auf den Wachstum eines *E. coli*-Stamms unter Eisenmangelbedingungen.

Die unterschiedliche Ausgangssituation von Enterobactin und Salmochelin bedingt den energetischen Unterschied. Beim freien Enterobactin (**1**) sind die hydrophilen Hydroxygruppen nach außen gerichtet, wo sie mit Wassermolekülen in Kontakt treten können und so ein hydrophobes Zentrum im Molekül bilden, ähnlich wie bei dem „hydrophoben Kollaps“ (hydrophobic collapse) von Proteinen. Durch die Glycosylierung der Phenylgruppe an C5 werden beim Salmochelin (**2**) die Hydroxygruppen aus sterischen Gründen gezwungen, sich nach innen zu richten, und sind daher weniger solvatisiert. Dadurch ist der Drang, ein Proton abzugeben und ein stark geladenes Kation zu binden, bei Salmochelin (**2**) stärker als bei Enterobactin (**1**). Für die Bindung von Silicium muss bei Enterobactin die hydrophile Seite der Catechol-

gruppe zunächst nach innen drehen, um das konzeptionelle Konformer Ent* (Abbildung 2) zu bilden. Bei Salmochelin liegt die Catecholgruppe bereits in der richtigen Orientierung vor, um Silicium zu binden (Abbildung 2). Nach unseren Berechnungen beträgt die Enthalpiedifferenz der Bindung in der Gasphase 10 kcal mol⁻¹ zugunsten von Salmochelin, was wir auf die für Enterobactin notwendige Rotationsbewegung zurückführen. Ein weiterer energetischer Beitrag resultiert aus dem Verlust der Solvatisierungsenergie, die im Fall von Enterobactin eine größere Rolle spielen sollte, da der Kontakt der Hydroxygruppen des Reaktanten mit dem polaren Lösungsmittel eine sehr viel größere Solvatisierungsenergie bewirken sollte, als wenn diese Gruppen für die Bindung von Silicium genutzt würden. Im Fall von Salmochelin ist eine sehr viel geringere Einbuße an Solvatisierungsenergie zu erwarten, da die Hydroxygruppen bereits nach innen zeigen. In unseren Berechnungen lässt sich dieser Effekt auf 16 kcal mol⁻¹ quantifizieren.

Wenn die berechneten Energien auch mit Vorsicht zu betrachten sind, ist das ihnen zugrundeliegende Bindungskonzept doch plausibel und führt zu dem Ergebnis, dass die Glycosylierung von Enterobactin generell eine bessere Bindung von Ionen in polaren, am besten wässrigen Lösungsmitteln bewirkt. Das von uns vorgeschlagene Bindungskonzept stellt daher eine einfache, aber effektive Strategie dar, die Affinität von Siderophoren für Liganden zu modifizieren, die zukünftig auch technisch genutzt werden könnte. Während die intrinsische Bindungsenergie zwischen dem Kation und dem Kontaktatom des Liganden an sich unverändert bleibt, könnte die Bindungskonstante eingestellt werden, indem die Bindungstasche energetisch anspruchsvoller gestaltet wird. Unter physiologischen Bedingungen spielt jedoch die bessere Löslichkeit und daher bessere Verfügbarkeit der glycosylierten Form von Enterobactin die wichtigere Rolle für sein Kationenbindungsvermögen.

Um das Bindungsverhalten von Enterobactin und Salmochelin gegenüber Silicium und Eisen zu vergleichen, wurden drei Experimente durchgeführt. Zum einen ein Konkurrenzexperiment, bei dem Enterobactin oder Salmochelin in wässriger Lösung sowohl mit Eisen als auch mit Silicium in stöchiometrischen Konzentrationen inkubiert wurden. Da die Eisenbindung in beiden Fällen sehr viel schneller eintrat, konnten in diesem Experiment vor allem die Eisenkomplexe detektiert und nur Spuren der Siliciumkomplexe gefunden werden. Im zweiten Experiment wurde die Verdrängung von Silicium aus bereits gebildeten Siliciumkomplexen getestet. Si-Ent und Si-Sal wurden hierzu mit einer stöchiometrischen Menge an Fe³⁺ inkubiert. Es konnte keine signifikante Verdrängung von Silicium durch Eisen detektiert werden. Im letzten Experiment wollten wir testen, ob es zu einem Austausch von Silicium zwischen beladenen und freien Siderophoren kommen kann. Hierfür wurde Si-Ent mit Sal bzw. Si-Sal mit Ent inkubiert. Die Ergebnisse deuten bestenfalls einen sehr langsamen Austausch an. Die Ergebnisse der beschriebenen Experimente sind in den Hintergrundinformationen aufgeführt.

Es wurden auch Siliciumbindungstests mit weiteren bakteriellen Siderophoren durchgeführt, u. a. Aerobactin, Virobactin und Yersiniabactin, um zu testen, wie weit die

Fähigkeit, Silicium zu komplexieren, unter Siderophoren verbreitet ist (siehe die Hintergrundinformationen). Während Enterobactin und Salmochelin unter identischen Bedingungen vollständig zu ihren Siliciumkomplexen umgesetzt wurden, bildeten Vibriobactin, Desferricoprogen und Desferrioxamin nur Spuren von Siliciumkomplexen. Aerobactin und Yersiniabactin bildeten gar keine Siliciumkomplexe, was wieder für die bessere Eignung von Catecholgruppen für die Siliciumbindung spricht.

Außerdem wurde der Einfluss von Ent, Sal, Si-Ent und Si-Sal auf das Wachstumsverhalten eines *E. coli*-Stamms in einem EDDHA/4,4'-Bipyridyl-Assay getestet (siehe die Hintergrundinformationen). Enterobactin und Salmochelin bewirken ein deutlich stärkeres Wachstum als ihre Siliciumkomplexe (Abbildung 2). Folglich konnten Si-Enterobactin und Si-Salmochelin in vivo von *E. coli* nicht für die Eisenkomplexierung herangezogen werden, was zu den in vitro bestimmten Bindungseigenschaften passt. Weitere Tests zeigten, dass die Eisenaufnahme selbst durch die Gegenwart von Si-Salmochelin nicht beeinflusst wird (siehe die Hintergrundinformationen).

In den letzten Jahren sind Anorganikern bemerkenswerte Fortschritte in der Synthese hypervalenter Siliciumkomplexe gelungen,^[14,16] und die Bildung und Struktur dieser Komplexe ist noch immer ein stark bearbeitetes Gebiet.^[7] Die Komplexierung von Silicium durch Catechol,^[17] Organosilane,^[16] Thiocyanate^[18] und eine Vielzahl weiterer Liganden^[6,7] wurde beschrieben. Der Fund von Siliciumkomplexen der bakteriellen Siderophore Enterobactin und Salmochelin stellt die erstmalige Beobachtung von hypervalenten Siliciumkomplexen in einem Naturstoff unter physiologischen Bedingungen dar. Diese Entdeckung eröffnet einen interessanten Blickwinkel auf die Siliciumchemie in einem biochemischen Kontext. Außerdem werfen diese Entdeckungen neue Fragen zur Funktion von Siderophoren, aber auch zur Rolle von Siliciumkomplexen und Silicium unter biologischen Gesichtspunkten auf. Anders als für Silicium ist die Komplexierung des Halbmetalls Bor durch einen Sekundärmetaboliten im Antibiotikum Boromycin seit 1967^[19,20] bekannt und seit kürzerer Zeit auch die Komplexierung durch die Siderophore Vibrioferin und Petrobactin.^[21] Unsere Ergebnisse zeigen nun, dass die Siliciumbindung durch die Siderophore Enterobactin und Salmochelin unter physiologischen Bedingungen nicht nur möglich ist, sondern man kann sogar vermuten, dass Enterobactin und Salmochelin in siliciumreicher Umgebung wie im Erdboden,^[22] in Urin^[23] oder im Meerwasser (Si^{IV} 2.9 ppm/Fe³⁺ 0.0034 ppm)^[24] in signifikanten Mengen als Si-Ent und Si-Sal vorliegen. Vor kurzem wurde berichtet, dass bestimmte Bakterien in der Lage sind, Eisensilicat-Mineralien wie Hornblende (48% SiO₂, 11% Fe₂O₃) zu ätzen.^[22] Siderophore des Catecholat-Typs wären plausible Kandidaten für die Freisetzung von Fe³⁺-Ionen aus dem Silicatverbund in Mineralien. Da Enterobactin und Salmochelin vor allem von humanen und tierischen Pathogenen produziert werden (*Salmonella* und uropathogene *E. coli*-Stämme), ist die biologische Funktion der Siliciumbindung unklar. Silicium wird im menschlichen Körper aktiv über die Nierenglomeruli in den Urin abgesondert, weshalb die Siliciumkonzentration im Urin 20- bis 100-fach höher ist als im Serum. Für gesunde

Personen liegt der Wert der Siliciumkonzentration im Urin üblicherweise bei 280 µM^[23] und damit deutlich über der Eisenskonzentration, die auf 1–2 µM^[25] geschätzt wird. Die hohe Siliciumkonzentration im Urin könnte bei Infektionen der Harnwege eine Rolle spielen, da sie die Bildung von Si-Ent und Si-Sal begünstigt und die Bildung der Eisenkomplexe unterdrückt und damit die Pathogenität hemmt. Es ist jedoch nicht zu erwarten, dass dieser Effekt sehr stark ist, da die Eisenkomplexierung sehr viel schneller erfolgt als die Siliciumkomplexierung. In ersten Untersuchungen zeigte sich kein Einfluss von Silicium auf das Wachstum von *E. coli* K-12 (kann nur Enterobactin produzieren) unter Eisenmangelbedingungen. Uropathogene *E. coli*-Stämme können außerdem die Siderophore Aerobactin und Yersiniabactin produzieren, welche Silicium nicht komplexieren. Durch die Produktion von strukturell verschiedenen Siderophoren können Organismen womöglich ihre Eisenzufuhr gegen die Komplexierung ungewollter Ionen absichern. Eine wichtige biologische Funktion von Silicium ist es, mechanische Stabilität zu verleihen, z. B. in Form von Silicaten, die von Pflanzen, manchen Schwämmen und marinen Einzellern wie Kieselalgen oder Radiolarien^[20,21] eingelagert werden. Auch „Quorum-sensing“-Funktionen, wie sie kürzlich für borhaltige Siderophore vorgeschlagen wurden,^[21] können für die Silicium-Siderophor-Komplexe nicht ausgeschlossen werden. Die Entdeckung von wichtigen Enzymen für die Enterobactin-Biosynthese in der Kieselalge *Thalassiosira pseudonana* und die kürzliche Entdeckung eines gemeinsamen Stoffwechselwegs für den Si- und Fe-Metabolismus^[26] lassen das Mitwirken von Catecholen oder ähnlichen Strukturen im Si-Metabolismus vermuten.^[27] Es scheint vorstellbar, dass die Aufnahme von Silicium auf ähnliche Weise erfolgt wie die Aufnahme von Eisen.

Eingegangen am 16. September 2010,
veränderte Fassung am 30. November 2010
Online veröffentlicht am 6. April 2011

Stichwörter: Bioanorganische Chemie · Naturstoffe · Siderophore · Silicium

- [1] a) H. Boukhalfa, A. L. Crumbliss, *Biometals* **2002**, *15*, 325–339;
b) S. C. Andrews, A. K. Robinson, F. Rodríguez-Quiñones, *FEMS Microbiol. Rev.* **2003**, *27*, 215–237.
- [2] K. N. Raymond, E. A. Dertz, S. S. Kim, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 3584–3588.
- [3] K. D. Smith, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2007**, *39*, 1776–1780.
- [4] K. Hantke, G. Nicholson, W. Rabsch, G. Winkelmann, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 3677–3682.
- [5] B. Bister, D. Bischoff, G. J. Nicholson, M. Valdebenito, K. Schneider, G. Winkelmann, K. Hantke, R. D. Süssmuth, *Bio-metals* **2004**, *17*, 471–481.
- [6] R. R. Holmes, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 927–950.
- [7] C. Chuit, R. J. P. Corriu, C. Reye, J. C. Young, *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1371–1448.
- [8] B. K. Kim, S. B. Choi, S. D. Kloos, P. Boudjouk, *Inorg. Chem.* **2000**, *39*, 728–731.
- [9] D. Kost, I. Kalikhman, S. Krivonos, D. Stalke, T. Kottke, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4209–4214.
- [10] O. Seiler, C. Buschka, T. Fenske, D. Troegel, R. Tacke, *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 5419–5424.

- [11] S. D. Kinrade, A.-M. E. Gillson, C. T. G. Knight, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **2002**, 307–309.
- [12] S. D. Kinrade, R. J. Hamilton, A. S. Schach, C. T. G. Knight, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **2001**, 961–963.
- [13] J. A. Cella, J. D. Cargioli, E. A. Williams, *J. Organomet. Chem.* **1980**, *186*, 13–17.
- [14] O. Seiler, C. Burschka, M. Fischer, M. Penka, R. Tacke, *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 2337–2346.
- [15] R. J. Abergel, J. A. Warner, D. K. Shuh, K. N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8920–8931.
- [16] P. Gualco, M. Mercy, S. Ladeira, Y. Coppel, L. Maron, A. Am-goune, D. Bourissou, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 10808–10817.
- [17] A. Rosenheim, B. Raibman, G. Schendel, *Anorg. Chem.* **1931**, *196*, 160–176.
- [18] G. González-García, E. Alvarez, a. Marcos-Fernández, J. A. Gutiérrez, *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 4231–4238.
- [19] R. Hütter, W. Keller-Schierlein, F. Knüsel, V. Prelog, G. C. Rodgers, Jr., P. Suter, G. Vogel, W. Voser, H. Zähner, *Helv. Chim. Acta* **1967**, *50*, 1533–1539.
- [20] J. D. Dunitz, D. M. Hawley, D. Miklos, D. N. White, Y. Berlin, R. Marusić, V. Prelog, *Helv. Chim. Acta* **1971**, *54*, 1709–1713.
- [21] W. R. Harris, S. A. Amin, F. C. Küpper, D. H. Green, C. J. Car-rano, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12263–12271.
- [22] H. L. Buss, A. Lüttege, S. L. Brantley, *Chem. Geol.* **2007**, *240*, 326–342.
- [23] N. B. Roberts, P. Williams, *Clin. Chem.* **1990**, *36*, 1460–1465.
- [24] K. S. Johnson, K. H. Coale, H. W. Jannasch, *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 1065A–1075A.
- [25] M. Valdebenito, A. L. Crumbliss, G. Winkelmann, K. Hantke, *Int. J. Med. Microbiol.* **2006**, *296*, 513–520.
- [26] T. Mock et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 1579–1584.
- [27] E. V. Armbrust et al., *Science* **2004**, *306*, 79–86.