

# Ein funktionelles Strukturmodell für die 1-Aminocyclopropan-1-carbonsäure-Oxidase\*\*

Madleen Sallmann, Fabio Oldenburg, Beatrice Braun, Marius Réglier, A. Jalila Simaan\* und Christian Limberg\*

**Abstract:** Das bislang realistischste niedermolekulare Analogon für die 1-Aminocyclopropan-1-carbonsäure-Oxidase (ACCO) wird beschrieben. Das aktive Zentrum der ACCO, bestehend aus einer 2-His-1-Carboxylateisen(II)-Spezies, wurde durch eine Tp-Eisen-Einheit nachgeahmt, welche in der Lage ist, ACC zu binden. Der resultierende Komplex [ $Tp^{Me,Ph}FeACC$ ] (**I**) stellt entsprechend einer für das Nickel-derivat durchgeföhrten Röntgenstrukturanalyse ein hervorragendes Strukturmodell dar, da es, wie für das Enzym vorgeschlagen, das ACC zweizähnig koordiniert und eine freie Koordinationsstelle verbleibt. Letztere ermöglichte erstmals auch die Nachahmung der Funktion: **I** ist der erste bekannte ACC-Komplex, der in der Reaktion mit Sauerstoff Ethylen produziert. Da als Teil des katalytischen Zyklus unter anderem ein FeOOH-Intermediat vorgeschlagen worden war, wurde auch  $H_2O_2$  als Oxidationsmittel geprüft. Tatsächlich konnte eine noch schnellere Ethylen-Entwicklung mit einer Ausbeute von 65 % nachgewiesen werden.

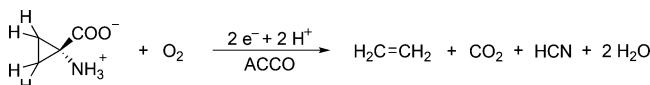
Ethylen ist ein gasförmiges Hormon für Pflanzen, das die Fruchtreifung induziert.<sup>[1]</sup> Es wird durch Oxidation der Aminosäure 1-Aminocyclopropan-1-carbonsäure mit  $O_2$  als Oxidationsmittel und Ascorbat als Koreduktionsmittel produziert, vermittelt durch das Enzym 1-Aminocyclopropan-1-carbonsäure-Oxidase (ACCO).<sup>[2]</sup> Gleichzeitig werden  $CO_2$  und HCN gebildet (Schema 1). Aus bislang nicht vollständig

verstandenen Gründen benötigt das Enzym darüber hinaus  $CO_2$  (oder Bicarbonat-Ionen), um seine Reaktivität zu entfalten.

Schofield und Mitarbeiter veröffentlichten 2004 die Kristallstruktur der ACCO aus *Petunia hybrida*.<sup>[3]</sup> Demnach gehört das Enzym zur Familie der Nicht-Häm-Eisen-Enzyme, die die sogenannte faciale 2-His-1-Carboxylat-Triade als Strukturmerkmal aufweisen: Das aktive Zentrum enthält ein Eisen(II)-Ion, das facial von zwei Histidinen und einem Aspartat koordiniert wird, sodass drei freie Koordinationsstellen für die ACC- und  $O_2$ -Bindung zur Verfügung stehen. Der Reaktionsmechanismus, der der Umsetzung in Schema 1 zugrundeliegt, wird noch immer kontrovers diskutiert, allgemein akzeptiert ist allerdings, dass die Oxidation von ACC radikalisch mit zwei sukzessiven Einelektronenübertragungsschritten verläuft.<sup>[4]</sup> Spektroskopische Studien haben gezeigt, dass ACC im ersten Schritt zweizähnig an das Fe<sup>II</sup>-Ion bindet. Anschließend erfolgt vermutlich die  $O_2$ -Aktivierung unter Bildung eines Fe<sup>III</sup>-Superoxo-Intermediats.<sup>[5]</sup> Für den weiteren Verlauf wurden verschiedene Vorschläge gemacht, die allesamt ein Fe<sup>IV</sup>=O-Intermediat umfassen, sich jedoch in der Abfolge der Elektronentransferschritte mit Ascorbat sowie in der Natur der Intermediate unterscheiden, welche die sukzessive ACC-Oxidation bewirken. Rocklin et al. schlagen vor, dass nach ACC- und  $O_2$ -Bindung eine Einelektronenreduktion erfolgt, die zu einem Eisen(III)-hydroperoxid-Intermediat führt. Dieses vollzieht den ersten ACC-Oxidationsschritt, im Zuge dessen die Fe<sup>IV</sup>=O-Spezies gebildet wird, die für den zweiten Oxidationsschritt verantwortlich ist.<sup>[6]</sup> Ein von Ascorbat bereitgestelltes Elektron vervollständigt dann den katalytischen Zyklus. Alternativ schlugen Mirica et al. eine Ascorbat-abhängige Bildung des Fe<sup>IV</sup>=O-Intermediats vor, welches dann als erste oxidierende Spezies fungiert.<sup>[7]</sup>

Nach wie vor bleiben also viele Fragen zur Substratwechselwirkung, zur Rolle verschiedener Kofaktoren/Ko-substrate (Ascorbinsäure, Disauerstoff und Kohlendioxid) und zum Katalysemechanismus unbeantwortet.

Bioanorganische Modellstudien können wertvolle Informationen über strukturelle Parameter sowie auch über Voraussetzungen für die enzymatische Reaktivität liefern. Dennoch sind bislang kaum Verbindungen bekannt, die man – unter der Minimalvoraussetzung, dass sie ACC enthalten und eine nennenswerte ACCO-ähnliche Reaktivität besitzen – als ACCO-Modelle betrachten könnte.<sup>[8,9]</sup> Ein Eisen-Komplex ist bekannt, der jedoch zweikernig ist, Eisen(III)-Ionen enthält und zwei verbrückende ACC-Liganden aufweist.<sup>[8]</sup> Während Eisen(II)-Komplexe lange unbekannt blieben, konnten einkernige 1:1-Metall-ACC-Komplexe für Kupfer(II) zugänglich



Schema 1. Der letzte Schritt der Biosynthese von Ethylen.

[\*] Dr. M. Sallmann, B. Sc. F. Oldenburg, Dr. B. Braun, Prof. Dr. C. Limberg  
Humboldt-Universität zu Berlin, Institut für Chemie  
Brook-Taylor-Straße 2, 12489 Berlin (Deutschland)  
E-Mail: Christian.limberg@chemie.hu-berlin.de  
Homepage: <http://www.chemie.hu-berlin.de/aglimberg>

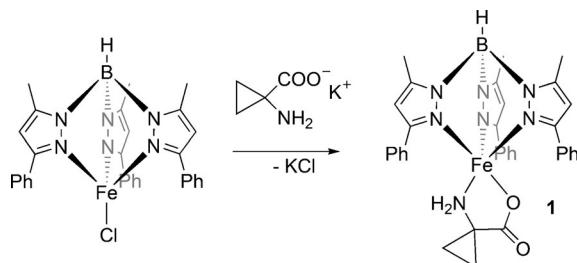
Dr. M. Réglier, Dr. A. J. Simaan  
Aix Marseille Université, Centrale Marseille, CNRS, iSm2 UMR 7313, 13397, Marseille (Frankreich)  
E-Mail: jalila.simaan@univ-amu.fr  
Homepage: <http://ism2.univ-amu.fr/pages-bleues/index2.htm>

[\*\*] Wir danken der Humboldt-Universität zu Berlin für die finanzielle Unterstützung, dem Excellencecluster „Unifying Concepts in Catalysis“ finanziert von der DFG für hilfreiche Diskussionen und dem EU-COST-Netzwerk, Projekt CM1305.

ⓘ Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201502529> zu finden.

gemacht werden. Ein Fe<sup>II</sup>-ACC-Komplex wurde erst kürzlich veröffentlicht, doch er kann schwerlich als funktionelles Modell der ACCO gesehen werden: Das Eisenzentrum wird oktaedrisch von sechs Donoratomen koordiniert, sodass keine Bindungsmöglichkeit für Oxidantien zur Verfügung steht. Dies erklärt auch, dass die Verbindung keine Reaktivität gegenüber O<sub>2</sub> zeigt und eine nur geringfügig höhere Ethylenausbeute (7%) bei der Umsetzung mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> erreicht wird als im Blindexperiment.<sup>[10]</sup>

Um Nicht-Häm-Eisen-Dioxygenasen mit einem 3-His-Strukturmotiv nachzuahmen, haben wir in vergangenen Jahren den Tris(pyrazolyl)borato(Tp)-Liganden eingesetzt,<sup>[11]</sup> der in der Vergangenheit auch schon erfolgreich verwendet wurde, um Vertreter basierend auf dem 2-His-1-Carboxylatmotiv nachzuahmen.<sup>[12]</sup> Demnach erschien uns der Tp-Ligand auch zur Entwicklung von niedermolekularen Analoga der ACCO vielversprechend. Die Tendenz von ACC, zwei Metallzentren zu verbrücken, hat in der Vergangenheit immer wieder zu Problemen geführt, da Mehrkern-Komplexe mit verbrückenden ACC-Koordinationsmodi nur bedingt Modellcharakter besitzen (siehe oben). Demzufolge wurden Phenylsubstituenten in 3-Position der Pyrazoldonoren von Tp gewählt, um eine abgeschirmte Reaktivitätstasche analog zum Enzym zu erzeugen. [Tp<sup>Me,Ph</sup>FeCl]<sup>[13]</sup> (Tp<sup>Me,Ph</sup> = 3-Phenyl-5-methylhydridotrispyrazol-1-yl-borato) stellte daher eine geeignete Ausgangsverbindung dar, die gelöst in Dichlormethan mit dem Kaliumsalz der Aminosäure 1-Amino-cyclopropan-1-carbonsäure umgesetzt wurde (Schema 2).



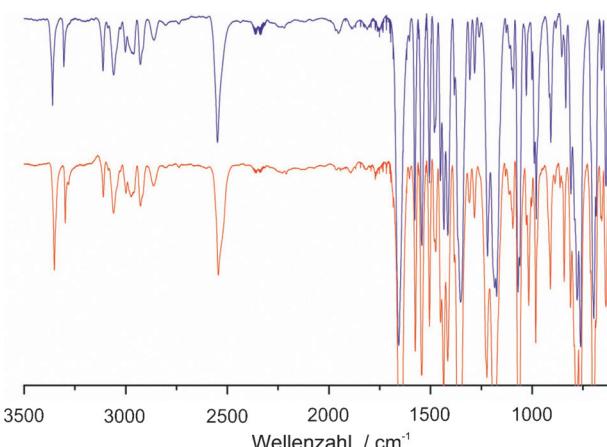
**Schema 2.** Synthese von [Tp<sup>Me,Ph</sup>FeACC] (**1**).

Nach Aufarbeitung konnte ein schwach gelber Feststoff isoliert werden, der mittels Elementaranalyse, IR- und <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie (siehe Hintergrundinformationen) charakterisiert wurde. Das IR-Spektrum zeigte charakteristische Banden für die NH<sub>2</sub>-Streckschwingungen sowie für die Carboxylat-Absorption, und die ν(BH)-Schwingung, die für Tp-Komplexe typisch und umgebungssensitiv ist, absorbierte bei 2549 cm<sup>-1</sup>. Wenngleich alle ermittelten analytischen und spektroskopischen Daten auf den Komplex [Tp<sup>Me,Ph</sup>FeACC] (**1**) hinwiesen, ergaben alle Ansätze, die Verbindung **1** zu kristallisieren, Kristalle der Verbindung [Tp<sup>Me,Ph</sup><sub>2</sub>Fe].<sup>[20]</sup> Um herauszufinden, ob letztere eine Verunreinigung mit günstigem Kristallisationsverhalten ist, oder über einen Ligandaustausch während des Kristallisationsprozesses von **1** entsteht, wurde [Tp<sup>Me,Ph</sup><sub>2</sub>Fe] separat hergestellt und mittels <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie charakterisiert. Ein Vergleich zeigte, dass [Tp<sup>Me,Ph</sup><sub>2</sub>Fe] in frisch bereiteten Lösungen von **1** nicht

vorhanden war, und auch nach 7 h traten noch keine Signale auf. Nach über 5 Tagen Lagerung konnten jedoch signifikante Mengen [Tp<sup>Me,Ph</sup><sub>2</sub>Fe] nachgewiesen werden. Dies zeigte deutlich, dass **1** in Lösung zwar stabil genug für Reaktivitätsstudien ist, aber nicht für die Kristallisation: Da **1** schlecht kristallisiert, wird mehr Zeit benötigt als der Ligandaustausch zulässt.

Zur weiteren Charakterisierung des Komplexes **1** wurde ein Mößbauer-Spektrum aufgenommen. Dieses zeigte ein für Eisen(II)-High-Spin-Komplexe typisches Dublettsignal mit einer Isomerenverschiebung von  $\delta = 1.0906 \text{ mm s}^{-1}$  und einer elektronischen Quadrupolaufspaltung von  $\Delta E_q = 2.7 \text{ mm s}^{-1}$ .

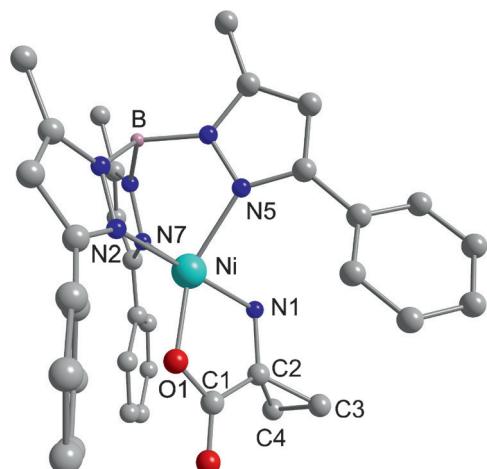
Um darüber hinaus auch strukturelle Informationen zu erhalten, wurde nach der gleichen Synthesestrategie ausgehend von [Tp<sup>Me,Ph</sup>NiBr] auch der Nickelkomplex [Tp<sup>Me,Ph</sup>NiACC] (**2**) hergestellt (siehe Hintergrundinformationen). Nach dem Aufarbeiten der blau-grünen Reaktionslösung wurde ein schwach-grüner Feststoff gewonnen, dessen IR-Spektrum bezüglich Bandenform, -muster und -intensitäten nahezu identisch zum IR-Spektrum von **1** war (Abbildung 1). Dies deutete auf eine ähnliche Struktur wie die von Komplex **1** hin, sodass die Strukturbestimmung von **2** von großem Interesse war.



**Abbildung 1.** Vergleich der IR-Spektren von **1** (blau) und **2** (rot), aufgenommen von KBr-Presslingen.

Kristalle von **2**·THF konnten durch Überschichten einer THF-Lösung mit Hexan gezüchtet werden. Abbildung 2 zeigt die mittels Einkristallstrukturanalyse ermittelte Molekülstruktur. Wie erwartet bindet der ACC-Ligand chelatisierend. Somit wird das Nickel(II)-Zentrum von drei N-Atomen des Tp<sup>Me,Ph</sup>-Liganden sowie von der Amin- und Carboxylatfunktion der O-deprotonierten ACC koordiniert. Die Geometrie der resultierenden Ligandsphäre liegt zwischen einer trigonalen Bipyramide und einer quadratischen Pyramide ( $\tau = 0.48$ ). Im Gegensatz zu vorherigen Modellsystemen, in denen die C-C-Bindung der Cyclopropaneinheit verkürzt war,<sup>[9]</sup> ist die C3-C4-Bindung von **2** (1.496(3) Å) nahezu identisch mit der von freiem ACC (1.490–1.497 Å).<sup>[14]</sup>

Basierend auf der hervorragenden Übereinstimmung der IR-Spektren von **1** und **2** wird für **1** eine analoge Struktur angenommen, in der folglich eine freie Koordinationsstelle



**Abbildung 2.** Molekülstruktur von **2**·THF (H-Atome zur besseren Übersicht nicht gezeigt). Ausgewählte Bindungslängen [Å] und -winkel [ $^\circ$ ]: Ni–O1 1.9585(11), Ni–N1 2.0859(14), Ni–N2 2.0993(13), Ni–N5 2.0698(13), Ni–N7 2.0510(13); O1–Ni–N1 82.19(5), N2–Ni–N5 87.29(5), N2–Ni–N7 90.03(5), N5–Ni–N7 95.17(5), O1–Ni–N2 95.59(5), O1–Ni–N5 146.53(5), O1–Ni–N7 118.12(5), N1–Ni–N2 175.66(5), N1–Ni–N5 92.51(5), N1–Ni–N7 94.31(5).

für eine potentielle Bindung und Aktivierung von  $O_2$  oder anderen Oxidantien vorliegt;<sup>[18]</sup> dies gab Anlass für Reaktivitätsstudien mit **1**. Es ist postuliert worden, dass ein Potential von  $E_{1/2}(Fe^{III/II}) < -0.1$  V gegen  $Fc^+/Fc$  eine Voraussetzung für eine Reaktivität von  $O_2$  mit Eisen(II)-Komplexen ist.<sup>[16]</sup> Eine cyclovoltammetrische Analyse von **1** gelöst in Dichlormethan ergab ein reversibles Redoxereignis, allerdings sind die Oxidations- und Reduktionspeaks um 410 mV versetzt, was mit reversiblen strukturellen Veränderungen während der Oxidation/Reduktion erklärt werden könnte (siehe Hintergrundinformationen). Der Oxidationspeak trat bei 0.03 V auf und erschien damit für die  $O_2$ -Reaktivität nicht negativ genug. Allerdings waren auch zuvor beobachtete Reaktivitätstrends TpFe-basierter Dke1-Modelle auf Grundlage der Redoxpotentiale nicht zu verstehen gewesen,<sup>[17]</sup> und tatsächlich reagierte auch die Verbindung **1** mit  $O_2$ .

Zu  $O_2$ -gesättigtem DMF wurde in hermetisch abgeschlossenen Gefäßen eine Lösung aus **1** in DMF (Dimethylformamid) gegeben. Die gaschromatographische Analyse der Gasphase bestätigte die Ethylenproduktion, und die maximale Ausbeute der Umsetzung von 17% war nach wenigen Minuten bei 70°C erreicht. Es ist wichtig zu erwähnen, dass bei der Umsetzung von ACC allein (in Form des  $NBu_4^+$ -Salzes) mit  $O_2$ -gesättigtem DMF selbst nach einer Stunde kein Ethylen nachzuweisen war. Dies belegt, dass die beobachtete Aktivität nicht auf freies ACC (nach eventueller Abspaltung aus dem Komplex) zurückzuführen ist. Darüber hinaus war die Ethylenproduktion dreimal niedriger (Ausbeute von ca. 6%), wenn  $Fe(ClO_4)_2 \cdot xH_2O$  zusammen mit ( $NBu_4$ )ACC anstelle von Komplex **1** bei gleichen Reaktionsbedingungen eingesetzt wurde. Bemerkenswerterweise reagiert der analoge Nickelkomplex **2** nicht mit  $O_2$ , was auf eine  $O_2$ -Anbindung am Eisenzentrum im einleitenden Schritt der Katalyse hindeutet.

Rocklin et al. zeigten, dass unter Single-Turnover-Bedingungen und in Abwesenheit von Ascorbat nur 0.35 mol Ethylen pro Mol ACCO gebildet wurden, woraus die Vermutung abgeleitet wurde, dass die für die Katalyse benötigten Elektronen von einem Teil des ursprünglichen ACCO-Enzyms stammten.<sup>[6]</sup> Auch im Falle unserer Experimente ist denkbar, dass die Elektronen einem Teil des eingesetzten Komplex **1** entzogen wurden, sodass die erreichbare Ausbeute wie im Falle des Enzyms limitiert ist. Leider blieben Bemühungen, die Elektronen durch Zusatz verschiedener Reduktionsmittel (Ascorbat oder Benzoin) bereitzustellen, erfolglos.

Um Informationen über das Schicksal des verbleibenden Strukturgerüsts von **1** zu erhalten, wurde die Gasphase nach der Reaktion mittels GC/MS untersucht. Wie erwartet konnte  $CO_2$  als weiteres Produkt nachgewiesen werden.<sup>[19]</sup> Durch Verfolgung des UV/Vis-Spektrums einer Lösung von **1** in DMF bei Raumtemperatur und bei 70°C zeigte sich, dass nach  $O_2$ -Zusatz auch bei Raumtemperatur die größten Veränderungen (Zunahme der Absorption bei 300–500 nm) zwischen 0–5 min auftreten (siehe Hintergrundinformationen). Nach Ablauf dieser Zeit blieb das Spektrum nahezu unverändert, während die Ethylenausbeute innerhalb der nächsten 2 h weiter stieg. Folglich gibt es vermutlich einen schnellen ersten Reaktionsschritt (eventuell nur partiell als Teil eines Gleichgewichts), gefolgt von einer deutlich langsameren Reaktion, in der Ethylen gebildet wird. Bei Raumtemperatur erreicht die Ethylenproduktion ein Maximum bei ca. 7%, was auf eine Zersetzungreaktion hindeutet, die mit der produktiven Route konkurriert. Letztere kann aber offenbar durch Erwärmung auf 70°C signifikant beschleunigt werden, wodurch sich die Maximalausbeute auf 17% steigern lässt.

Für viele  $O_2$ -aktivierenden Nicht-Häm-Enzyme und ihre Modelle haben theoretische Untersuchungen gezeigt, dass der initierende  $O_2$ -Bindungsschritt unter Bildung eines Eisen(III)-superoxo-Intermediats endotherm abläuft. Die darauf folgenden Reaktionsschritte sind üblicherweise exotherm, allerdings bei niedermolekularen Analoga durch erhebliche Energiebarrieren charakterisiert, was zusammen mit der endothermen  $O_2$ -Bindung die Reaktionsgeschwindigkeit absenkt. Bei der Modellierung von Enzymen, die, wie die ACCO, parallel zum  $O_2$ -Umsatz Elektronen benötigen, um ihre jeweiligen Substrate oxidieren zu können, und über  $Fe^{IV}=O$ - oder Peroxid-Intermediate reagieren, kann dieses Problem mitunter durch Verwendung reduzierter Disauerstoff-Formen (z.B.  $H_2O_2$ ) oder O-Atom-Transferreagentien umgangen werden kann. Tatsächlich wurde eine signifikante Ethylenproduktion bei Umsetzung von Komplex **1** mit PhIO oder MCPBA (*meta*-Chlorperbenzoësäure) beobachtet, allerdings sind die Reagentien auch in Abwesenheit des Eisenkomplexes in der Lage, ACC zu oxidieren (ca. 75% bzw. 35% Ausbeute nach 2–3 h), sodass ihr Einsatz keine weiteren Informationen über den Mechanismus zugänglich macht (siehe Hintergrundinformationen). Infolgedessen wurden  $H_2O_2$ -Lösungen in unterschiedlichen Konzentrationen getestet. Interessanterweise erreichte die Ethylenausbeute ausgehend von einer 0.5 mM Lösung des Komplexes **1** bei Verwendung einer 10–20 mM  $H_2O_2$ -Lösung nach 20 min einen

Wert von 65 %. ACC alleine wurde unter gleichen Bedingungen kaum oxidiert (mit weniger als 2 % Umsatz), was belegt, dass die beobachtete Aktivität nicht auf freies ACC zurückzuführen ist. Auch die Reaktivität von **2** gegenüber H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> war sehr gering (weniger als 2 % Ausbeute), was die Bedeutung der Natur des Metallzentrums verdeutlicht. Schlussendlich wurde auch die Ethylenproduktion von Fe-(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·xH<sub>2</sub>O/(NBu<sub>4</sub>)ACC in DMF in Gegenwart von 10–20 mm H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> untersucht, und auch hier war der Umsatz mit 10–12 % sechsmal geringer im Vergleich zur Verwendung von Komplex **1**, was auch die Rolle des Kliganden bei der Steuerung der Reaktivität unterstreicht.

Die vorliegenden Ergebnisse implizieren, dass die erfolgreiche Ethylenproduktion bei der Umsetzung von Komplex **1** mit O<sub>2</sub> bzw. Wasserstoffperoxid maßgeblich auf der sehr guten Eignung der Tp<sup>Me,Ph</sup>Fe-Einheit als Modell für die 2-His-1-Carboxylateisen-Einheit der ACCO basiert. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> reagiert bekannterweise mit Fe<sup>II</sup>- oder Fe<sup>III</sup>-Komplexen zu den entsprechenden Fe<sup>III</sup>-OOH-Intermediaten.<sup>[15]</sup> Es kann daher angenommen werden, dass die Umsetzung von Komplex **1** mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> zunächst zur Oxidation von Fe<sup>II</sup> zu Fe<sup>III</sup> und anschließend zur Bildung des Fe<sup>III</sup>-OOH-Intermediats führt. Bei Einsatz von Disauerstoff könnte ein Fe<sup>III</sup>-OO·-Intermediat im Zuge einer Einelektronenreduktion durch ein weiteres Äquivalent von **1** und Protonierung (z.B. durch Restwasser im DMF) ebenfalls zu einem Fe-OOH-Intermediat führen. Unsere Ergebnisse deuten daher darauf hin, dass tatsächlich eine Fe<sup>III</sup>-OOH-Spezies im katalytischen Zyklus der ACCO involviert ist und dass dessen Bildung wahrscheinlich der Oxidation des gebundenen Substrats vorausgeht. Dies ist im Einklang mit den beiden vorgeschlagenen Mechanismen der enzymatischen Aktivität.

Zusammenfassend haben wir das erste Fe<sup>II</sup>-basierte niedermolekulare Modellsystem beschrieben, das die Struktur des aktiven Zentrums der ACCO naturgetreu nachahmt und zudem auch seine Funktion simuliert. Die Oxidaseaktivität des Fe<sup>II</sup>-Komplexes in Kontakt mit O<sub>2</sub> ist bemerkenswert (17 %), denn unter Single-Turnover-Bedingungen erreicht auch das Enzym lediglich 35 % Umsatz. Weiterführende Studien mit alternativen Oxidationsmitteln, Elektronen- und Protonendonoren sowie kinetische und theoretische Untersuchungen werden auf die weitere Aufklärung des biomimetischen Oxidationmechanismus abzielen.

**Stichwörter:** Aminocyclopropan-1-carbonsäure · Eisen · Enzymmodelle · Oxidasen · Sauerstoff

**Zitierweise:** *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 12325–12328  
*Angew. Chem.* **2015**, *127*, 12501–12505

- [1] F. Abeles, *Ethylene in Plant Biology*, Academic Press, New York, **1992**.
- [2] D. O. Adams, S. F. Yang, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1979**, *76*, 170–174.
- [3] Z. Zhang, J.-S. Ren, I. J. Clifton, C. J. Schofield, *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 1383–1394.
- [4] M. C. Pirrung, *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 711–718.
- [5] a) A. M. Rocklin, D. L. Tierney, V. Kofman, N. M. W. Brunhuber, B. M. Hoffman, R. E. Christoffersen, N. O. Reich, J. D. Lipscomb, L. Que, Jr., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*,

7905–7909; b) D. L. Tierney, A. M. Rocklin, J. D. Lipscomb, L. Que, Jr., B. M. Hoffman, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7005–7013; c) J. Zhou, A. M. Rocklin, J. D. Lipscomb, L. Que, Jr., E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 4602–4609.

- [6] A. M. Rocklin, K. Kato, H. W. Liu, L. Que, Jr., J. D. Lipscomb, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2004**, *9*, 171–182.
- [7] L. M. Mirica, J. P. Klinman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 1814–1819.
- [8] W. Ghattas, Z. Serhan, N. El Bakkali-Taheri, M. Réglier, M. Kodera, Y. Hitomi, A. J. Simaan, *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 3910–3912.
- [9] W. Ghattas, C. Gaudin, M. Giorgi, A. Rockenbauer, A. J. Simaan, M. Réglier, *Chem. Commun.* **2006**, 1027–1029.
- [10] Y. Roux, W. Ghattas, F. Avenier, R. Guillot, A. J. Simaan, J.-P. Mahy, *Dalton Trans.* **2015**, DOI: 10.1039/c5dt00347d.
- [11] a) I. Siewert, C. Limberg, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 7953–7956; *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 8071–8074; b) M. Sallmann, I. Siewert, L. Fohlmeister, C. Limberg, C. Knispel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 2234–2237; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 2277–2280; c) M. Sallmann, S. Kumar, P. Chernev, J. Nehrkorn, A. Schnegg, D. Kumar, H. Dau, C. Limberg, S. P. de Visser, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 7470–7479; d) M. Sallmann, B. Braun, C. Limberg, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 6785–6787.
- [12] a) W. H. Armstrong, S. J. Lippard, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 4837–4838; b) W. H. Armstrong, A. Spool, G. C. Papaefthymiou, R. B. Frankel, S. J. Lippard, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 3653–3667; c) E. H. Ha, R. Y. N. Ho, J. F. Kisiel, J. S. Valentine, *Inorg. Chem.* **1995**, *34*, 2265–2266; d) S. Hikichi, T. Ogihara, K. Fujisawa, N. Kitajima, M. Akita, Y. Moro-oka, *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 4539–4547; e) E. L. Hegg, R. Y. N. Ho, L. Que, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1972–1973; f) M. P. Mehn, K. Fujisawa, E. L. Hegg, L. Que, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 7828–7842; g) T. K. Paine, H. Zheng, L. Que, Jr., *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 474–476; h) N. Burzlaff, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 5580–5582; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 5688–5690; i) A. Mukherjee, M. Martinho, E. L. Bominaar, E. Münck, L. Que, Jr., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 1780–1783; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 1812–1815.
- [13] T. Tietz, C. Limberg, R. Stößer, B. Ziemer, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 10010–10020.
- [14] a) M. C. Pirrung, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 4179–4184; b) G. Valle, M. Crisma, C. Toniolo, E. M. Holt, M. Tamura, J. Bland, C. H. Stammer, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1989**, *34*, 56–65.
- [15] a) J. J. Girerd, F. Banse, A. J. Simaan, *Struct. Bonding (Berlin)* **2000**, *97*, 145–177; b) M. Costas, M. P. Mehn, M. P. Jensen, L. Que, Jr., *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 939–986; c) M. R. Bukowski, P. Comba, A. Lienke, C. Limberg, C. L. de Laorden, R. Mas-Ballesté, M. Merz, L. Que, Jr., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3446–3449; *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 3524–3528; d) M. R. Bukowski, P. Comba, C. Limberg, M. Merz, L. Que, Jr., T. Wistuba, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1283–1287; ; *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 1303–1307; e) Y. M. Kim, K.-B. Cho, J. Cho, B. Wang, C. Li, S. Shaik, W. Nam, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 8838–8841; f) L. V. Liu, S. Hong, J. Cho, W. Nam, E. I. Solomon *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 3286–3299; g) J. Cho, S. Jeon, S. A. Wilson, L. V. Liu, E. A. Kang, J. J. Braymer, M. H. Lim, B. Hedman, K. O. Hodgson, J. S. Valentine, E. I. Solomon, W. Nam, *Nature* **2011**, *478*, 502–505.
- [16] Y. M. Badiee, M. A. Siegler, D. P. Goldberg, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 1274–1277.
- [17] H. Park, M. M. Bittner, J. S. Baus, S. V. Lindeman, A. T. Fiedler, *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 10279–10289.
- [18] Zu postulierten/detektierten Eisen(III)-superoxo-Intermediaten siehe: a) Y.-M. Lee, S. Hong, Y. Morimoto, W. Shin, S. Fukuzumi, W. Nam, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 10668–10670; b) S. Hong, K. D. Sutherlin, J. Park, E. Kwon, M. A. Siegler, E. I. Solomon, W. Nam, *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 5440–5447; F.

- Oddon, Y. Chiba, J. Nakazawa, T. Ohta, T. Ogura, S. Hikichi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 7336–7339; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 7444–7447.
- [19] Die Bildung von Cyanid, einem weiteren Produkt des natürlichen Prozesses, wurde IR-spektroskopisch untersucht. Es konnten jedoch keine charakteristischen Banden in Spektren detektiert werden, die nach Entfernen aller flüchtige Bestandteile vom erhaltenen Feststoff aufgenommen wurden, ebenso nicht in Spektren der nach der Reaktion erhaltenen Lösung.
- [20] A. L. Rheingold, R. L. Ostrander, B. S. Haggerty, S. Trofimenko, *Inorg. Chem.* **1994**, *33*, 3666–3676.

Eingegangen am 18. März 2015,  
veränderte Fassung am 22. Mai 2015  
Online veröffentlicht am 17. Juli 2015

---