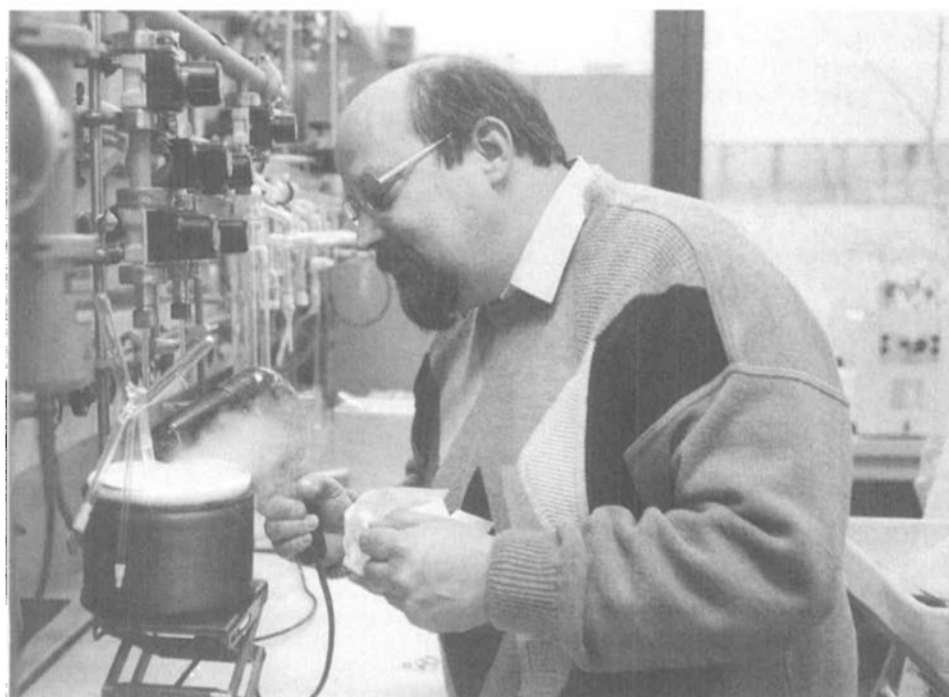


Chimia 48 (1994) 50–55
 © Neue Schweizerische Chemische Gesellschaft
 ISSN 0009–4293

Coenzym F430 aus Methan-Bakterien: Zusammenhänge zwischen der Struktur des hydroporphinoiden Liganden und der Redoxchemie des Nickelzentrums

Bernhard Jaun*



Geboren 1948 in Schaffhausen. Studium der Chemie an der ETH-Lausanne (1967–1969) und ETH-Zürich (Diplom 1972). 1973–1978 Doktorarbeit an der ETH-Zürich (*J.F.M. Oth* und *A. Eschenmoser*, Kationradikale von Chlorophyll-Derivaten). 1979–1980 zweijähriges Postdoktorat an der Columbia University New York (*R. Breslow*, Elektrochemie von metallorganischen Verbindungen, organische Moleküle mit stabilen Triplett-Grundzuständen). 1980–1988 Assistent und Oberassistent am Laboratorium für Organische Chemie der ETH (*J.F.M. Oth*, Matrixisolation instabiler Zwischenprodukte). Seit 1983 Leiter des Kernresonanzlabors des Laboratoriums für Organische Chemie der ETH, Strukturaufklärung von Naturstoffen mit NMR-Spektroskopie (in Zusammenarbeit mit anderen Forschungsgruppen). Ab 1988 eigene Forschungsgruppe, Arbeitsschwerpunkt: Coenzym F430 aus Methanbakterien, 1991 Habilitation an der Abteilung für Chemie der ETH.

Abstract. The hydroporphinoid nickel complex coenzyme F430 is the prosthetic group of methyl-coenzyme M reductase, the enzyme catalyzing the last step of biological methane formation. Although the enzyme mechanism is still unknown, it has been shown that the isolated cofactor can be reduced to the Ni^I-form at surprisingly positive potentials. Recent *in vivo* EPR studies indicate that the Ni^I form of F430 is indeed formed in whole cells and in highly active enzyme preparations. A comparative study of the redox chemistry of partially synthetic derivatives of F430 helped to identify the structural elements that allow coenzyme F430 to be reduced at the metal rather than at the ligand and at a physiologically accessible potential.

1. Einleitung

Methan-Bakterien sind strikt anaerobe Mikroorganismen, die als Endprodukt ihres Energiestoffwechsels Methan produzieren. Als Substrat verwenden die meisten Methan-Bakterien entweder Actetat oder CO₂ und H₂, einige Arten können aber auch Methanol, Formiat, Kohlenmonoxid oder Methylamine als Kohlenstoff-Quelle aufnehmen [1].

Die einzelnen Schritte der biologischen Methan-Bildung sind heute, hauptsächlich durch Arbeiten von *Wolfe* und *Thauer*, bekannt [2]. Die ersten Stufen sind je nach verwendeter Kohlenstoff-Quelle unterschiedlich, münden aber alle in ein gemeinsames Zwischenprodukt, den Thioether Methyl-Coenzym M [3] (*Schema 1*).

Die Freisetzung des Methans erfolgt im nächsten Schritt, einer ungewöhnlichen, von der Methyl-Coenzym M-Reduktase katalysierten Reaktion, in der Methyl-Coenzym M unter Einbezug eines weiteren thiolischen Coenzym (HS-HTP, s. *Schema 2*) in den Kohlenwasserstoff Methan und das gemischte Disulfid von Coenzym M und HS-HTP umgewandelt wird [4].

Dieser Schritt ist nicht nur für alle Methan-Bakterien obligat, er liefert, zusammen mit der anschließenden Rückreduktion des Disulfids in die beiden Thiole, auch den Hauptanteil der insgesamt in der Methanogenese frei werdenden Energie [5].

Die Methyl-Coenzym M-Reduktase ist ein 300 kD schweres, aus zwei identischen Hälften aufgebautes Enzym. Jede Unter-einheit besteht aus drei verschiedenen Proteinen und enthält als prosthetische Gruppe ein fest, aber nicht kovalent gebundenes Molekül des hydroporphinoiden Ni-Komplexes Coenzym F430 (**1**) [6], sowie ein Molekül Coenzym M und eine nicht genau bekannte Menge HS-HTP

Coenzym F430 (**1**) ist der bisher einzige in der Natur gefundene tetrapyrrolische Ni-Komplex mit bekannter Funktion. Seine Struktur wurde im Rahmen einer Zusammenarbeit zwischen *Thauer* und Mitarbeitern (Universität Marburg) und Arbeitsgruppen an der ETH-Zürich aufgeklärt [7]. Im Vergleich mit den anderen

*Korrespondenz: PD Dr. B. Jaun
 Laboratorium für Organische Chemie
 ETH-Zentrum
 Universitätstrasse 16
 CH-8092 Zürich

tetrapyrrolischen Coenzymen wie Häm, Chlorophyll, Bacteriochlorophyll oder Coenzym B₁₂ weist der makrocyclische Ligand von F430 mehrere strukturelle Besonderheiten auf:

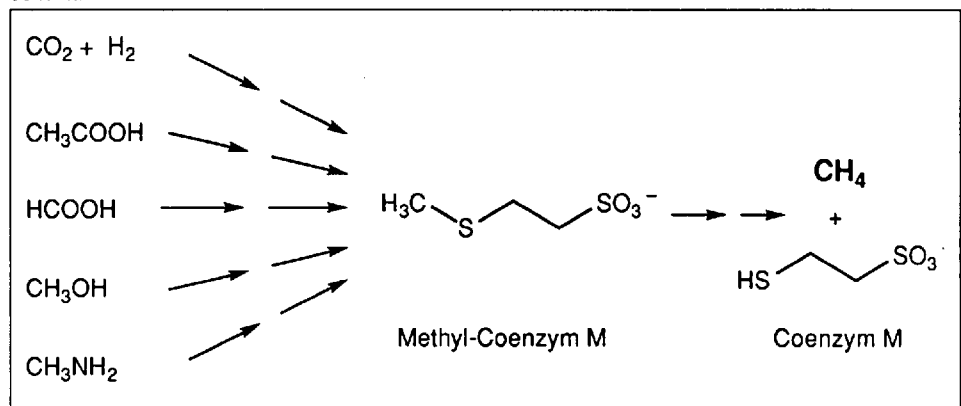
- 1) Die peripheren Bindungen der Fünfringe sind alle gesättigt und der lineare Chromophor erstreckt sich nur über drei der vier N-Atome. Die *meso*-C-Atome auf beiden Seiten des Rings A sind sp³-Zentren, im Ring A selbst liegt eine isolierte (C=N)-Bindung vor. Der Ligand trägt damit formal nur eine negative Ladung, der Ni^{II}-Komplex ist einfach positiv geladen.
- 2) An die Ringe B und D sind zwei zusätzliche Ringe annelliert: der Lactam-Ring zwischen C(6) und C(7) und der carbocyclische Sechsring zwischen C(15) und C(17), dessen (C=O)-Gruppe mit dem Chromophor konjugiert. Die Ausbildung dieses Sechsrings, der formal durch intramolekulare Acylierung der *meso*-Stellung C(15) durch die Propionsäure-Seitenkette an C(17) zustandekommt, ist die letzte Stufe der Biosynthese von Coenzym F430 (1) [8].

2. Die Ni-Form von Coenzym F430

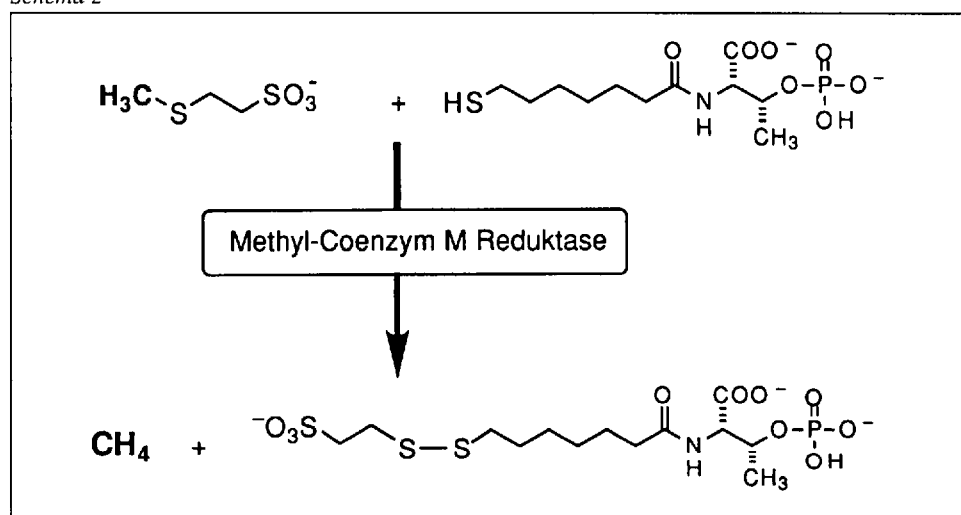
Der Mechanismus der katalytischen Wirkungsweise von Coenzym F430 (1) in der Methyl-Co M-Reduktase ist nach wie vor unbekannt. Ein Angriff der stabilen Ni^{II}-Form, in der das Coenzym nach seiner Isolierung vorliegt, auf die ziemlich reaktionsträge Methyl-thioether Funktion von Methyl-Coenzym M [9] erscheint unplausibel. Diese Annahme konnte inzwischen durch den Nachweis, dass die Ni^{II}-Form von F430M (2) mit Thioethern keine Komplexe eingeht, erhärtet werden.

Unsere Arbeiten zur mechanistischen Frage gingen deshalb von der Arbeits-

Schema 1



Schema 2

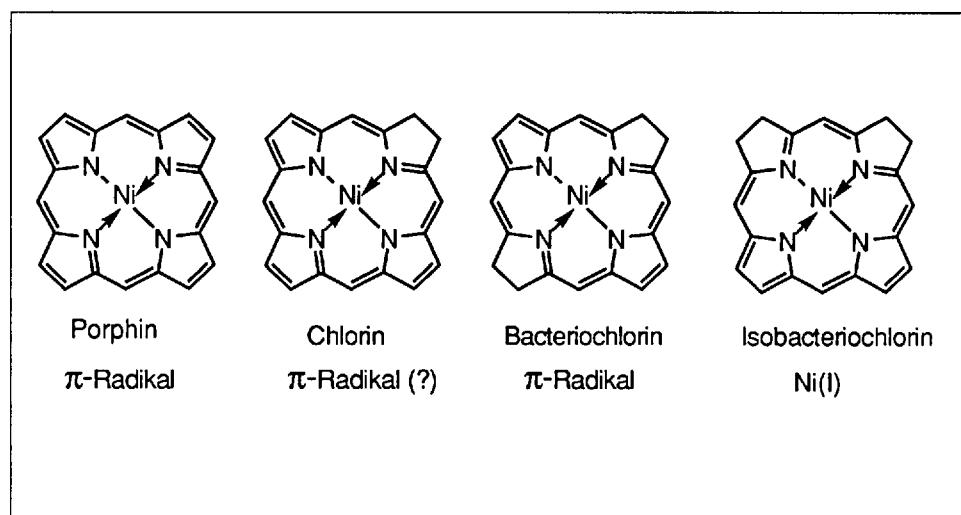
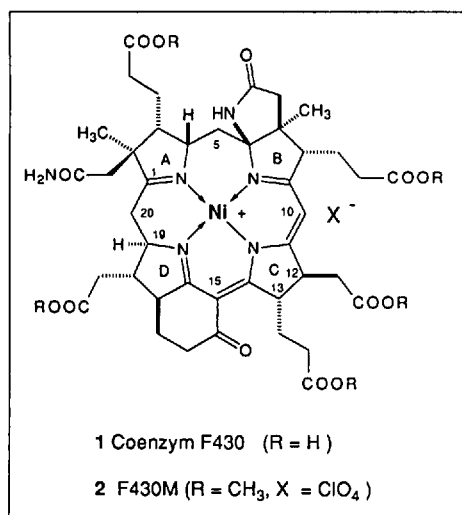


hypothese aus, dass sich der Valenzzustand des Ni-Zentrums im Verlauf der enzymatischen Reaktion ändert. Elektroanalytische Versuche ergaben, dass sich der Pentamethylester F430M (2) bei -0.86 V (vs. SCE) reversibel um ein Elektron reduzieren lässt. Das Reduktionsprodukt konnte *in situ* sowohl elektrolytisch als auch durch chemische Reduktion mit Na/Hg rein hergestellt und durch UV/VIS- und ESR-

Spektroskopie charakterisiert werden [10] (Fig. 1).

Das ESR-Spektrum in gefrorener Lösung zeigt eindeutig, dass die Spindichte im Reduktionsprodukt vorwiegend auf dem Metall-Zentrum und nicht im π-System des Liganden liegt. Die reduzierte Spezies wird deshalb am besten als Ni^I-Form von F430M bezeichnet.

Kürzlich ist es *Holliger et al.* [11]



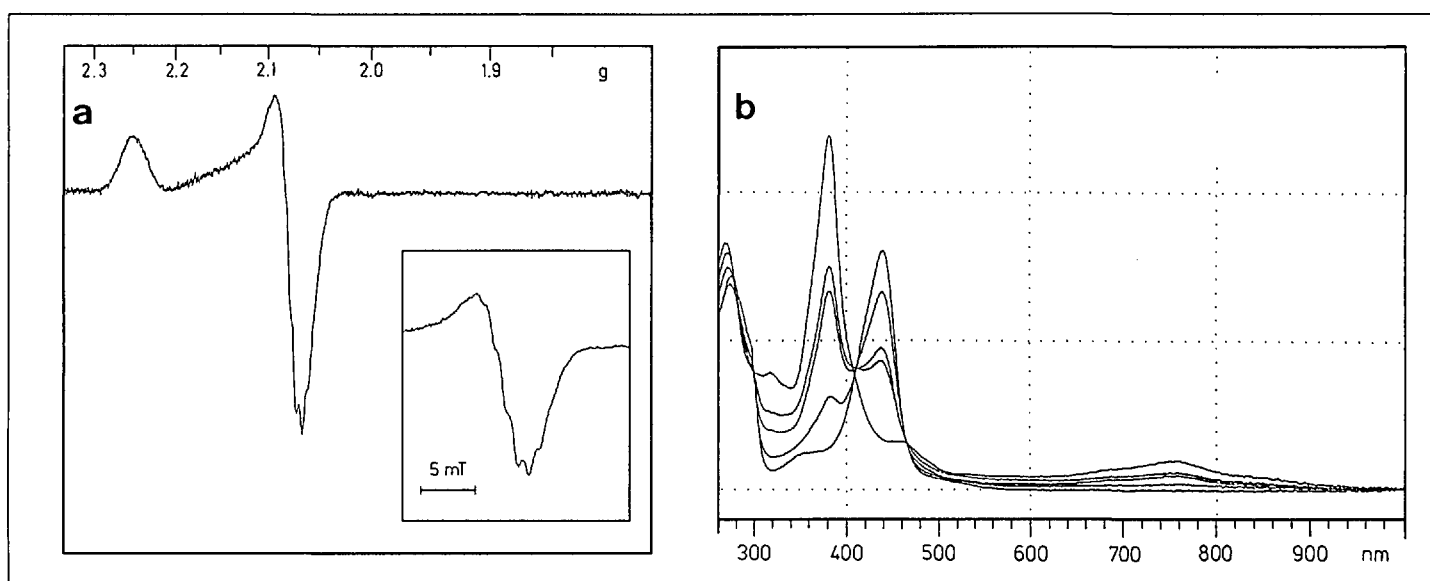


Fig. 1. a) ESR-Spektrum von Ni^{I} -F430M in gefrorener THF-Lösung bei 77K. b) UV/VIS-Spektroskopische Verfolgung der Reduktion von F430M (2) zur Ni^{I} -Form ($c = 4.5 \cdot 10^{-4}$ M, THF, Reduktionsmittel: Na/Hg)

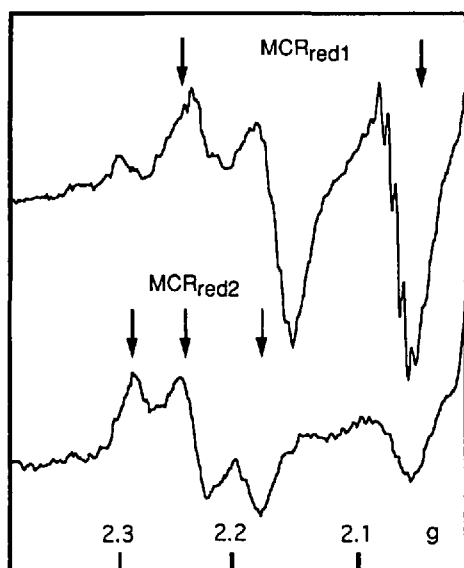


Fig. 2. In vivo ESR-Spektren ganzer Zellen von *Methanobacterium thermoautotrophicum* nach Albracht et al. [12a]

gelungen, durch Reduktion des nativen Coenzym mit Ti^{III} -citrat bei hohem pH das ESR-Spektrum der Ni^{I} -Form von F430 zu messen, welches gut mit demjenigen von Ni^{I} -F430M übereinstimmt.

Dass die Ni^{I} -Form des enzymgebundenen Coenzym in der Zelle tatsächlich gebildet wird, zeigen neue *in vivo* ESR-spektroskopische Resultate der Arbeitsgruppen von Albracht, Thauer und Krycki [12]. Sie konnten in ganzen Zellen und auch in hoch angereicherten, aktiven Enzympräparaten zwei ESR-Signale beobachten, die sie mit MCR_{red1} und MCR_{red2} bezeichneten (Fig. 2). MCR_{red1} ist vom axialen Typ, nahezu identisch mit dem Spektrum von Ni^{I} -F430M und wurde deshalb der quadratisch planaren Ni^{I} -Form des enzymgebundenen Coenzym zugeordnet. Diese Zuordnung wird durch die

Beobachtung der für Ni^{I} -F430 typischen, starken Bande bei 380 nm im UV/VIS-Spektrum des hochaktiven Enzyms bestätigt. Das zweite ESR-Signal (MCR_{red2}) ist ausgeprägt rhombisch und wurde bisher an keiner Form des isolierten Coenzym beobachtet. Da das Ni-Zentrum von F430 jedoch das einzige Metall im Enzym ist, muss auch dieses Signal entweder von einer zweiten Ni^{I} - oder von einer Ni^{III} -Form des Coenzym stammen. Der Aufklärung der zu MCR_{red2} gehörenden Struktur kommt deshalb im Bezug auf die mechanistische Frage zentrale Bedeutung zu.

3. Vergleichende Untersuchungen zur Redox-Chemie von F430-Derivaten

Die *in vivo* ESR-Ergebnisse belegen, dass die Ni^{I} -Form von Coenzym F430 in der Zelle gebildet wird, und deuten darauf hin, dass dieser Valenzform die Rolle eines Zwischenprodukts in der enzymatischen Reaktion zukommt. Neben der katalytischen Wirkungsweise wird dadurch auch die eher strukturelle Frage interessant, weshalb Coenzym F430 (1) bei vergleichsweise positivem Potential zur Ni^{I} -Form reduziert werden kann.

Dass dies nicht trivial ist, zeigt ein Blick auf die bekannte Redox-Chemie hydroporphinoider Nickelkomplexe aus der Octaalkyl-porphyrin Reihe.

Ni-Octaethyl-porphyrin wird bei ca. -1.5 V vs. SCE zum Ni^{II} -Ligand- π -radikal reduziert [13]. Die Reduktionsprodukte von Ni-Chlorinaten sind sehr kurzlebig, so dass bis heute keine ESR-spektroskopische Charakterisierung gelang; das Halwellenpotential von Ni-Octaethyl-chlorinat liegt bei ca. -1.45 V. Ni-Bacteriochloro-

inate [14] werden ebenfalls zu π -Radikalen reduziert. Die einzigen hydroporphinoiden Ni-Komplexe, für die bisher konsistent eine Reduktion zur Ni^{I} -Form nachgewiesen wurde, sind die Ni-Isobacteriochlorinate [15]. Ihr Reduktionspotential liegt allerdings sehr tief, Ni-Octaethylisobacteriochlorinat z.B., wird bei -1.54 V reduziert.

Coenzym F430 ist wesentlich leichter zu reduzieren als alle oben angeführten Präzedenzfälle. Sein vergleichsweise positives, offensichtlich unter den physiologischen Bedingungen der Bakterienzelle erreichbares Potential von ca. -0.86 V muss, ebenso wie die metallzentrierte Natur der Reduktion, eine Folge der spezifischen Strukturmerkmale des makrocyclischen Liganden sein. Durch vergleichende Untersuchungen zur Redoxchemie einer Reihe von partialsynthetischen Derivaten von F430M gelang es uns, einen Teil dieser Zusammenhänge aufzuzeigen. Dabei kam uns zu Nutzen, dass im Rahmen der Arbeiten zur Strukturaufklärung von F430, A. Fässler [16] und A. Kobelt [17] (Arbeitsgruppe A. Eschenmoser) mehrere dieser Derivate dargestellt hatten und uns diese nun, wenngleich teilweise in sub- μ Mol Mengen, zur Verfügung standen.

4. Metallzentrierte vs. ligandzentrierte Reduktion

Im Rahmen der Molekülorbital-Theorie lässt sich die Frage, ob die Reduktion ligand- oder metallzentriert abläuft, auf die relative Lage der tiefsten unbesetzten Orbitale mit Metall- ($d_{x^2-y^2}$), resp. Ligand- π^* -Charakter zurückführen (s. Fig. 3). Da diese beiden Orbitale aus Gründen lokaler

Symmetrie praktisch nicht gemischt werden, fällt die Antwort auch experimentell stets eindeutig aus. Im ESR-Spektrum des Reduktionsprodukts aller bisher charakterisierten hydroporphinoiden Ni-Komplexe wurden entweder stark anisotrope, axiale ESR-Signale mit $|g_{\parallel} - g_{\perp}| > 2.0$ beobachtet, welche anzeigen, dass das ungepaarte Elektron sich in einem Orbital von Typ $d_{x^2-y^2}$ aufhält, oder praktisch isotrope, für π -Radikale typische Spektren mit $g \approx 2.0$.

Metallzentrierte Reduktion wird durch Strukturelemente begünstigt, die entweder das äquatoriale Ligandenfeld abschwächen und damit das $d_{x^2-y^2}$ Orbital absenken oder die Energie des tiefsten π^* -Orbitals anheben.

Dass Fälle metallzentrierter und ligandzentrierter Reduktion strukturell sehr nahe beieinander liegen können, zeigt der Vergleich der beiden Didehydro-Derivate von F430M (3, 4)

12,13-Didehydro-F430M (3) ist der Pentamethylester des bekannten Autooxidationsprodukts, welches besonders in polaren Lösungsmitteln und bei hohem pH aus F430 an der Luft entsteht [18].

Das cyclische Voltammogramm von 3 zeigt zwei Reduktionswellen. Die erste, voll reversible Reduktion liegt mit -0.45 V bei deutlich positiverem Potential als diejenige von F430M (2). Die zweite Reduktionswelle ist *quasi*-reversibel und ist im Vergleich zur Reduktion von F430M um 0.1 V kathodisch verschoben. Das ESR-Spektrum des Produkts der ersten Reduktionsstufe zeigt eine isotrope Linie bei $g = 2.01$ und belegt damit klar, dass 3 zum Ligand- π -Radikal reduziert wird (Fig. 4a). Reduktion um ein weiteres Elektron führt zu einer nicht ESR-aktiven Spezies, der wir auf Grund ihres Reaktionsverhaltens mit Alkyl-Halogeniden und der Kinetik des heterogenen Elektronentransfers die Struktur eines Singlett Ni^I -Ligand- π -Radikals zuordnen.

Das zu 3 isomere 19,20-didehydro-F430M (4) wurde durch Veresterung einer kürzlich aus Proben von nativem F430 isolierten Verunreinigung erhalten. Seine Konstitution wurde durch eine vollständige 1H - und ^{13}C -NMR-spektroskopische Analyse, FAB-MS und UV/VIS aufgeklärt [19]. Obwohl die Entstehungsweise von 4 noch unklar ist, und es bisher nicht gelang, 4 aus F430 gezielt herzustellen, handelt es sich um eine ausgesprochen interessante, neuartige Verbindungsklasse: 19,20-Didehydro-F430M (4) ist ein Decahydroporphin, welches das Ligandgerüst eines Porphins und den linearen, über vier Stickstoffe ausgedehnten Chromophor eines Corrins aufweist.

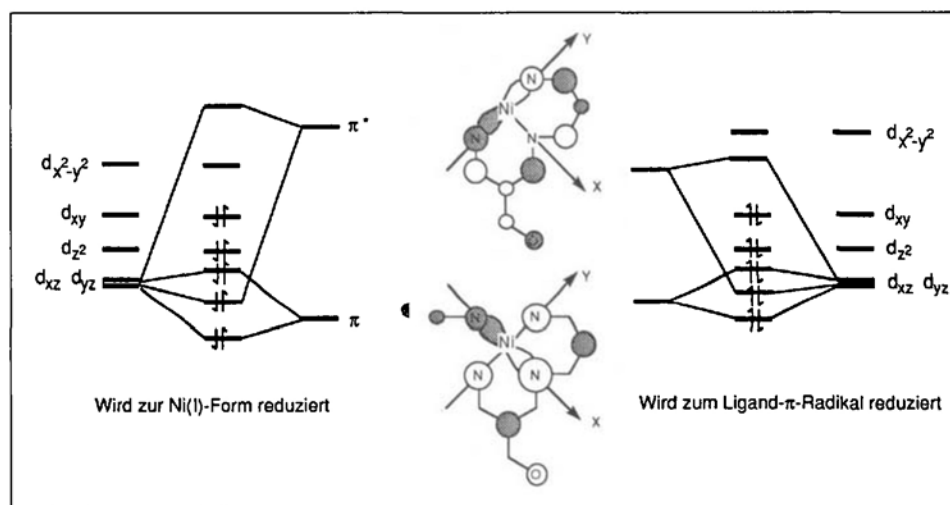
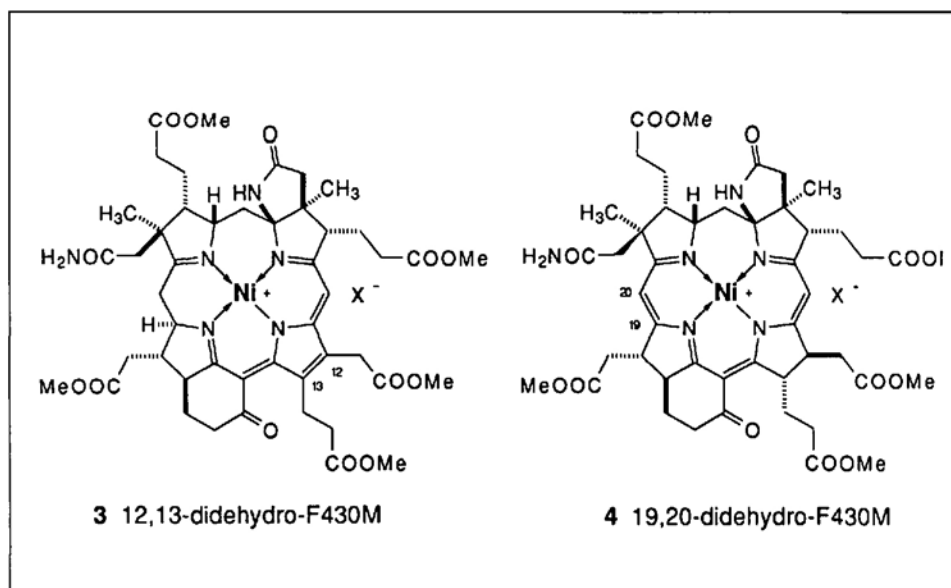
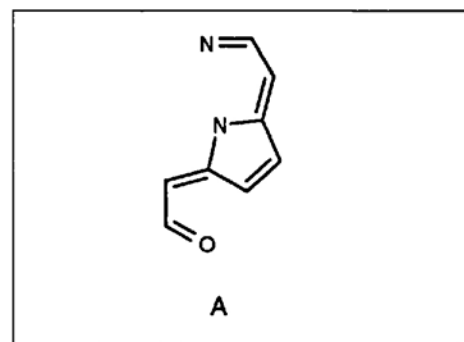


Fig. 3. Schematische Darstellung der Grenzorbitale

Das cyclische Voltammogramm von 4 zeigt eine einzige, gegenüber F430M leicht anodisch verschobene Reduktionswelle. Das anisotrope ESR-Spektrum des Reduktionsprodukts belegt, dass dieses Didehydro-Derivat von F430M, im Gegensatz zu 3, metallzentriert zur Ni^I -Form reduziert wird (Fig. 4b).

Weshalb wird 12,13-Didehydro-F430M (3) als bisher einziges der untersuchten F430-Derivate zum π -Radikal reduziert? Die Ausbildung einer pyrrolischen Konjugation im Ring C kann nicht der alleinige Grund sein, da auch die zur Ni^I -Form reduzierbaren Isobacteriochlorine pyrrolische Konjugation aufweisen.

Wir vermuten, dass die vinylog-chinonide Teilstruktur A die π -Akzeptor-Eigenschaften des Chromophors so stark erhöht, dass das tiefstliegende π^* -Orbital nicht nur unter das $d_{x^2-y^2}$ Orbital abgesenkt wird, sondern ein gegenüber F430M um ≈ 0.4 V anodisch verschobenes Potential resultiert.



5. Strukturelemente, welche die Reduktion erleichtern

Wird ein hydroporphinoider Ni-Komplex zur Ni^I -Form reduziert, bestimmt die Stärke des äquatorialen Ligandenfelds (Energie des $d_{x^2-y^2}$ Orbitals) in der Ni^{II} - und in der Ni^I -Form das Reduktionspotential [20]. Strukturelemente, die durch Erhöhung der (Ni-N)-Distanzen oder durch Absenkung der Ladungsdichte auf den N-

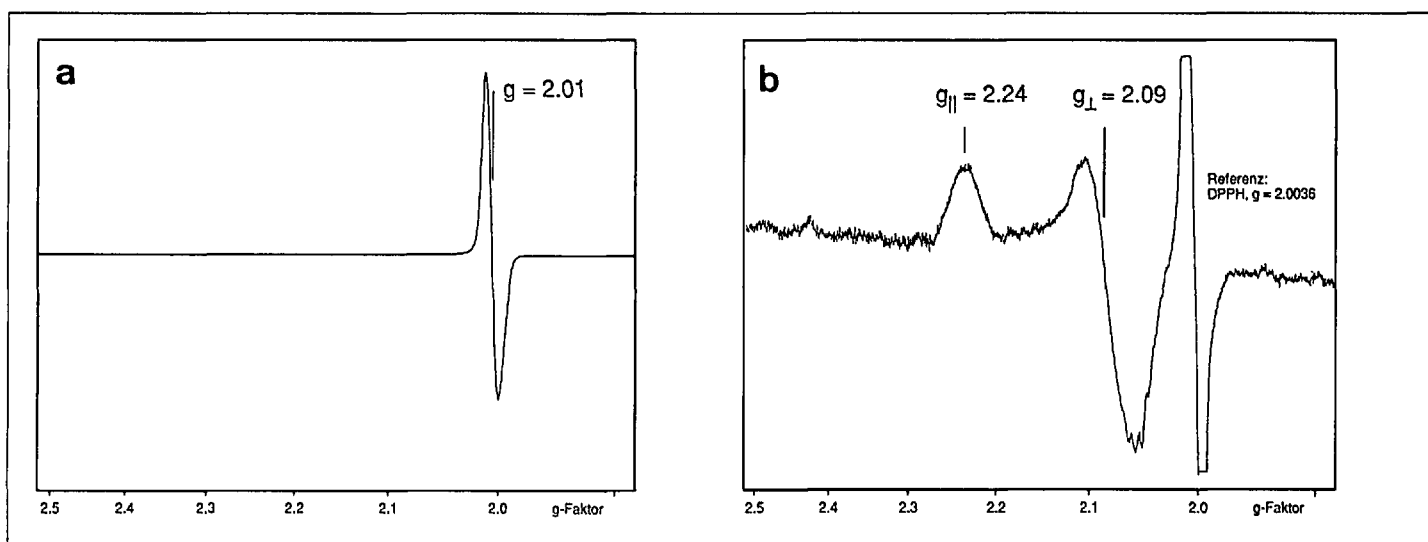


Fig. 4. ESR-Spektren des Einelektronen-Reduktionsprodukts von a) 12,13-Didehydro-F430M (3); b) 19,20-Didehydro-F430M (4) (Reduktion mit Na/Hg in THF, gefrorene Lösung bei 77 K)

Ligand-Atomen das Ligandenfeld schwächen, erleichtern die Reduktion.

Die Analyse wird allerdings dadurch kompliziert, dass die vierfach koordinierte, low-spin Ni^{II} -Form von F430M in Gegenwart von zusätzlichen Liganden wie Chlorid oder Imidazol in fünf- und sechsfach koordinierte 'high-spin'-Komplexe übergeht. Diese Eigenschaft der vierfach koordinierten Form von F430M wurde als Folge eines für 'low-spin'- Ni^{II} zu grossen Koordinationsraums interpretiert. *Eschenmoser* und *Kratky* konnten durch Röntgen-Strukturanalyse einer Reihe von hydrophorinoiden 'low-spin'- Ni^{II} -Komplexen zeigen, dass diese eine sattelförmige Deformation des makrocyclischen Liganden aufweisen [21], welche zwar zu kürzeren mittleren (Ni-N)-Distanzen, aber auch zu Torsionsspannung im Makrocyclen führt. Der Abbau dieser Torsionsspannung beim Übergang in die 'high-spin'-Form wäre demnach die treibende Kraft für die Anlagerung von axialen Liganden.

Im Gegensatz zur Ni^{II} -Valenzform bleiben die ESR- und UV/VIS-Spektren von Ni^{I} -F430M in Gegenwart von potentiellen Liganden unverändert, was darauf hindeutet, dass das Ni-Zentrum die axiale Elektrophilie durch die Reduktion verliert.

EXAFS- und Röntgen-Strukturanalysen von Modellkomplexen zeigen, dass die (Ni-N)-Distanzen für das Ni^{I} -Ion und das 'high-spin'- Ni^{II} -Ion etwa gleich gross sind und etwa 0.2 Å grösser als für 'low-spin'- Ni^{II} [22]. Während die Reduktion der vierfach koordinierten Form mit einer geometrischen Anpassung des Makrorings an das grössere Ni^{I} -Ion einhergehen muss, ist diese bei der Reduktion des fünf- oder sechsfach koordinierten Komplexes durch

den Übergang in die 'high-spin'-Form bereits vorweggenommen. Fünf- und sechsfach koordinierte Komplexe müssten deshalb schwieriger zu reduzieren sein als die vierfach koordinierte Form. Die experimentellen Werte von $\Delta E_{1/2} = 0.16$ V für Imidazol und von $\Delta E_{1/2} = 0.2$ V für Chlorid zeigen, dass der Effekt zwar signifikant, im Vergleich zu den unten zu diskutierenden anderen Beiträgen aber nicht dominant ist.

Die Zahl und Art allfälliger axialer Liganden im Enzym ist noch unbekannt. EXAFS, MCD- und Raman-Messungen an weitgehend inaktivem Enzym ergaben zwar übereinstimmend, dass Coenzym F430 in der 'high-spin'- Ni^{II} -Form vorliegt. Da die neuesten Ergebnisse von *Thauer* und Mitarbeitern [12b] aber darauf hindeuten, dass das Ni-Zentrum in der aktiven Form des Enzyms in der Ni^{I} -Form vorliegt, und bis heute kein Weg gefunden wurde, durch Sauerstoff-Kontakt zu Ni^{II} oxidiertes Enzym reduktiv zu reaktivieren, stehen schlüssige Resultate über die Koordinationshülle im aktiven Enzym noch aus. Aus denselben Gründen ist es bis jetzt nicht gelungen, das Reduktionspotential von Coenzym F430 im Enzym zu bestimmen.

Bezüglich der oben diskutierten wichtigen Fähigkeit, sich dem grossen Ni^{I} -Ion spannungsfrei anpassen zu können, dürften sich die Ni-Isobacteriochlorinate nicht wesentlich von F430 unterscheiden. Dafür spricht auch der Befund, dass sich 19,20-Didehydro-F430M (4), dessen Makrocyclen bezüglich Grösse und Flexibilität zwischen den Isobacteriochlorinaten und F430 liegt, sogar etwas leichter zu reduzieren ist als F430M. Welche Strukturelemente hauptsächlich dazu beitragen, dass das Potential von F430M (2) um ca.

0.65 V höher liegt als dasjenige von Ni-Octaethyl-isobacteriochlorinat, wird aus dem Vergleich mit den aus F430 partialsynthetisch hergestellten Verbindungen 5–7 deutlich.

Das Isobacteriochlorinat 5 hat mit -1.59 V vs. SCE ein sehr ähnliches Reduktionspotential wie das von *Stolzenberg et al.* untersuchte Ni^{II} -Octaethyl-isobacteriochlorinat (-1.54 V). Der Übergang vom doppelt negativ geladenen Isobacteriochlorinat-Liganden zum einfach geladenen Liganden des Tetrahydrocorphinats (vgl. 5 und 7) verschiebt das Reduktionspotential um 0.2–0.3 V in anodischer Richtung. Den grössten Anteil an der leichten Reduzierbarkeit von F430M (2) aber hat die (C=O)-Gruppe an C(15), die sowohl auf der Stufe der Isobacteriochlorinate (>0.4 V zwischen 6 und 5), wie auf der Stufe des Tetrahydrocorphinats (>0.3 V zwischen 2 und 7) mehr als die Hälfte des Potentialunterschieds zwischen Isobacteriochlorinat 5 und F430M (2) ausmacht. Die Bildung des Sechsrings zwischen Ring D und C(15) ist deshalb eine notwendige Voraussetzung dafür, dass F430 bei physiologisch erreichbarem Potential reduziert werden kann. Zweifellos wird durch die konjugierte (C=O)-Gruppe an C(15) auch das tiefstliegende π^* -Orbital von F430 im Vergleich zu 7 abgesenkt. Im Gegensatz zu 12,13-Didehydro-F430M (3) führt dies aber nicht zu einem Wechsel von der metallzentrierten zur ligandzentrierten Reduktion.

6. Zusammenfassung

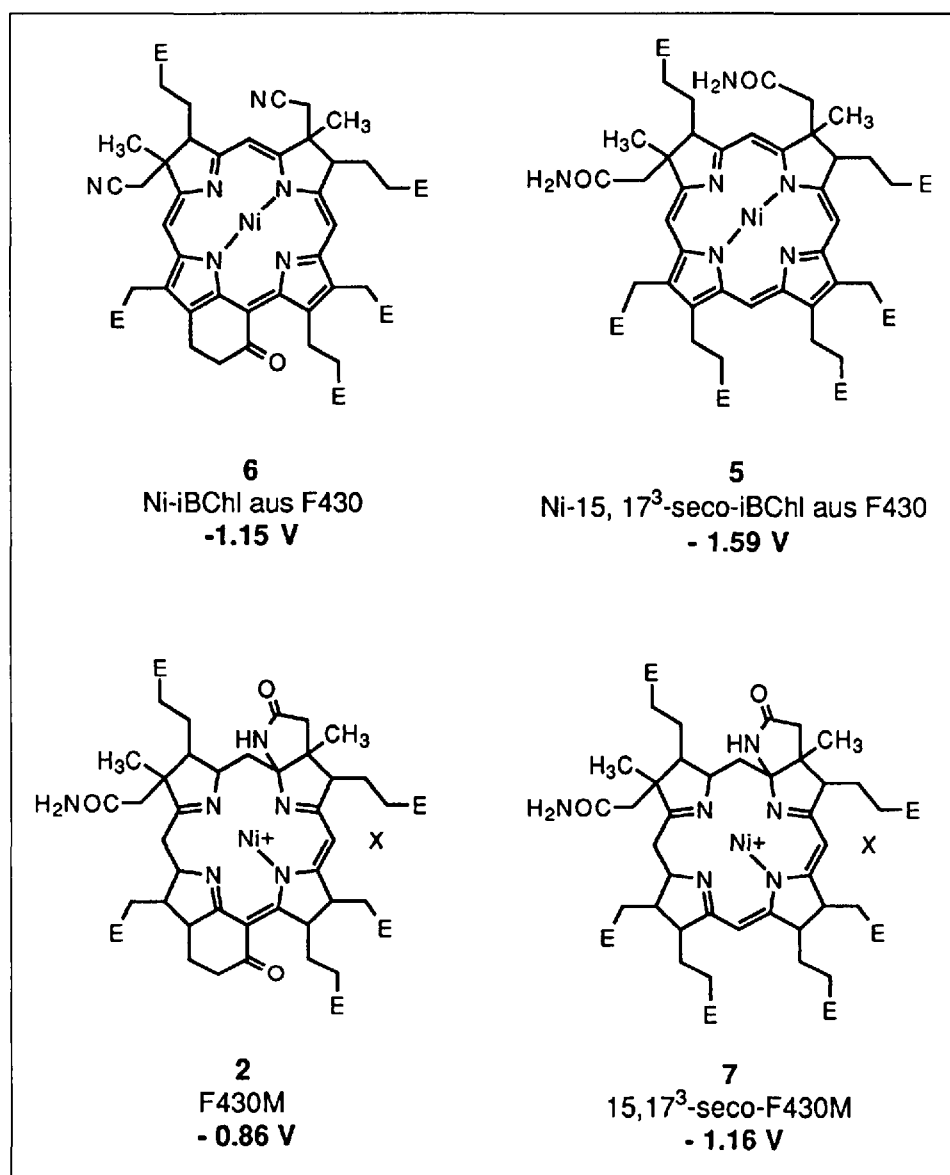
Die Ergebnisse der vergleichenden Untersuchungen zur Redox-Chemie von F430 und seinen Derivaten deuten darauf

hin, dass die Natur bei der Selektion des Strukturtyps von Coenzym F430 eine Gratwanderung durchführen musste. Die spezifischen Strukturelemente von F430, deren Einfluss wir bisher untersucht haben, tragen nicht nur dazu bei, sondern scheinen notwendig zu sein, um die für die katalytische Funktion im Enzym unerlässliche metallzentrierte Reduktion bei akzessiblem Potential zu ermöglichen.

Eine Ausnahme bildet die Unterbrechung des Chromophors zwischen C(19) und C(20). Die Ergebnisse für 19,20-Dihydro-F430M (4) zeigen, dass diese weder die Regioselektivität der Reduktion noch das Redoxpotential wesentlich beeinflusst. Erst ein vollständigeres Bild des enzymatischen Mechanismus wird es ermöglichen zu beurteilen, ob auch dieses Strukturmerkmal eine spezifische Bedeutung hat.

Ich danke Dr. Shu-Kun Lin, Dr. Christoph Spinner und Dr. Jerzy Lisowski für ihre engagierte Mitarbeit an diesem Projekt. Den Arbeitsgruppen von Prof. A. Eschenmoser, Prof. R.K. Thauer und Prof. A. Pfaltz danke ich für die langjährige, fruchtbare Zusammenarbeit und die grosszügige Überlassung von Substanzen und Bakterienzellen. Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung und von der ETH-Zürich finanziell unterstützt.

Eingegangen am 2. Februar 1994



- [1] W.J. Jones, D.P. Nagle, W.B. Whitman, *Microbiol. Rev.* **1987**, 51, 135.
- [2] a) R.S. Wolfe, in 'The Molecular Basis of Bacterial Metabolism', Eds. G. Hauska und R. Thauer, Springer, Berlin, 1990, S. 1; b) R.K. Thauer, A. Brandis-Heep, G. Diekert, H.H. Gilles, E.-G. Graf, R. Jaenchen, P. Schönheit, in 'Environmental Regulation of Microbial Metabolism', Eds. I.S. Kulaev, E. A. Dawes und D. W. Tempest, Academic Press, New York, 1985, S. 231.
- [3] C.D. Taylor, R.S. Wolfe, *J. Biol. Chem.* **1974**, 249, 4879.
- [4] J. Ellermann, A. Kobelt, A. Pfaltz, R.K. Thauer, *FEBS Lett.* **1987**, 220, 358.
- [5] a) R.K. Thauer, K. Jungermann, K. Decker, *Bacteriol. Rev.* **1977**, 41, 100; b) L. Daniels, *Trends Biotechnol.* **1984**, 2, 91; c) L. Daniels, R. Sparling, G.D. Sprout, *Biochim. Biophys. Acta* **1984**, 768, 113.
- [6] W.L. Ellefson, R.S. Wolfe, *J. Biol. Chem.* **1981**, 256, 4259.
- [7] a) A. Pfaltz, B. Jaun, A. Fässler, A. Eschenmoser, R. Jaenchen, H.H. Gilles, G. Diekert, R.K. Thauer, *Helv. Chim. Acta* **1982**, 65, 828; b) D.A. Livingston, A. Pfaltz, J. Schreiber, A. Eschenmoser, D. Ankel-Fuchs, J. Moll, R. Jaenchen, R.K. Thauer, *ibid.* **1984**, 67, 334; c) A. Fässler, A. Kobelt, A. Pfaltz, A. Eschenmoser, C. Bladen, A.R. Battersby, R.K. Thauer, *ibid.* **1985**, 68, 2287; d) G. Färber, W. Keller, C. Kratky, B. Jaun, A. Pfaltz, C. Spinner, A. Kobelt, A. Eschenmoser, *ibid.* **1991**, 74, 697.
- [8] A. Pfaltz, A. Kobelt, R. Hüster, R.K. Thauer, *Eur. J. Biochem.* **1987**, 170, 459.
- [9] L.P. Wackett, J.F. Honek, T.P. Begley, S.L. Shames, E.C. Niederhoffer, R.P. Hausinger, W.H. Orme-Johnson, C.T. Walsh, in 'The Bioorganic Chemistry of Nickel', Ed. J.R. Lancaster, VCH Publishers, New York, 1988, S. 262.
- [10] B. Jaun, A. Pfaltz, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1986**, 1327.
- [11] Ch. Holliger, A.J. Pierik, E.J. Reijerse, W.R. Hagen, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 5651.
- [12] a) S.P.J. Albracht, D. Ankel-Fuchs, R. Böcher, J. Ellermann, J. Moll, J.W. van der Zwaan, R.K. Thauer, *Biochim. Biophys. Acta* **1988**, 955, 86; b) S. Rospert, R. Böcher, S.P.J. Albracht, R.K. Thauer, *FEBS Lett.* **1991**, 291, 371; c) J.A. Krzycki, R.C. Prince, *Biochim. Biophys. Acta* **1990**, 1015, 53.
- [13] a) D. Chang, T. Malinski, A. Ulman, K.M. Kadish, *Inorg. Chem.* **1984**, 23, 817; b) D. Lexa, M. Momenteau, J. Mispelter, J.M. Savéant, *ibid.* **1989**, 28, 30.
- [14] L. R. Furenlid, M.W. Renner, K.M. Smith, J. Fajer, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 1634; b) M.W. Renner, A. Forman, J. Fajer, D. Simpson, K.M. Smith, K.M. Barkigia, *Biophys. J.* **1988**, 53, 277.
- [15] A. Stolzenberg, M.T. Stershic, *Inorg. Chem.* **1987**, 26, 3082.
- [16] A. Fässler, Dissertation ETH Nr. 7799, Zürich, 1985.
- [17] A. Kobelt, Dissertation ETH Nr. 8509, Zürich, 1988.
- [18] A. Pfaltz, D.A. Livingston, B. Jaun, G. Diekert, R.K. Thauer, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1985**, 68, 1338.
- [19] Ch. Spinner, Dissertation, ETH Nr. 10394, 1993.
- [20] D.H. Bush, *Acc. Chem. Res.* **1978**, 11, 392.
- [21] a) C. Kratky, R. Waditschatka, C. Angst, J. E. Johansen, J. C. Plaquevent, J. Schreiber, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1985**, 68, 1312; b) A. Eschenmoser, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1986**, 471, 108.
- [22] a) A.K. Shiemke, J.A. Shelnut, and R.A. Scott, *J. Biol. Chem.* **1989**, 264, 11236; b) A.K. Shiemke, W.A. Kaplan, C.L. Hamilton, J.A. Shelnut, R.A. Scott, *ibid.* **1989**, 264, 7276; c) L.R. Furenlid, M.W. Renner, J. Fajer, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 8987.