

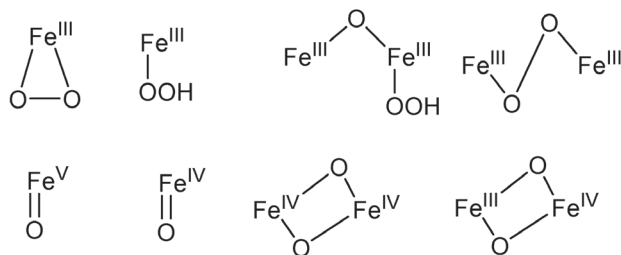
## Divastartalmú oxidoreduktázok szerkezeti és funkcionális modelljei

SZÁVULY Miklós István<sup>a</sup>, LAKK-BOGÁTH Dóra<sup>a</sup>, CSONKA Róbert<sup>a</sup>, TURCAS Ramona<sup>a</sup>, SPEIER Gábor<sup>a</sup> és KAIZER József<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>PE Kémia Intézet, Bioszerves és Biokordinációs Kémiai Kutatócsoport, Egyetem utca 8., 8200 Veszprém, Magyarország

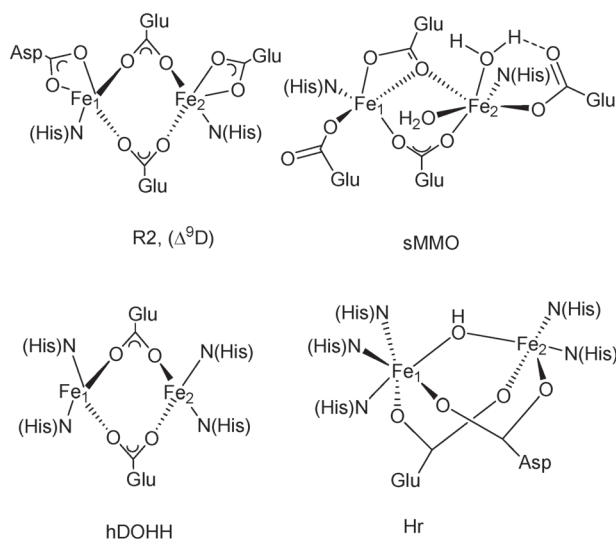
A triplett-állapotú dioxidigén két pártalan elektronnal rendelkezik, stabilis és ezért szingulett-állapotú szerves szubsztrátumokkal szemben inert. A lényegesen nagyobb energiátartalmú, instabilabb szingulett-állapotú dioxidigén reaktivitása nagyobb és redoxireakciókban, valamint elektrociklikus reakciókban (pl. olefinekkel, *Diels-Alder*-típusú reakciókban) jól reagál. A dioxidigénnek a redoxireakciókban mutatott viszonylagos inertisége az első elektron termodinamikailag kedvezőtlen felvételével is magyarázható ( $E^0 = -0,32$  V). A spin-tiltott folyamat tehát a dioxidigén fotooxidációs, illetve átmenetifémekkel történő oxidatív-addíciós reakciójával oldható fel.

A dioxidigént felhasználó metalloenzimek (oxidoreduktázok) és szintetikus modelljeik kapcsán az elsődleges kérdés, hogy a dioxidigén aktiválása milyen módon, milyen lépéseken keresztül valósul meg. Ennek megértésében sokat segíthet az intermedier-kutatás, amelynek feladata, hogy az enzimmolekulákban és az azokat modellező biotúntató rendszerekben a reaktív intermedierek elkülönítésén és spektroszkópiai jellemzésén keresztül információt nyújtson a dioxidigén- és rajta keresztül a szubsztrátaktiválás mechanizmusáról. A vastartalmú oxidoreduktázok az aktív centrumban lévő fémionok száma szerint egy- illetve kétmagvú, a fémek koordinációs övezete alapján pedig hem-típusú és nem-hem-típusú csoportra oszthatóak. A hem-típusú enzimekben a vasiont a porfirinligandum övezi, míg a nem-hem-típusú enzimekben a vasiontartalmú kavitás két jellegzetes aminosavrézből; hisztidinből és egy savas (aszparaginsav, glutaminsav) egységből épül fel. Utóbbiak igen változatos módon, egy-, illetve kétfogú, valamint terminális és hídhelyzetű ligandumként is részt vehetnek a komplexképzésben.<sup>1</sup> A termodinamikailag inert dioxidigénmolekula aktiválását reaktív peroxo- és oxo-intermedierek képződésén keresztül képzelik el, amelyek reakciója a megfelelő szubsztrátum molekulával már könnyen értelmezhető (1. ábra).



1. Ábra. Vastartalmú enzimek reaktív intermedierjei

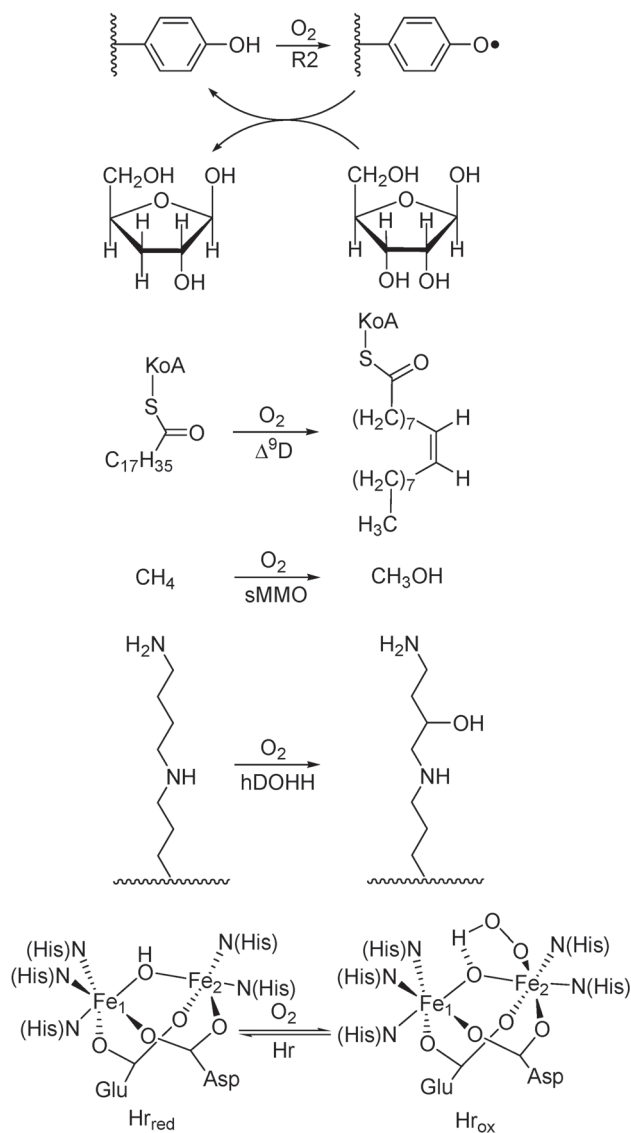
A nem-hem-típusú divastartartalmú enzimek funkciójukat tekintve igen változatos kémiai reakciókért felelősek. Ide sorolható pl. a ribonukleotid reduktáz (R2), a sztearil-ACP  $\Delta^9$  deszturáz ( $\Delta^9$ D, ACP = acilhordozó fehérje), az oldható metán-monooxigenáz (sMMO), a human deoxihipuszín hidroxiláz (hDOHH) és a hemeritrin (Hr) (2. Ábra).<sup>2</sup>



2. Ábra. Néhány divas(II)tartalmú enzim aktív centruma.

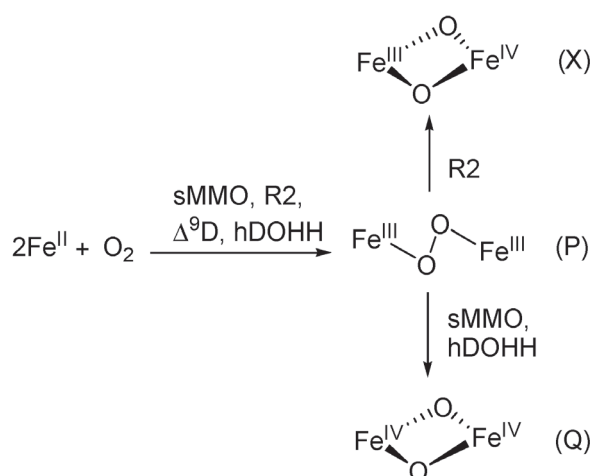
Az R2 enzimet *Escherichia coli* és *Salmonella typhimurium* baktériumokból izolálták. Utóbbi esetében az aktív centrum röntgendiffrakciós szerkezetét is sikerült meghatározni. Ezen enzimek a DNS szintézishez elengedhetetlen dezoxi-ribonukleotidokat állítják elő a ribonukleotidok redukciójával. Ezen folyamat a reakcióban nélkülözhetetlen tirozil gyök kialakításán keresztül értelmezhető.<sup>3</sup> A  $\Delta^9$ D enzimek segítségével a sztearinsav *cis*-helyzetű kettőskötést ( $C^9=C^{10}$ ) tartalmazó telítetlen zsírsavvá, olajsavvá alakul át,<sup>4</sup> míg a metanotróf baktériumokban (*Methylococcus capsulatus*, *Methylosinus trichosporium*) található sMMO enzim a metán metanollá történő szelektív oxidációját katalizálja.<sup>5,6</sup> A hDOHH enzim a hipuszín szintézisében vesz részt. A legújabb kutatások azt sejtetik, hogy az enzimnek és az általa katalizált folyamatoknak a megértése nagyban hozzájárulhat új antitumor és anti-HIV-1 terápiák kidolgozásához.<sup>7,8</sup> A Hr a dioxidigén reverzibilis megkötésében játszik szerepet (3. Ábra).<sup>9,10</sup>

\* Tel.: +36-88-624-720; fax: +36-88-624-469; e-mail: kaizer@almos.vein.hu

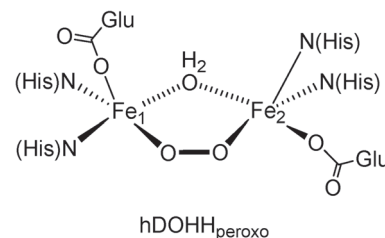


3. Ábra. Néhány divas(II)tartalmú enzim által katalizált reakció

A fenti enzimek redukált formája dioxigénnel metastabilis intermediereket eredményez, amelyek szerkezetét UV-vis, rezonancia-raman és némely esetben röntgendiffrakciós mérésekkel (EXAFS, X-ray) igazolták.<sup>2</sup> Ezen eredmények alapján az oxidált forma a Hr enzim esetében egy  $\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-O}_2\text{R})_2(\mu\text{-O})\text{Fe}^{\text{III}}\text{OOH}$ , míg az R2 (élettartam: 2,7 perc),  $\Delta^9\text{D}$  (30 perc), sMMO (1 s) és hDOHH enzimek esetében egy  $\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-O}_2)\text{Fe}^{\text{III}}$  szerkezetű peroxidhoz (P) vezet (3-4. Ábra). Az UV-vis spektrum 5-800 nm tartományában megjelenő elnyelések az  $\text{O}_2^{2-} \rightarrow \text{Fe}^{\text{III}}$  töltésátvitelhez (CT), a rezonancia-raman spektrum 8-900  $\text{cm}^{-1}$  tartományában megjelenő rezgések pedig a peroxid  $\nu(\text{O-O})$  rezgéséhez rendelhetők. Az EXAFS mérések az első koordinációs övezetben uralkodó viszonyokat (kötéstávolságokat) írják le, beleértve a Fe-Fe távolságokat. Az így kialakult intermedierek egyfajta puffer szerepet töltenek be, az adott szubsztrátum reakciója a belőlük levezethető reaktív, magas vegyértékű  $\mu\text{-oxo}$  komponensekhez (X, Q) köthetőek. A hDOHH esetében a képződő  $\text{hDOHH}_{\text{peroxo}}$  enzim stabilitása lehetővé tette a röntgendiffrakciós szerkezetének a meghatározását (5. Ábra).<sup>7</sup>



4. Ábra. Divas(II)tartalmú enzimek reaktív intermedierei

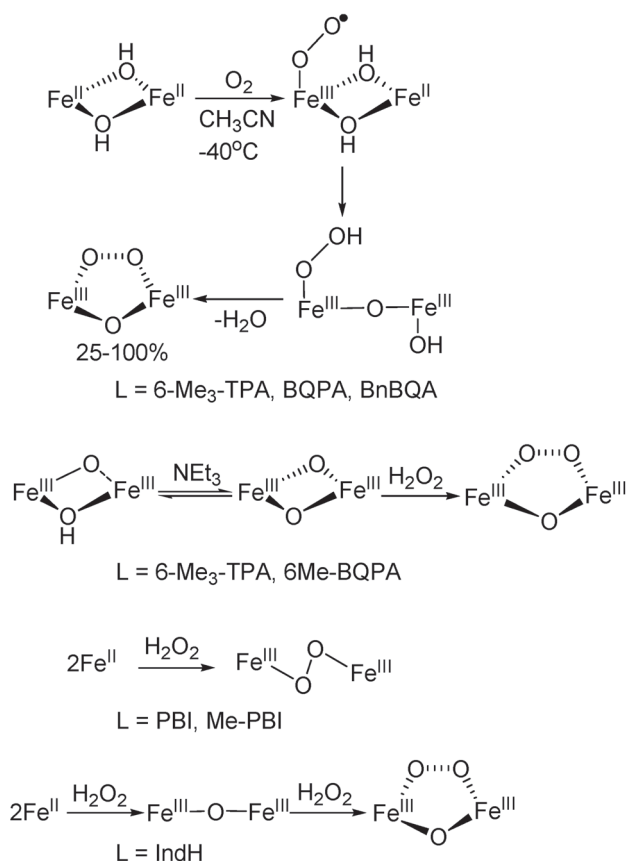


5. Ábra. A  $\text{hDOHH}_{\text{peroxo}}$  enzim röntgenszerkezete

A nagyfokú stabilitás (1-2 nap szobahőmérsékleten) a fémionok környezetében fellelhető nagyszámú hisztidinnek, valamint a karboxilátok terminális helyzetével magyarázható.

Az irodalomban számos peroxo-divas(III) szerkezet található, melyek az előbbieken ismertetett enzimek szerkezeti modelljeinek tekinthetők. Ezen komplexek jól megválasztott ligandumokkal képzett prekursor vegyületek felhasználásával készültek dioxigén és/vagy  $\text{H}_2\text{O}_2$  hatására. Az előállításukhoz vas(II), vas(III), egy és kétmagvú komplexek is felhasználhatóak. Ezekben többnyire *N*-donoratomot tartalmazó, polipiridil-típusú ligandumokat találhatunk.

Az eddig ismert peroxo-divas(III) komplexek igen változatos szerkezetekkel írhatóak le:  $\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-O}_2)\text{Fe}^{\text{III}}$ ;  $\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-O})(\mu\text{-O}_2)\text{Fe}^{\text{III}}$ ,  $\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})(\mu\text{-O}_2)\text{Fe}^{\text{III}}$ ,  $\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OR})(\mu\text{-O}_2)\text{Fe}^{\text{III}}$ ,  $\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OR})(\mu\text{-O}_2\text{CR}')(\mu\text{-O}_2)\text{Fe}^{\text{III}}$ . A legelterjedtebbek a  $\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-O})(\mu\text{-O}_2)\text{Fe}^{\text{III}}$  szerkezetek, melyek  $\text{Fe}^{\text{II}}(\mu\text{-OH})_2\text{Fe}^{\text{II}}$  - dioxigén,  $\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-O})(\mu\text{-OH})\text{Fe}^{\text{III}}$  -  $\text{H}_2\text{O}_2$ , valamint  $\text{Fe}^{\text{II}}$  -  $\text{H}_2\text{O}_2$  reakciójával állíthatók elő (6. Ábra). Ezek többsége csak alacsony hőmérsékleten ( $\sim 40^\circ\text{C}/\text{CH}_3\text{CN}$ ,  $\sim 60^\circ\text{C}/\text{CH}_3\text{CN}$ ) generálható, izolálható. Kivételt képez az IndH ligandummal képzett peroxid, amely szobahőmérsékleten is képezhető.  $\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-O}_2)\text{Fe}^{\text{III}}$  összetételű szerkezethez juthatunk  $\text{Fe}^{\text{II}}$  prekursor hidrogénperoxiddal történő reakciójával. PBI és Me-PBI ligandumok esetében az eddig ismert legstabilabb komplexekhez jutottak. Stabilitásuk segédligandumok alkalmazásával (szubsztituált piridinek) tovább növelhető. A szintézisek során felhasznált ligandumok a 7. ábrán láthatóak.

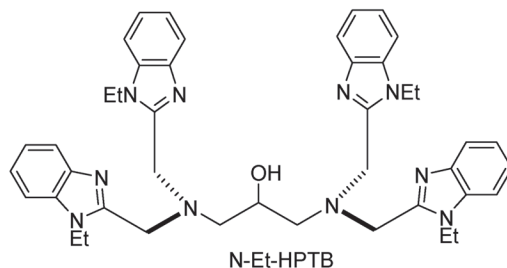
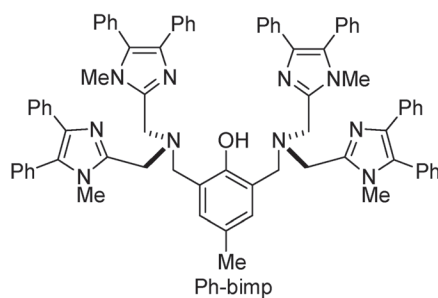
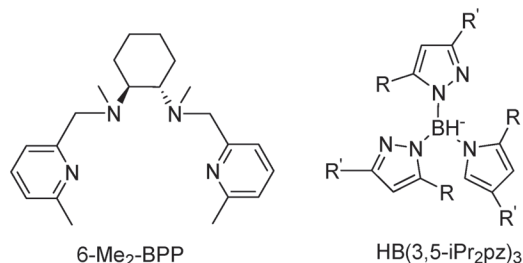
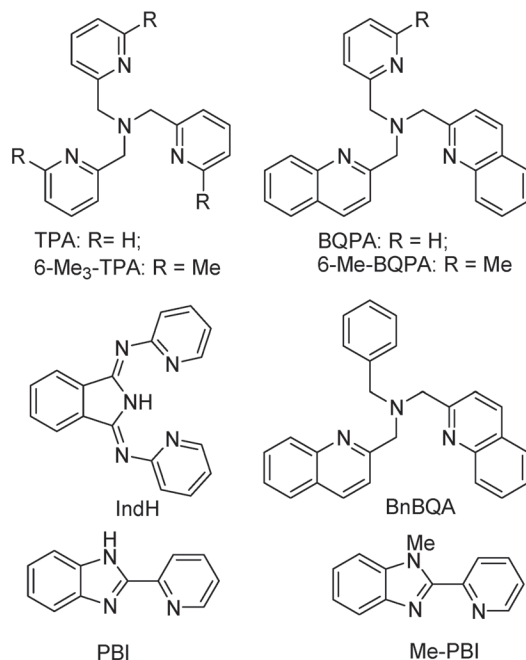


6. Ábra. Néhány irodalmi példa peroxo-divas(III) komplexek előállítására

Az előállított intermedierekhez az enzimekhez hasonlóan karakterisztikus UV-vis elnyelések és rezonancia-raman rezgések rendelkeznek. Ezek alapján, kiegészítve a röntgendiffrakciós mérések eredményeivel (EXAFS, X-ray), számos hasznos információ nyerhető az adott szerkezetre vonatkozóan. Az irodalomban fellelhető adatokat az 1. Táblázatban tüntettem fel.

Az irodalomban található adatokat elemezve megállapítható, hogy a peroxo-divas(III) komplexekben a vasak közötti távolságot nagymértékben meghatározza, hogy az ionok között milyen hidligandum foglal helyet. A legnagyobb Fe-Fe távolság (4,01 Å) a [Fe<sub>2</sub>(HB(3,5-iPr<sub>2</sub>pz)<sub>3</sub>)<sub>2</sub>](μ-O<sub>2</sub>)(μ-O<sub>2</sub>CCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>] komplex esetében figyelhető meg, ahol a Fe-O-O-Fe egységet két hidhelyzetű karboxilátsoport egészíti ki. A legkisebb Fe-Fe távolságok (~3,15 Å) pedig az oxohidas szerkezeteknél találhatók. Általánosságban kijelenthető, hogy az oxohidak protonálása, illetve alkilezése a Fe-Fe távolságok megnövekedésével jár együtt. A szerkezeteket tekintve tehát a kötéstávolság a következő sorrendben növekszik: Fe<sup>III</sup>(μ-O)(m-O<sub>2</sub>)Fe<sup>III</sup> < Fe<sup>III</sup>(μ-OR)(μ-O<sub>2</sub>CR')(m-O<sub>2</sub>)Fe<sup>III</sup> < Fe<sup>III</sup>(m-OH)(m-O<sub>2</sub>)Fe<sup>III</sup>. A Fe-Fe kötéshosszakban megmutatózó különbségek a n(O-O) értékekben is megmutatóznak, értékük lineárisan változik a kötéshossz értékével (8. Ábra), amit elméleti számításokkal is alátámasztottak. Ezen összefüggés alapján a rezonancia-raman adatok birtokában megbecsülhetjük a fémek közötti távolságot, ami nyilván kihatással van mind az intermedierek stabilitására, mind a reaktivására.

Az irodalomban, a peroxo-divas(III) komplexekre fellelhető adatokat összevetve az enzimekhez kapott adatokkal, nagyfokú hasonlóságot figyelhetünk meg, ami arra utal, hogy az előállított vegyületek szerkezetileg jól leírják az enzim aktív centrumában, a fémionok koordinációs övezetében uralkodó viszonyokat.

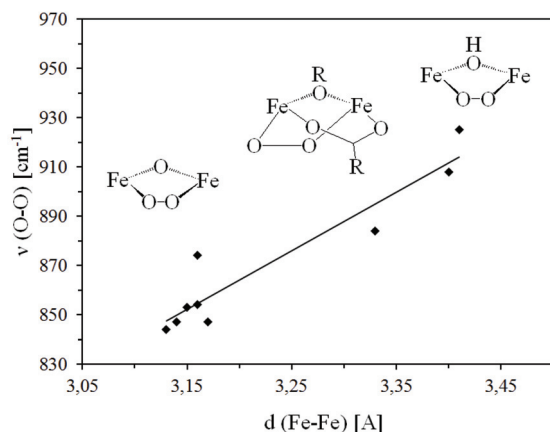


7. Ábra. A peroxo-divas(II) komplexekhez használt ligandumok

**1. Táblázat.** Peroxo-divas(III)-tartalmú enzimek és modellvegyületek spektroszkópiái és röntgendiffrakciós adatai

Peroxo-vegyületek	UV-vis, $\lambda_{\max}$ / nm ( $\epsilon$ , M <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )	rRaman v (O-O) (cm <sup>-1</sup> )	r (Fe-Fe) (Å)	hivatkozás
hDOHH <sub>peroxo</sub>	630 (2800)	855	3,44	[7]
sMMO	725 (1800)	-	-	[11,12]
$\Delta^9$ D	700 (1100)	898	-	[13,14]
R2	700 (1800)	868	3,68	[15]
[Fe <sub>2</sub> ( $\mu$ -O)( $\mu$ -O <sub>2</sub> )(6-Me <sub>3</sub> -TPA)] <sup>2+</sup>	490 (1100); 640 (1100)	847	3,14	[16]
[Fe <sub>2</sub> ( $\mu$ -O)( $\mu$ -O <sub>2</sub> )(BQPA)] <sup>2+</sup>	480 (1000); 620 (1000)	844	3,13	[17]
[Fe <sub>2</sub> ( $\mu$ -O)( $\mu$ -O <sub>2</sub> )(6-Me-BQPA)] <sup>2+</sup>	480 (1000); 620 (1000)	853	3,15	[17]
[Fe <sub>2</sub> ( $\mu$ -O)( $\mu$ -O <sub>2</sub> )(BnBQA)(CH <sub>3</sub> CN) <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	505 (1300); 650 (1300)	854	3,16	[17,18]
[Fe <sub>2</sub> ( $\mu$ -OH)( $\mu$ -O <sub>2</sub> )(BnBQA)(CH <sub>3</sub> CN) <sub>2</sub> ] <sup>3+</sup>	730 (2400)	925	3,41	[19]
[Fe <sub>2</sub> ( $\mu$ -O)( $\mu$ -O <sub>2</sub> )(IndH)] <sup>2+</sup>	690 (1500)	874	3,16	[20]
[Fe <sub>2</sub> ( $\mu$ -O <sub>2</sub> )(PBI) <sub>4</sub> (CH <sub>3</sub> CN) <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	720 (1360)	876	-	[21]
[Fe <sub>2</sub> ( $\mu$ -O <sub>2</sub> )(Me-PBI) <sub>4</sub> (CH <sub>3</sub> CN) <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	685 (1400)	876	-	[21]
[Fe <sub>2</sub> (HB(3,5-iPr <sub>2</sub> pz) <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ( $\mu$ -O <sub>2</sub> )( $\mu$ -O <sub>2</sub> CCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> ]	694 (1725)	885	4,01	[22,23]
[Fe <sub>2</sub> (N-Et-HPTB)( $\mu$ -O <sub>2</sub> )(OPPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ]	588 (1500)	900	3,46	[24,25]
[Fe <sub>2</sub> (6-Me <sub>2</sub> -BPP) <sub>2</sub> ( $\mu$ -O <sub>2</sub> )( $\mu$ -OH)] <sup>+</sup>	644 (3000)	908	3,40	[26]
[Fe <sub>2</sub> (6-Me <sub>2</sub> -BPP) <sub>2</sub> ( $\mu$ -O <sub>2</sub> )( $\mu$ -O)]	577 (1500)	847	3,17	[26]
[Fe <sub>2</sub> (Ph-bimp)( $\mu$ -O <sub>2</sub> )( $\mu$ -O <sub>2</sub> CC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	700 (1700)	884	3,33	[27]

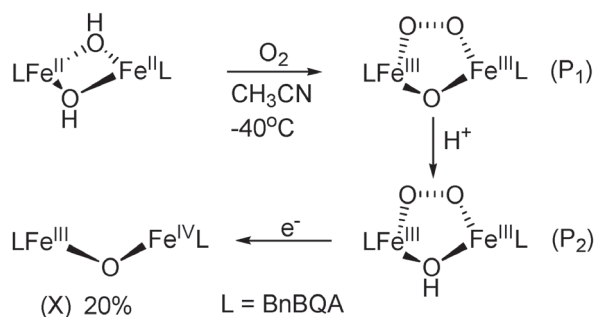
<sup>a</sup> 6-Me<sub>3</sub>-TPA = trisz(6-metil-2-piridilmetil)-amin; BQPA = bisz(2-kinolilmetil)(2-piridilmetil)-amin; BnBQA = N-benzil-N,N-bisz(2-kinolilmetil)-amin; IndH = 1,3-bisz(2'-piridil-imino)-izoindolin; PBI = 2-(2-piridil)-benzimidazol; 3,5-iPr<sub>2</sub>pz = 3,5-bisz(izopropil)-pirazol; N-Et-HPTB = N, N, N', N'-tetrakis(1'-etilbenzimidazolil-2'-metil)-2-hidroxi-1,3-diaminopropán; 6-Me<sub>2</sub>-BPP = bisz(6-metil-2-piridilmetil)-amin; Ph-bimp = 2,6-bisz[bisz[2-(1-metil-4,5-difenilimidazolil)-metil] aminometil]-4-metilfenolát.

**8. Ábra.** Összefüggés a szerkezet (EXAFS) és a spektroszkópiái jellemzők (rRaman) között peroxo-divas(III) intermedierekre.<sup>17</sup>

Az irodalomban a szerkezeti modellek mellett számos funkcionális modell is található. Ezen rendszerek többnyire a peroxo-komplexek képződési és bomlási kinetikáját, valamint reaktivitását írják le.

A funkcionális modellek közül a [(BnBQA)Fe<sup>II</sup>( $\mu$ -OH)<sub>2</sub>Fe<sup>II</sup>(BnBQA)]<sup>2+</sup>-tartalmú rendszert emelném ki, ami nagyon jól modellezi az R2 enzim elemi folyamatait (9. Ábra). A prekursor komplex dioxigénnel való reakciója a korábban ismertetett [Fe<sub>2</sub>( $\mu$ -O)( $\mu$ -O<sub>2</sub>)(BnBQA)(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> intermediet

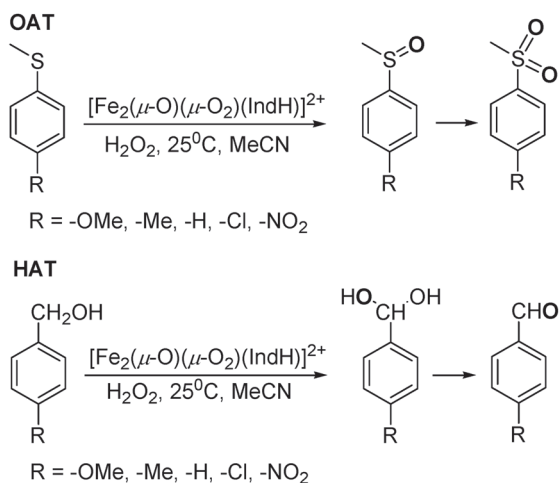
eredményezi ( $\lambda_{\max}$  = 650 nm,  $t_{1/2}$  = 40 perc -40°C-on), amely sztöchiometrikus mennyiségű sav (HClO<sub>4</sub> v. HNO<sub>3</sub>) hatására egy kevésbé stabilis [Fe<sub>2</sub>( $\mu$ -OH)( $\mu$ -O<sub>2</sub>)(BnBQA)(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> peroxo formává alakul át ( $\lambda_{\max}$  = 730 nm,  $t_{1/2}$  = 140 s -40°C-on). Ennek exponenciális bomlása 15-20%-os hozammal a vegyes vegyértékű [Fe<sup>III,IV</sup><sub>2</sub>( $\mu$ -O)(BnBQA)]<sup>5+</sup> komplexet eredményezi (antiferromágneses csatolt vas(III)/vas(IV) centrum, S = 1/2 Mössbauer és ESR), amely az R2 enzim esetében az oxidációért felelős reaktív részecskeként (X) került említésre.<sup>19</sup>

**9. Ábra.** Szerkezeti és funkcionális R2 modell<sup>19</sup>

Megállapítást nyert, hogy a [(PBI)Fe<sup>III</sup>( $\mu$ -O<sub>2</sub>)Fe<sup>III</sup>(PBI)]<sup>4+</sup> összetételű komplex képződési és bomlási folyamata reverzibilis, valamint hogy a peroxo-komplex bomlása dioxigént eredményez. Ez alapján a vizsgált rendszer a

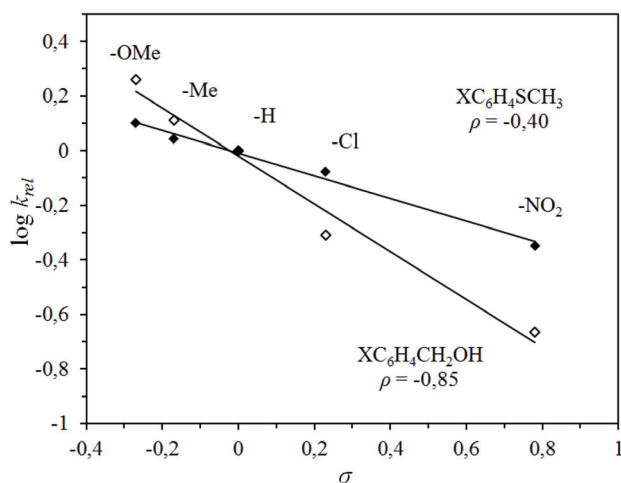
kétmagvú kataláz enzimek funkcionális modelljének tekinthető.<sup>21</sup>

A  $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{IndH})(\text{MeCN})_3](\text{ClO}_4)_2$  és  $\text{H}_2\text{O}_2$  reakciója acetonnitrilben  $[\text{Fe}_2(\mu\text{-O})(\mu\text{-O}_2)(\text{IndH})_2]^{2+}$  összetételű komplexet eredményez, amely aktív katalizátornak bizonyult egyes oxigén atom transzfer (OAT) és hidrogén atom transzfer (HAT) folyamatokban. Oxidálószerként hidrogén peroxidot, modellszubsztrátként szubsztituált tioanizol és benzilalkohol származékokat használtak (10. Ábra).<sup>20</sup>



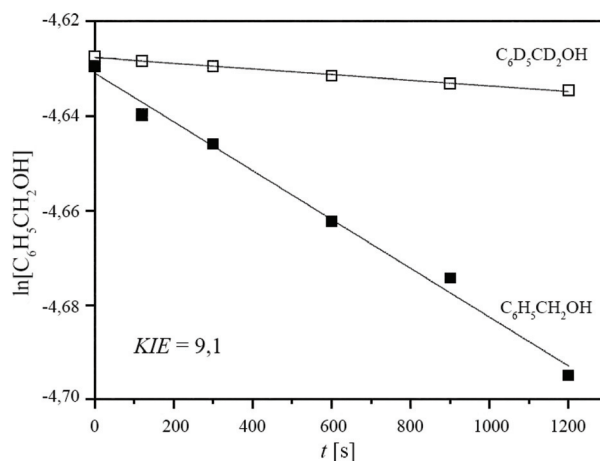
10. Ábra.  $[\text{Fe}_2(\mu\text{-O})(\mu\text{-O}_2)(\text{IndH})_2]^{2+}$ -katalizált OAT és HAT folyamatok<sup>20</sup>

A részletes reakciókinetikai vizsgálatok során a szubsztituált szubsztrátokra kapott *Hammett* összefüggések mindkét esetben negatív  $\rho$  értéket eredményeztek ( $\rho = -0,4$  és  $-0,85$ ), amely értékek alapján az oxidációért felelős részecskéhez elektrofil karakter társítható (11. Ábra). Mivel a peroxidok nukleofil karakterűek, ezért feltételezhető hogy a fenti HAT és OAT folyamatok  $\text{Fe}^{\text{IV}}\text{O}$  intermedien keresztül játszódnak le.<sup>20</sup>



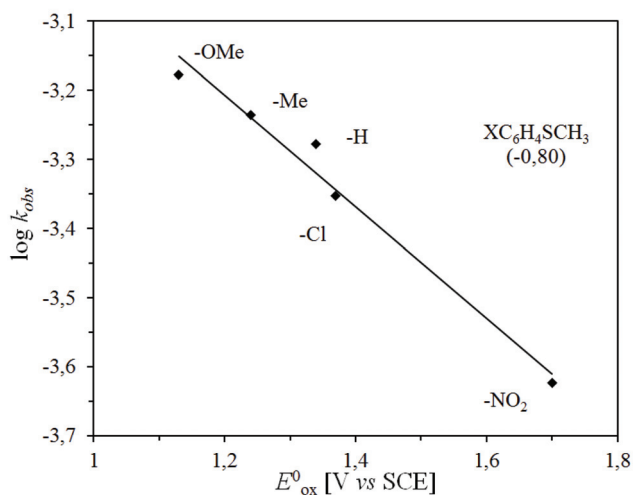
11. Ábra. A  $[\text{Fe}_2(\mu\text{-O})(\mu\text{-O}_2)(\text{IndH})_2]^{2+}$ -katalizált OAT és HAT folyamatok esetében kapott *Hammett* összefüggések.<sup>20</sup>

A benzilalkohol oxidációja során észlelt kinetikus izotóp effektus értéke ( $KIE = 9,1$ ) alapján valószínűsíthető, hogy a hidrogén atom transzfer a sebesség-meghatározó lépésben megy végbe (12. Ábra).



12. Ábra. A  $[\text{Fe}_2(\mu\text{-O})(\mu\text{-O}_2)(\text{IndH})_2]^{2+}$ -katalizált HAT folyamatok esetében észlelt kinetikus izotóp effektus ( $KIE$ ).

A szubsztituált tioanizol származékok esetében a sebességeket a redoxipotenciálok függvényében ábrázolva az egyenes meredeksége  $-0,8$ -nak adódott, amely alapján kijelenthetjük, hogy a folyamat direkt oxigén transzferen keresztül játszódik le, az elektrontranszfer, mint lehetséges részlepcs kizárható (13. Ábra).



13. Ábra. A redoxi potenciál és a reakciósebességi állandók közötti összefüggés a  $[\text{Fe}_2(\mu\text{-O})(\mu\text{-O}_2)(\text{IndH})_2]^{2+}$ -katalizált OAT folyamatra.<sup>20</sup>

## Köszönetnyilvánítás

A kutatás az Országos Tudományos Kutatási Alapprogram (OTKA K108489), és a Bolyai János Kuratórium (MTA) finanszírozásával valósult meg.

## Hivatkozások

- Costas, M.; Mehn, M. P.; Que, L., Jr. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 939. <https://doi.org/10.1021/cr020628n>
- Du Bois, Mizoguchi, T. J.; Lippard, S. J. *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *202-204*, 443. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(00\)00336-2](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(00)00336-2)
- Stubbe, J.; van der Donk, W. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 705. <https://doi.org/10.1021/cr9400875>
- Lindqvist, Y.; Huang, W.; Schneider, G.; Shanklin, J. *EMBOJ.* **1996**, *15*, 4081.
- Rosenzweig, A. C.; Lippard, S. J. *Acc. Chem. Res.* **1994**, *27*, 229. <https://doi.org/10.1021/ar00044a003>
- Rosenzweig, A. C.; Nordlund, P.; Takahara, P. M.; Frederick, C. A.; Lippard, S. J. *Chem. Biol.* **1995**, *2*, 409. [https://doi.org/10.1016/1074-5521\(95\)90222-8](https://doi.org/10.1016/1074-5521(95)90222-8)
- Han, Z.; Sakai, N.; Böttger, L. H.; Klinke, S.; Hauber, J.; Trautwein, A. X.; Hilgenfeld, R. *Structure* **2015**, *23*, 1. <https://doi.org/10.1016/j.str.2014.12.001>
- Vu, V. V.; Emerson, J. P.; Martinho, M.; Kim, Y. S.; Münck, E.; Park, M. H.; Que, L., Jr. *PNAS* **2009**, *106*, 14814. <https://doi.org/10.1073/pnas.0904553106>
- Stenkamp, R. E. *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 715. <https://doi.org/10.1021/cr00027a008>
- Wilkins, P. C.; Wilkins, R. G. *Coord. Chem. Rev.* **1987**, *79*, 195. [https://doi.org/10.1016/0010-8545\(87\)80003-6](https://doi.org/10.1016/0010-8545(87)80003-6)
- Liu, K. E.; Valentine, A. M.; Wang, D.; Huynh, B. H.; Edmondson, D. E.; Salifoglou, A.; Lippard, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 10714.
- Valentine, A. M.; Stahl, S. S.; Lippard, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 3876. <https://doi.org/10.1021/ja9839522>
- Broadwater, J. A.; Ai, J.; Loehr, T. M.; Sanders, L.; Fox, B. G. *Biochemistry* **1998**, *37*, 14664. <https://doi.org/10.1021/bi981839i>
- Broadwater, J. A.; Achim, C.; Münck, E.; Fox, B. G. *Biochemistry* **1999**, *38*, 12197. <https://doi.org/10.1021/bi9914199>
- Skulan, A. J.; Brunold, T. C.; Baldwin, J.; Saleh, L.; Bollinger, J. M.; Solomon, E. I. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 8842. <https://doi.org/10.1021/ja049106a>
- Dong, Y. H.; Zang, Y.; Shu, L. J.; Wilkinson, E. C.; Que, L., Jr.; Kauffmann, K.; Münck, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 5027. <https://doi.org/10.1021/ja00276a065>
- Fiedler, A. T.; Shan, X.; Mehn, M. P.; Kaizer, J.; Torelli, S.; Frisch, J. R.; Kodera, M.; Que, L., Jr. *J. Phys. Chem.* **2008**, *112*, 13037. <https://doi.org/10.1021/jp8038225>
- Kryatov, S. V.; Taktak, S.; Korendovych, I. V.; Rybak-Akimova, E. V.; Kaizer, J.; Torelli, S.; Shan, X.; Mandal, S.; MacMurdo, V. L.; Payeras, A. M.; Que, L., Jr. *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 85. <https://doi.org/10.1021/ic0485312>
- Cranswick, M. A.; Meier, K. K.; Shan, X.; Stubna, A.; Kaizer, J.; Mehn, M. P.; Münck, E.; Que, L., Jr. *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 10417. <https://doi.org/10.1021/ic301642w>
- Pap, J. S.; Cranswick, M. A.; Balogh-Hergovich, É.; Baráth, G.; Giorgi, M.; Rohde, G. T.; Kaizer, J.; Speier, G.; Que, L., Jr. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2013**, 3858. <https://doi.org/10.1002/ejic.201300162>
- Pap, J. S.; Draksharapu, A.; Giorgi, M.; Browne, W. R.; Kaizer, J.; Speier, G. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 1326. <https://doi.org/10.1039/C3CC48196D>
- Kim, K.; Lippard, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 4914. <https://doi.org/10.1021/ja9604370>
- Brunold, T. C.; Tamura, N.; Kitajima, M.; Moro-oka, Y.; Solomon, E. I. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 5674. <https://doi.org/10.1021/ja980129x>
- Dong, Y.; Yan, S.; Young, V. G., Jr.; Que, L., Jr. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 618. <https://doi.org/10.1002/anie.199606181>
- Dong, Y.; Ménage, S.; Brennan, B. A.; Elgren, T. E.; Jang, H. G.; Pearce, L. L.; Que, L., Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 1851. <https://doi.org/10.1021/ja00058a033>
- Zhang, X.; Furutachi, H.; Fujinami, S.; Nagatomo, S.; Maeda, Y.; Watanabe, Y.; Kitagawa, T.; Suzuki, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 826. <https://doi.org/10.1021/ja045594a>
- Ookubo, T.; Sugimoto, H.; Nagayama, T.; Masuda, H.; Sato, T.; Tanaka, K.; Maeda, Y.; Okawa, H.; Hayashi, Y.; Uehara, A.; Suzuki, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 701. <https://doi.org/10.1021/ja953705n>

## Structural and functional models of non-heme diiron oxidoreductases

Metalloenzymes with non-heme diiron centers have emerged as important class of enzymes. Several members of them are now structurally characterized. The following review summarizes recent investigations with non-heme diiron oxidoreductases (Ribonucleotide reductase (R2), soluble methane monooxygenase (sMMO), stearyl-acyl carrier protein (ACP)  $\Delta^9$ -desaturase ( $\Delta^9$ D), human deoxyhypusine hydroxylase (hDOHH) and hemerythrin (Hr), via their synthetic models focusing specifically on the synthesis, characterization, and spectral behavior of well-defined peroxo-diiron(III) intermediates. Fundamental biochemical processes are catalyzed by these enzymes, such as biodegradation of hydrocarbons, or synthesis of essential biomolecules including DNA building blocks. Better understanding on biologically determinant reactions may lead scientists to the discovery of crucial drugs and even “green solutions” in industrial applications. A brief overview on reaction kinetics, that has afforded useful insights into the mechanism of dioxygen activation and substrate oxidation by diiron centers, is also included in this paper.

Synthetic diiron complexes are often investigated as structural models of active centers in the title enzymes. They are proved to have the potential to catalyze the oxidation of alkanes, alcohols, sulfides in the presence of atmospheric dioxygen, or various peroxides. Highly reactive, short lived oxygen-species have been identified as responsible particles for most biochemical transformations. Typical forms of these intermediates can be described by the following general structures:  $\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-O}_2)\text{Fe}^{\text{III}}$ ;  $\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-O})(\mu\text{-O}_2)\text{Fe}^{\text{III}}$ ,  $\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})(\mu\text{-O}_2)\text{Fe}^{\text{III}}$ ,  $\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OR})(\mu\text{-O}_2)\text{Fe}^{\text{III}}$ ,  $\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OR})(\mu\text{-O}_2\text{CR}')(\mu\text{-O}_2)\text{Fe}^{\text{III}}$ . Early results in this subject showed that high valent oxidation states of oxo-, peroxo complexes could be maintained only at extreme conditions (-40-60°C, specific organic solvents). Fortunately, advances in ligand design and synthesis have improved the lifespan. By fine tuning bi-, tri- and tetradentate *N*-donor ligands the iron-oxygen species have become observable and identifiable by all spectroscopic methods at room temperature as well. Oxygen donor ligands (carboxylates, alcohols) are less favored, however they are widespread in enzymes. In models, the electron rich *N*-donor environment has the advantage of flexible electron

adjustment in the iron centered N-Fe-O system. Both organic and inorganic peroxides are suitable for synthesis. Usually, a precursor complex (in the form of a mononuclear Fe<sup>II</sup>) is converted to an oxo-bridged Fe<sup>III</sup> complex. The bridge moiety strongly determines reactivity. By analyzing literature data it can be concluded that in peroxodiiron(III) complexes reactivity depends on the Fe-Fe distance that is naturally regulated by the corresponding bridge ligand. Concerning the extremes: highest Fe-Fe distance (4.01 Å) was observed in a double carboxylate-bridged

[Fe<sub>2</sub>(HB(3,5-iPr<sub>2</sub>pz)<sub>3</sub>)<sub>2</sub>](μ-O<sub>2</sub>)(μ-O<sub>2</sub>CCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>] complex. The shortest Fe-Fe distance was generated by a *m*-O bridge. Generally, protonation of oxo-bridges and alkylation increase bond distance. The sequence is as follows: Fe<sup>III</sup>(μ-O)(μ-O<sub>2</sub>)Fe<sup>III</sup> < Fe<sup>III</sup>(μ-OR)(μ-O<sub>2</sub>CR')(μ-O<sub>2</sub>)Fe<sup>III</sup> < Fe<sup>III</sup>(μ-OH)(μO<sub>2</sub>)Fe<sup>III</sup>. Various values of Raman ν(O–O) vibrations can confirm the differences in bond distances, furthermore articles often include theoretical quantum chemical calculations in order to support experimental data. Mössbauer spectroscopy, X-ray crystallography and EXAFS are widely used for the same purpose. Peroxodiiron(III) complexes are considered good structural models by adequately mimicking the coordination sphere in the active center of the corresponding enzyme.

In contrast with the above strategy functional modelling requires chemical approach. There is less focus on structural similarity. Mostly, the formation and self-decay of peroxo-complexes is investigated. As an example, the [(BnBQA)Fe<sup>II</sup>(μ-OH)<sub>2</sub>Fe<sup>II</sup>(BnBQA)]<sup>2+</sup> complex can be mentioned here. The reaction of this precursor state with dioxygen results in a [Fe<sub>2</sub>(μ-O)(μ-O<sub>2</sub>)(BnBQA)(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>

form that can be transformed into an unstable [Fe<sub>2</sub>(μ-OH)(μ-O<sub>2</sub>)(BnBQA)(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> with stoichiometric amount of acid (HClO<sub>4</sub> v. HNO<sub>3</sub>). The active species was identified as a mixed-valent [Fe<sup>III,IV</sup><sub>2</sub>(μ-O)(BnBQA)]<sup>5+</sup> complex responsible for oxidation in functional R2 enzyme mimicking reactions.

The reactivity of active intermediates is often tested by small organic substrates (thioanisole, benzyl alcohol) in oxygen atom transfer (OAT), or hydrogen atom transfer (HAT) reactions. Characteristic changes in UV-Vis spectra can be followed by time-based measurements as is was done with [Fe<sup>II</sup>(IndH)(MeCN)<sub>3</sub>](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>. Hammett constants, calculated by the use of *para*-substituted substrates, revealed the short presence of an Fe<sup>IV</sup>O intermediate involved in the oxidation. Labelled, non-radioactive heavy-atoms (D, <sup>18</sup>O) have been successfully applied for the determination of kinetic isotope effect (*KIE*). The *KIE* value is an important information on the nature of the rate-limiting step in the mechanism. During the oxidation of benzyl alcohol (*KIE*=9.1) catalyzed by [Fe<sub>2</sub>(μ-O)(μ-O<sub>2</sub>)(IndH)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> hydrogen atom transfer happens in the rate-limiting step. Thioanisole oxidation catalyzed by the same intermediate has been found to be a direct oxygen transfer reaction determined by the correlation between redox potentials and rate constants.

The final aim of reaction kinetics is the discovery of an exact enzyme mechanism. Based on the results summarized in this article, an explicit challenge for the future is the design of new catalysts that are able to use dioxygen or peroxides for efficient and selective oxidation reactions that can be exploited in both pharmacology and several industrial area.