

## SIDERÓFOROS: “UMA RESPOSTA DOS MICROORGANISMOS”

Anna Maria Canavarro Benite e Sérgio de Paula Machado\*

Departamento de Química Inorgânica, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, CT, Ilha do Fundão, Cidade Universitária, 21945-970 Rio de Janeiro - RJ

Bianca da Cunha Machado

Departamento de Química Geral e Inorgânica, Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, Alameda Barros Terra, s/n, 24020-150 Niterói - RJ

Recebido em 7/8/01; aceito em 2/4/02

**SIDEROPHORES: “A MICROORGANISM’S ANSWER”.** Siderophores (from the Greek: “iron carriers”) are defined as relatively low molecular weight, ferric ion specific chelating agents elaborated by microorganisms growing under low iron stress. The role of these compounds is to scavenge iron from the environment and to make this essential chemical element available to the microbial cell. The present paper is a brief presentation of siderophore coordination chemistry with emphasis on those aspects relevant to the transportation of iron (III) complexes across biological membranes. Finally, the role of siderophores in infection and their clinical potential as iron scavenging molecules are reviewed.

Keywords: iron; coordination compounds; natural chelators.

### INTRODUÇÃO

O ferro, elemento de número atômico 26 da tabela periódica, é o segundo metal (após o alumínio) e o quarto elemento mais abundante da crosta terrestre<sup>1</sup>. Todos os organismos vivos necessitam de ferro para seu crescimento e para realizar trajetórias metabólicas cruciais à sua existência<sup>2</sup>.

O ferro tem a capacidade de aceitar e doar elétrons, prontamente, interconvertendo-se entre a forma férrica ( $Fe^{3+}$ ) e ferrosa ( $Fe^{2+}$ ). Esta propriedade o torna um componente muito útil em citocromos, em moléculas que ligam e transportam o oxigênio (hemoglobina e mioglobina), e em muitas enzimas que realizam processo redox, funcionando como transportadoras de elétrons. Entretanto, também pode causar danos aos tecidos, se atuar como catalisador na conversão de peróxido de hidrogênio em radicais livres, que atacam a membrana celular, proteínas e DNA<sup>3</sup>.

Dependendo do ambiente de coordenação, o potencial redox  $Fe^{3+}/Fe^{2+}$  varia de +300mV à -500mV, favorecendo seu uso em um grande número de complexos protéicos, especialmente os que envolvem redução de oxigênio para síntese de ATP, redução de precursores de DNA, para formação do grupo heme, e outras funções essenciais<sup>4,5</sup>.

No corpo humano, o ferro está presente em todas as células e exerce várias funções vitais como pode ser observado na Figura 1:

- atua como transportador de oxigênio dos tecidos (principalmente sanguíneo) para o pulmão na forma de Hemoglobina (Hb), a lactoferrina é o transportador nas secreções;
- atua como facilitador do uso de oxigênio e permite seu estoque nos músculos na forma de mioglobina, o armazenamento de ferro dentro da célula é feito pela ferritina;
- atua como catalisador no transporte de elétrons dentro das células na forma de citocromos. Além do mais, pode interferir nas funções vitais e conduzir à morte<sup>6</sup>.

A homeostase de ferro é tênue; ambas, deficiência e sobrecarga, são nocivas à saúde. A desordem da homeostase de Fe está entre as doenças humanas e vegetais mais comuns, tais como: anemia,

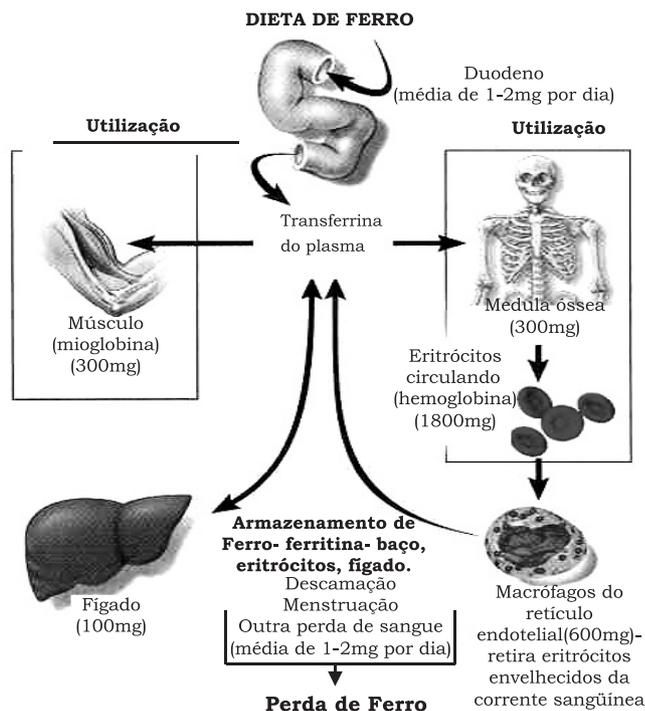


Figura 1. Atividade de ferro nos tecidos humanos

hemocromatose, siderose transfusional, beta-talassemia, clorose intravenosa e bronzeamento do solo<sup>7-10</sup>.

Embora o ferro seja abundante na natureza, apresenta-se exclusivamente em sua forma oxidada [ $Fe(III)$ ], comumente encontrado sob forma de hidróxido insolúvel de composição geral  $FeOOH$  (exemplo: goetita, hematita), o que conduz a uma baixa solubilidade em pH fisiológico ( $10^{-18}M$ )<sup>11</sup>.

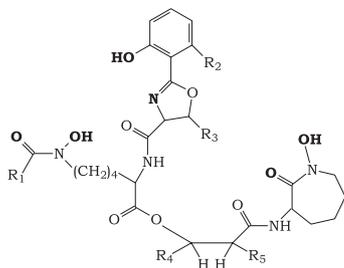
Ferro, enquanto nutriente essencial, não está prontamente disponibilizado em ambientes aquáticos, terrestres ou em hospedei-

\*e-mail: sergiopm@iq.ufrj.br

ros animais. Entretanto, os microorganismos têm desenvolvido várias estratégias para adquirir ferro e, ao mesmo tempo, proteger-se dos efeitos tóxicos potenciais. A estratégia mais eficaz é a produção e utilização de sideróforos (do grego *sideros*= ferro, *foros* = transportador)<sup>12,13</sup>.

## UM BREVE HISTÓRICO SOBRE SIDERÓFOROS

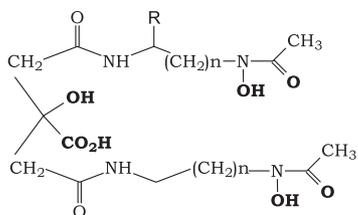
Em 1911, Neilands e Pollock descobriram que toda micobactéria necessitava de uma “substância essencial” que era vital ao seu crescimento. Quase quarenta anos mais tarde (1949-1952), o fator de crescimento foi isolado pela cristalização de seu complexo com alumínio<sup>14</sup>. Um procedimento de purificação, eventualmente diferente, conduziu à separação do fator de crescimento do metal. Este composto foi chamado de Micobactina (Figura 2).



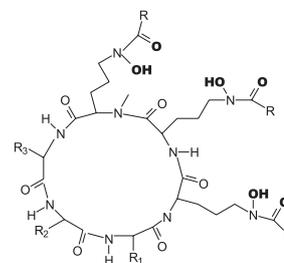
**Figura 2.** Estrutura esqueleto da Micobactina: **2a:**  $R_1 = \text{F.A.}$ ,  $R_2 = R_3 = \text{CH}_3$ ,  $R_4 = \text{H}$  e  $R_5 = \text{C}_2\text{H}_5$ ; **2b:**  $R_1 = \text{F.A.}$ ,  $R_2 = R_4 = \text{CH}_3$  e  $R_3 = R_5 = \text{H}$ ; **2c:**  $R_1 = \text{F.A.}$ ,  $R_2 = R_5 = \text{H}$  e  $R_3 = R_4 = \text{CH}_3$ ; **2d:**  $R_1 = \text{F.A.}$ ,  $R_2 = R_3 = \text{CH}_3$ ,  $R_4 = \text{CH}_3$  e  $R_5 = \text{H}$ ; **2e:**  $R_1 = R_3 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{F.A.}$  e  $R_5 = \text{CH}_3$ ; **2f:**  $R_1 = \text{F.A.}$ ,  $R_2 = R_3 = \text{H}$ ,  $R_4 = \text{C}_2\text{H}_5$  e  $R_5 = \text{CH}_3$ ; **2g:**  $R_1 = \text{F.A.}$ ,  $R_2 = R_3 = R_5 = \text{H}$  e  $R_4 = \text{CH}_3$ ; **2h:**  $R_1 = \text{F.A.}$ ,  $R_2 = R_3 = R_4 = \text{H}$  e  $R_5 = \text{CH}_3$ . F.A. = mistura de uma cadeia de ácidos graxos longa, por exemplo Micobactina P; F.A. =  $\text{CH}_3$ ,  $(\text{CH}_2)_n$ . = CH;  $n = 12, 14, 16$

Durante este mesmo período, três outros diferentes sideróforos foram isolados e identificados como fatores de crescimento: Artrobactina (Figura 3) foi isolado como ligante livre enquanto que Ferricromo (Figura 4) e Coprogênio (Figura 5) foram isolados complexados a ferro. A estrutura da Micobactina foi caracterizada, identificando seus sítios de coordenação como dois hidroxamatos e um 2-hidroxifeniloxazolina. Neste momento começavam a ser caracterizados os diferentes sítios de coordenação apresentados pelos sideróforos<sup>16</sup>.

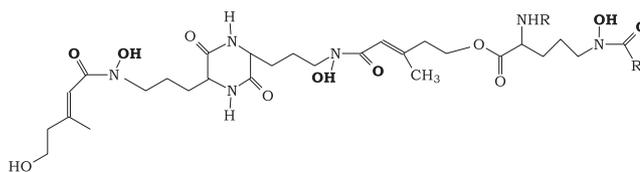
A observação “chave”, concernente ao modo de ação destes fatores de crescimento, foi feita por Garibaldi e Neilands em 1956, quando demonstraram que a produção de ferricromo A, pelo microorganismo *Ustilago sphaerogena*, foi aumentada em meio deficiente de ferro<sup>16</sup>. Começava-se então a elucidar a seletividade e especificidade dos sideróforos.



**Figura 3.** Estrutura da Schizokinena, **3a:**  $R = \text{H}$  e  $n = 2$ ; Estrutura da Artrobactina, **3b:**  $R = \text{H}$  e  $n = 4$

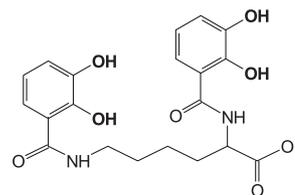


**Figura 4.** Estrutura esqueleto dos sideróforos tipo Ferricromo: **4a:**  $R_1 = R_2 = R_3 = \text{H}$  e  $R = \text{CH}_3$ ; **4b:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = R_3 = \text{CH}_2\text{OH}$  e  $R = \text{CHCH}_3\text{CO}_2\text{H}$ ; **4c:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = R_3 = \text{CH}_2\text{OH}$  e  $R = \text{CH}_3$ ; **4d:**  $R_1 = R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{CH}_2\text{OH}$  e  $R = \text{CH}_3$ ; **4e:**  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = R_3 = \text{CH}_2\text{OH}$  e  $R = \text{CHCH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ; **4f:**  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = R_3 = \text{CH}_2\text{OH}$  e  $R = \text{CHCH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ; **4g:**  $R_1 = R_3 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{CH}_3$  e  $R = \text{CH}_3$ ; **4h:**  $R_1 = R_3 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{CH}_3$  e  $R = \text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$

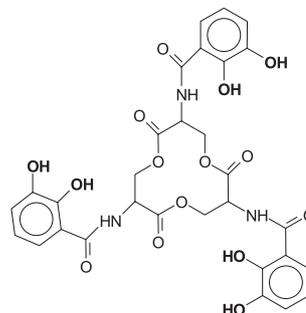


**Figura 5.** Estrutura esqueleto dos sideróforos do tipo Coprogênio e triocinina: **5a:**  $R = \text{CH}_3\text{CO}$  e  $R_1 = \text{CH}(\text{C})\text{CH}_2\text{OHCH}_3$ ; **5b:**  $R = \text{H}$  e  $R_1 = \text{CH}(\text{C})\text{C}_2\text{H}_4\text{CH}_3$ ; **5c:**  $R = \text{CH}_3\text{CO}$  e  $R_1 = \text{CH}_3$

A caracterização dos sideróforos com sítio de complexação catecolatos foi iniciada em 1958, quando um ligante de ferro(III), o ácido 2,3-dihidroxibenzoico, foi excretado pelo *Bacillus subtilis* conjugado com a glicina (Figura 6), quando este crescia em meio de cultura com escassez de ferro. Análogos conjugados à serina e treonina foram isolados subsequentemente. Mas, somente em 1970, o primeiro sideróforo tricatelato foi isolado<sup>17</sup>. A enterobactina (Figura 7) foi isolada como ligante livre por Pollock e Neilands da *Salmonella typhimurium* e por O'Brien e Gibson da *Escherichia coli*<sup>17</sup>.



**Figura 6.** Estrutura da  $\alpha, \epsilon$ -bis-2,3-dihidroxibenzoilserina



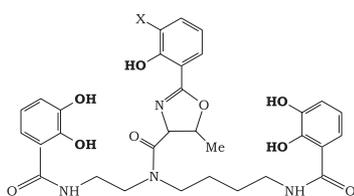
**Figura 7.** Estrutura da Enterobactina

Nas últimas três décadas mais de uma centena de sideróforos, de ocorrência natural, têm sido isolados e caracterizados. As Tabelas 1 e 2 são compilações das descrições de algumas destas estruturas,

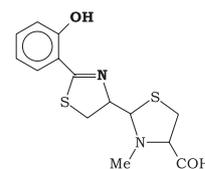
uma vez que seus aspectos estruturais e suas funções biológicas têm sido extensivamente estudadas e revisadas<sup>2,11,18-27</sup>.

**Tabela 1.** Sideróforos excretados por bactérias

Sideróforo	Bactéria	Figura	Ligante
Enterobactina	<i>Aerobacter aerogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella typhimurim</i>	7	catecol
Agrobactina	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	8a	catecol e 2-hidroxifeniloxazolina
Agrobactina A		10a	
Parabactina	<i>Paracoccus denitrificans</i>	8b	catecol e 2-hidroxifeni-loxazolina
Parabactina A		10b	
$\alpha,\epsilon$ -bis-2,3-dihidroxiben-zoilisina	<i>Azotobacter vinelandii</i>	6	catecol
Vibriobactina	<i>Vibrio cholerae</i>	11	catecol e 2-hidroxifeni-loxazolina
Piochelina	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	fenol e tiazolina
Pseudobactina	<i>Pseudomonas fluorescensputida</i>	13	catecol, hidroxamato e $\alpha$ -hidroxiácido
Pseudobactina A	<i>Pseudomonas B<sub>10</sub></i>	12	catecol, hidroxamato e $\alpha$ -hidroxiácido
Pioverdina	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24	catecol e hidroxamato
Micobactinas	<i>Micobactéria</i>		
Micobactina P	<i>Micobacterium phlei</i>	2a	
Micobactina A	<i>M. aurum</i>	2b	
Micobactina F	<i>M. fortuitum</i>	2c	
Micobactina H	<i>M. thermoresistibile</i>	2d	
Micobactina M	<i>M. marinum</i>	2e	2-hidroxifeniloxazolina e hidroxamato
Micobactina R	<i>M. terrae</i>	2f	
Micobactina S	<i>M. smegmatis</i>	2g)	
Micobactina T	<i>M. tuberculosis</i>	2h	
Schizokinena	<i>Bacillus megaterium</i> , <i>Anabaena sp.</i>	3a	Hidroxamato e $\alpha$ -hidroxicarboxilato
Aerobactina	<i>E. coli</i> , <i>Aerobacter aerogenes</i>	23	Hidroxamato e $\alpha$ -hidroxicarboxilato
Artrobactina	<i>Artrobacter sp.</i>	3c	Hidroxamato e $\alpha$ -hidroxicarboxilato
Ferrioxiaminas			
Desferrioxiamina E		14a	
Desferrioxiamina D <sub>2</sub>	<i>Nocardia</i> ,	14b	
Desferrioxiamina B	<i>Micromonospora</i> ,	15a	hidroxamato
Desferrioxiamina D <sub>1</sub>	<i>Streptomices</i> ,	15b	
Desferrioxiamina G	<i>Actinomices</i>	15c	
Desferrioxiamina A <sub>1</sub>		15d	



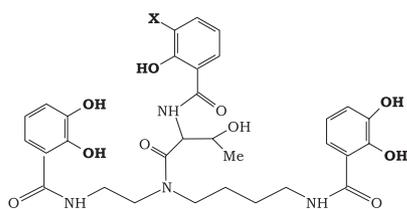
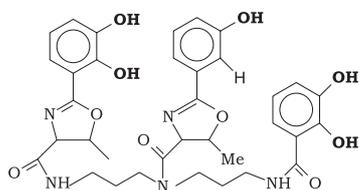
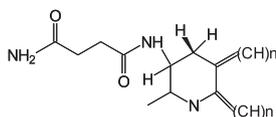
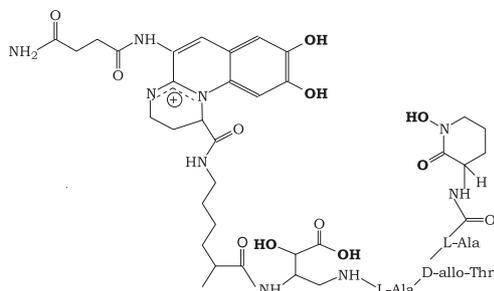
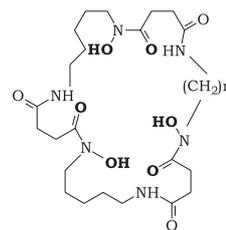
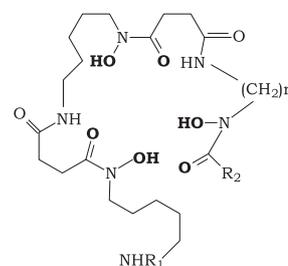
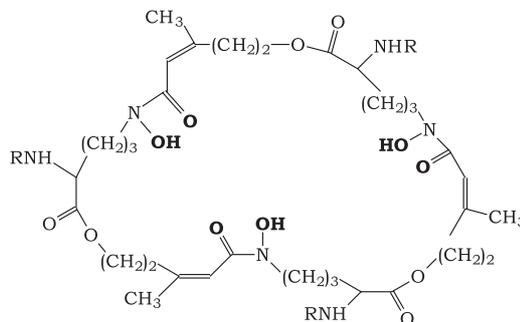
**Figura 8.** Estrutura da Agrobactina, **8a**: X = OH; Estrutura da Parabactina, **8b**: X = H



**Figura 9.** Estrutura da Piochelina

**Tabela 2.** Sideróforos excretados por fungos

Sideróforo	Fungo	Figura
Ferricromo (nome referente aos complexos de ferro)	<i>Aspergillus</i> , <i>Neuspora</i> , <i>Penicillium ustilago</i> , <i>Actinomices</i> , <i>Streptomices</i>	4a
Ferricromo A	<i>Ustilago sphaerogena</i>	4b
Ferricrisina	<i>Aspergillus sp.</i>	4c
Ferricrocina		4d
Ferrirubina		4e
Ferrirodina		4f
Ferricromo C	<i>Cryptococcus melibiosum</i>	4g
Malinicromo	<i>Fusarium roseum</i>	4h
Fusarinina Triacetil fusarinina	<i>Fusaria</i> , <i>Aspergillus penicillium sp.</i>	16a
Fusarinina A		17a
Fusarinina B	<i>Fusarium roseum</i>	17b
Fusarinina C	<i>F. cubense</i>	16b
Ácido rodotolúrico	<i>Rhodotolura</i> , <i>Sporobolomices</i> , <i>Leucosporidium</i>	18a
Ácido dimerúmico	<i>Fusarium dimerum</i>	18b
Coprogênio	<i>Penicillium sp.</i>	5a
Coprogênio B	<i>Neurospora sp.</i>	5b
Triocinina	<i>Epicoccum purpurascens</i>	5c

**Figura 10.** Estrutura da Agrobactina A, **10a**: X = OH; Estrutura da Parabactina A, **10b**: X = H**Figura 11.** Estrutura da Vibriobactina**Figura 12.** Estrutura da Pseudobactina A**Figura 13.** Estrutura da Pseudobactina**Figura 14.** Estrutura esqueleto das Ferrioxiaminas. **14a**: n=5; **14b**: n=6**Figura 15.** Estrutura esqueleto das Desferrioxiaminas. **15a**: n=5, R<sub>1</sub>= H e R<sub>2</sub>=CH<sub>3</sub>; **15b**: n=5, R<sub>1</sub>= CH<sub>3</sub>CO e R<sub>2</sub>=CH<sub>3</sub>; **15c**: n=5, R<sub>1</sub>= H e R<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H; **15d**: n=4, R<sub>1</sub>= H e R<sub>2</sub>=CH<sub>3</sub>**Figura 16.** Estrutura da Triacetil Fusarinina, **16a**: R=CH<sub>3</sub>CO; Estrutura da Fusarinina C, **16b**: R = H

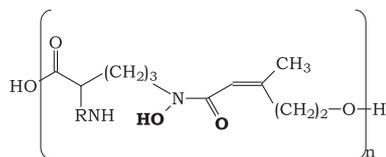


Figura 17. Estrutura da Fusarinina A, 17a: R = H, n = 2; Estrutura da Fusarinina B, 17b: R = H, n = 3

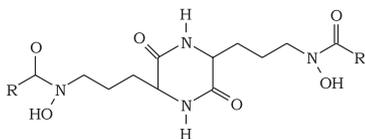


Figura 18. Estrutura do ácido rodotolúrico, 18a: R = CH<sub>3</sub>; Estrutura do ácido dimemúrico, 18b: R = C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>O

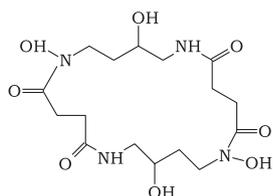
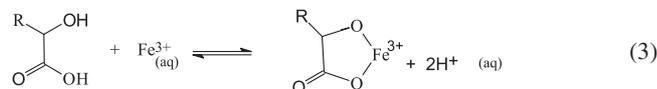
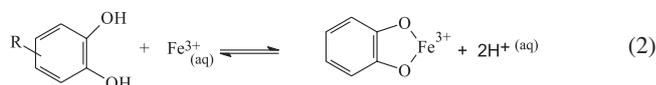
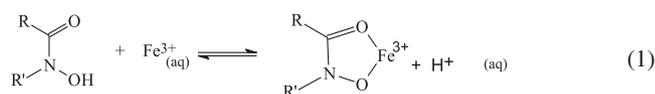


Figura 19. Estrutura da Alcaligina

## ASPECTOS ESTRUTURAIS DA QUÍMICA DE COORDENAÇÃO DE SIDERÓFOROS

Sideróforos, definidos como ligantes específicos de Fe(III), chegando a apresentar constante de estabilidade ( $K_f$ )  $\approx 10^{30}$ , são amplamente produzidos por espécies aeróbicas e facultativamente por espécies anaeróbicas, onde eles desempenham a função de sequestrar e transportar Fe(III). São quelantes de baixo peso molecular (400-2000 g/mol), excretados sob condições de deficiência de ferro. Na variedade de microorganismos conhecidos que sintetizam sideróforos estão incluídas várias bactérias entéricas; bactérias patogênicas de humanos, animais, fungos e de plantas; microorganismos do solo; espécies Gram - positivas e negativas; algas verdes e azuis (cianobactérias) e algas superiores; bactérias fixadoras de nitrogênio; certas espécies de plantas (fitosideróforos) e alguns tipos de leveduras<sup>4,28-31</sup>.

Quase todos os quelantes identificados pertencentes à função sideróforos contém pelo menos um ácido hidroxâmico, um catecol e/ou um ácido  $\alpha$ -hidroxicarboxílico como sítios ligantes. Um aspecto comum entre estes sítios, é sua capacidade em formar anéis quelatos de cinco membros muito estáveis com Fe(III), como mostrado nas equações a seguir<sup>32</sup>.



Vários sideróforos apresentam estruturas que incorporam grupos mistos de ligantes de Fe(III), por exemplo, pioverdina PaA (Figura 21; 2 ácidos hidroxâmicos e 1 catecol em uma estrutura exocíclica), aerobactina (Figura 20; 2 ácidos hidroxâmicos e 1 ácido  $\alpha$ -hidroxicarboxílico em uma estrutura linear) e azotobactina (Figura 22; 1 ácido hidroxâmico, 1 catecol e 1 ácido hidroxicarboxílico em uma estrutura linear).

Apesar de, por definição, os sideróforos possuem altas afinidades por ferro(III), muitos podem formar também complexos relativamente estáveis com cobre(II), alumínio(III), cromo (III), gálio(III) molibidênio(II) e alguns outros elementos transurânicos<sup>17,31</sup>.

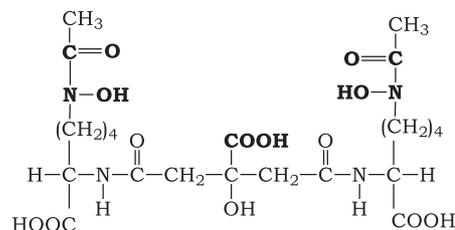


Figura 20. Estrutura da Aerobactina

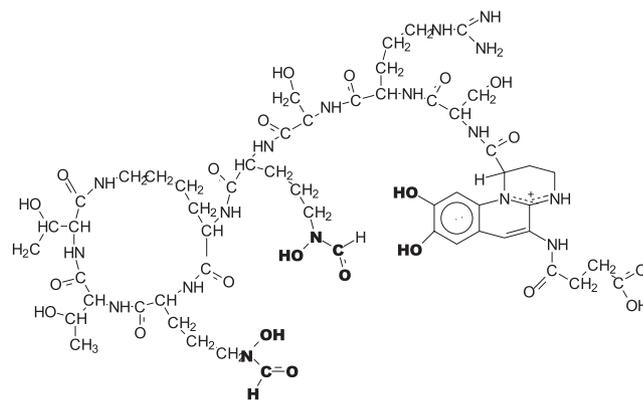


Figura 21. Estrutura da Pioverdina PaA

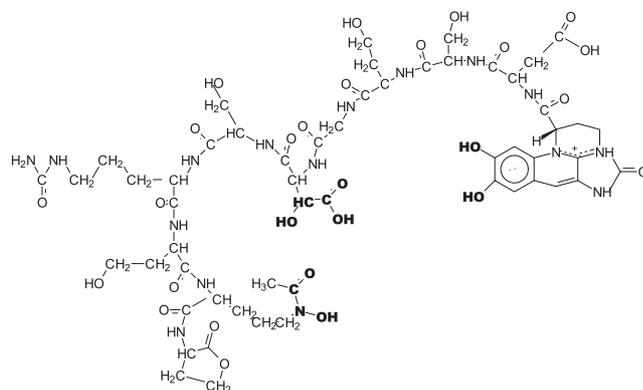


Figura 22. Estrutura da Azotobactina

## Seletividade metálica

Os sideróforos desempenham a função de solubilizar especifica-

mente ferro, em presença de outros íons metálicos, e incorporá-lo ao metabolismo celular. Este processo é acompanhado por quelação seletiva de Fe(III). Em termos físico-químicos isto pode ser expresso através da formação de maiores constantes de estabilidade, no complexo com Fe(III) do que com Al(III), Cu(II), Ca(II), Zn(II) e outros íons metálicos presentes no meio ambiente<sup>32</sup>.

A biodisponibilidade de ferro microbiano é, em grande parte, determinada pela química de coordenação associada ao sideróforo. Os processos químicos necessários para a solubilização e captação de ferro mediado por sideróforos são:

- quelação seletiva de Fe(III);
- reconhecimento molecular do complexo sideróforo-Fe(III);
- transporte de Fe complexado através da membrana celular;
- deposição do Ferro, dentro de um sítio apropriado na célula (superfície ou interior celular).

O último processo envolve finalmente a troca do ligante, que pode ou não ser precedida pela redução de Fe(III) e/ou pela hidrólise do ligante<sup>32</sup>.

Algumas características importantes, apresentadas pelo íon Fe(III), que garantem sua seletividade são a dureza deste íon metálico; o tamanho, a configuração dos elétrons d, a alta densidade de carga, e a alta eletronegatividade. Tais características conferem ao Fe(III) o caráter de um poderoso ácido de Lewis, um cátion duro, que formará, desta forma, ligações mais estáveis com átomos fracamente polarizáveis (ânions duros), como por exemplo, o oxigênio.

### Geometria dos sideróforos

A combinação dos sítios de complexação de Fe(III), para produzir ligantes polidentados, resulta em uma faixa variada de arranjos geométricos de sideróforos, que incluem estruturas acíclicas lineares (exemplo: Desferrioxamina B, Figura 17), exocíclicas (exemplo ferricromo, Figura 6) e endocíclicas (exemplo: Desferrioxamina E, Figura 16). A geometria do ligante influenciará na estabilidade e labilidade do complexo, através de variações na sua flexibilidade, e a relativa facilidade de assumir uma geometria de coordenação e um arranjo espacial favoráveis (pseudo-octaédrica) à permeação celular<sup>4,15</sup>.

A denticidade do ligante é o fator dominante na determinação de sua geometria, sendo muitos sideróforos hexadentados. Normalmente em química de coordenação, um efeito quelato é o modo operativo pelo qual o aumento na denticidade do ligante resulta em um aumento na estabilidade do complexo<sup>33</sup>. Entretanto, para sideróforos catecolatos e hidroxamatos não existe uma evidência significativa deste efeito como sendo significativo. Isto pode ser devido aos comprimentos relativamente longos das cadeias, entre os ligantes hidroxamatos e catecolatos, que resultam em sua atuação independente<sup>15</sup>. Existe uma concentração de efeitos que favorecem ligantes de alta denticidade. Isto pode ser ilustrado pelas seguintes expressões de constante de equilíbrio demonstrando a concentração do acetohidroxamato livre [A<sup>-</sup>] (equação 4) e do ânion Desferrioxamina B [L<sup>-3</sup>] (equação 5) necessários para estabelecer uma dada razão de equilíbrio entre Fe(III)<sub>(aq)</sub> complexado e livre.

$$[A^-] = \left\{ \frac{[Fe A_3]}{[Fe^{3+}_{(aq)}] \beta_3} \right\}^{1/3} \quad (4)$$

$$[L^{-3}] = \left\{ \frac{[FeL]}{[Fe^{3+}_{(aq)}] \beta} \right\} \quad (5)$$

Por exemplo, visto que o  $\log \beta_3$  para ácido acetohidroxâmico é 28,29 e o  $\log \beta$  para Desferrioxamina B é 30,6, para manter uma razão arbitrariamente selecionada entre Fe(III) complexado e livre de  $10^3$ , necessita-se de uma concentração maior que  $10^{18}$  (em mols/litro) de ácido acetohidroxâmico (bidentado) em relação à Desferrioxamina B (hexadentada). Ou seja, menor concentração em mol/l do sideróforo polidentado precisa ser excretada por um microorganismo do que do sideróforo mono ou bidentado.

### ESTABILIDADE DOS COMPLEXOS FERRO-SIDERÓFOROS

O íon Fe(III) apresenta configuração eletrônica  $3d^5$ , formando complexos de alto spin com ligantes sideróforos. A maior parte da estabilidade das ligações, da primeira esfera de coordenação, virá de uma atração eletrostática (ou dipolo) entre o íon metálico, tripositivo, e a carga negativa do átomo de oxigênio doador<sup>31,34</sup>.

O Fe(III) tem o número de coordenação 6, mas não apresenta direcionamento espacial expressivo para ligantes. Estruturas determinadas, para este tipo de complexo, apresentam a primeira esfera de coordenação disposta segundo geometria octaédrica irregular-tetragonal<sup>33</sup>.

As constantes de formação definem a estabilidade do complexo Fe-sideróforo em solução. A constante de estabilidade  $Fe(III)_{(aq)}$  também pode ser um fator decisivo na determinação de um mecanismo para liberação de Fe(II) do sideróforo, através da influência da velocidade, da constante de dissociação e do potencial de redução Fe(III/II).

Em solução aquosa, a complexação de  $Fe(III)_{(aq)}$  (na ausência de outros íons metálicos) por um sideróforo envolve uma competição entre  $Fe(III)_{(aq)}$  e  $H^+_{(aq)}$  pelo ligante desprotonado. Embora as equações (6) e (7) representem o equilíbrio competitivo observado experimentalmente,



$$K_n = \frac{[FeL] [H^+_{(aq)}]^n}{[Fe^{3+}_{(aq)}] [LH_n]} \quad (7)$$

compilações da literatura<sup>34</sup> mostram que as constantes de equilíbrio são expressas em valores  $\beta_{FeLH}$ , de acordo com a equação de equilíbrio hipotética, mostradas a seguir para sideróforos triproticos hexadentados



$$\beta_{FeLH} = \frac{[FeL]}{[Fe^{3+}_{(aq)}] [L^{3-}]} \quad (9)$$

Existe uma relação entre  $K_n$  e  $\beta_{FeLH}$  (ou  $\beta_n$ ) que é expressa pela equação (10):

$$\log_{10} \beta_n = \sum_0^n \log_{10} K_n \quad (10)$$

Os valores de  $\beta_{FeLH}$  são utilizados para analisar a influência dos diferentes grupos ligantes-Fe(III) e a arquitetura destes na estabilidade do complexo metálico. Entretanto, algumas precauções devem ser observadas, tais como valores  $\beta$  são definidos como quocientes de concentração, e as unidades para expressá-los deverão mudar com as mudanças na denticidade do ligante. Conseqüentemente, valores  $\beta$  somente poderão ser diretamente comparados entre ligantes de

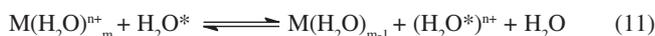
mesma denticidade. Além do mais, a expressão do equilíbrio nas equações (7) e (9), que definem valores  $\beta$ , não estimam a competição com  $H^+_{(aq)}$  que está presente na situação real de meio ambiente<sup>34</sup>.

Os métodos mais comuns para determinação destas constantes incluem titulação potenciométrica, eletroquímica e espectrofotometria<sup>31</sup>. Além disso, experimentos de competição com quelantes bem caracterizados (exemplo: etilenodiamina-*N,N,N',N'*-tetraacetato [EDTA]) são freqüentemente usados, desde que os valores de  $\beta$  possam ser determinados em condições onde quantidades mensuráveis de ambos, reagentes e produtos, estejam presentes<sup>35</sup>.

A Tabela 3 é uma compilação das constantes de estabilidade para um número de arranjo de estruturas de sideróforos.

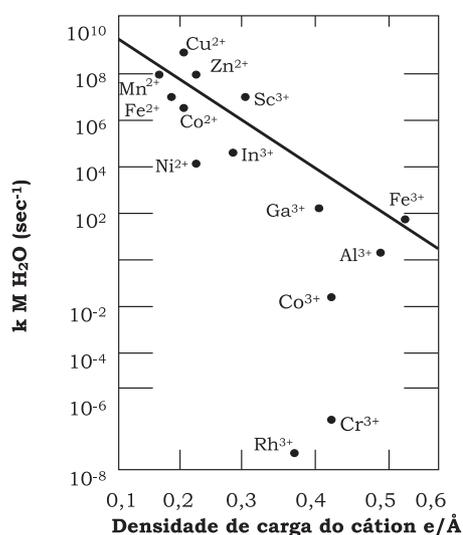
### LABILIDADE CINÉTICA DOS COMPLEXOS DE FE(III)

Em adição à estabilidade dos complexos ferro-sideróforos, existe ainda seu comportamento cinético, apresentando características que podem ser bem interessantes, do ponto de vista de permeadores da membrana celular. Vejamos, então, algumas constantes de velocidade para a reação de troca de água (equação 11) que são apresentadas na Figura 23.



Embora esta reação seja termodinamicamente desfavorável, as constantes de velocidade variam em torno de 17 ordens de magnitude.

Visto que as forças existentes entre o íon metálico e os ligantes são maiores para um cátion com alta densidade de carga, existe uma tendência geral de que os complexos de cátions tripolares sejam menos lábeis cineticamente do que os complexos divalentes, conforme a Figura 23. Entretanto, distorções geométricas podem acelerar a troca de ligante por conta da rápida interconversão dos ligantes axiais e equatoriais, através de vibração molecular e estirar a ligação metal ligante. Sejam estas distorções do tipo Jahn-Teller ou não, ambas aumentarão a labilidade do complexo<sup>17,33</sup>.



**Figura 23.** Cinética de substituição de moléculas de água da esfera interna de coordenação na densidade de carga do cátion

A Energia de Estabilização do Campo Cristalino também influencia a labilidade dos complexos metálicos. Complexos que apresentem altos valores de EECC são inertes e complexos que apresentem baixos valores de EECC são lábeis.

**Tabela 3.** Constantes de estabilidade de sideróforos em solução aquosa<sup>a</sup>

Sideróforo	Figura	Log. $\beta_{110}$ <sup>b</sup>	pM <sup>c</sup>
<b>Tricatecolato</b>			
Enterobactina	7	≈49	35,5
<b>Monocatecolato</b>			
Crisobactina		35,4 <sup>d</sup>	
<b>Triidroxamatos</b>			
Coprogênio	5a	30,2	27,5
Ferricrisina	4c	29,96	25,8
Ferricrocina	4d	30,4	26,5
Ferricromo	4a	29,07	25,2
Ferricromo A	4b	32,0	
Desferrioxamina B	15a	30,60 <sup>e</sup>	26,6
		30,99 <sup>f</sup>	
Desferrioxamina D <sub>1</sub>	15b	30,76	
Desferrioxamina D <sub>2</sub>	14a	31,40	26,69
Desferrioxamina E	14b	32,49 <sup>g</sup>	27,7
		32,21	27,27
<b>Diidroxamatos</b>			
Ácido rodotelúrico	18a	62,2 <sup>h</sup>	21,8
		21,55 <sup>b</sup>	
Alcaligina	19	64,66 <sup>h</sup>	23,0
		23,5 <sup>b</sup>	
<b>Mistos</b>			
Aerobactina <sup>i</sup>	20	22,5	23,3
Aerobactina A <sup>j</sup>		≥49(est) <sup>k</sup>	
Azotobactina <sup>j</sup>	22	28,1	27,8
Ferritocina <sup>l</sup>	4c	31,04 <sup>m</sup>	22,14
Parabactina <sup>n</sup>	8b	≈48	
Pioverdina PaA <sup>o</sup>	23	30,8	

<sup>a</sup> dados coletados em solução aquosa à 25°C e I = 0,1M exceto quando ressaltado;

<sup>b</sup> veja equação 9;

<sup>c</sup> um valor pM é definido na reação de equilíbrio 9 como o log. negativo da concentração de  $Fe(III)_{(aq)}$  livre ou não complexado/( $pM = -\log[Fe(III)_{(aq)}]$ ) calculado da constante de formação dependente de  $H^+$  para um conjunto de condições experimentais fixas pH 7,4;  $[H_nL]_{tot} = 10 \mu M$  e  $[Fe(III)_{(aq)}]_{tot} = 1 \mu M$ . Quanto maior o valor de pM para um ligante particular, mais estável é o complexo metálicos nestas condições;

<sup>d</sup>  $\log \beta_3$  para  $Fe^{3+}_{(aq)} + 3L^{2-} \rightleftharpoons FeL_3^{3-}$ ;

<sup>e</sup>  $\log \beta$  para  $Fe^{3+}_{(aq)} + HDFO^{2-} \rightleftharpoons Fe(HDFO)^+$ ;

<sup>f</sup>  $\log \beta$  para  $Fe^{3+}_{(aq)} + DFO^{3-} \rightleftharpoons Fe(DFO)$ ;

<sup>g</sup> 20°C, I = 0,1M;

<sup>h</sup>  $\log \beta_{230}$  para  $2 Fe^{3+}_{(aq)} + 3L^{2-} \rightleftharpoons Fe_2L_3$ ;

<sup>i</sup> sítios ligantes de Fe(III): dois ácidos hidroxâmicos e um ácido  $\alpha$ -hidroxicarboxílico em uma estrutura linear;

<sup>j</sup> sítios ligantes de Fe(III): um catecol, um ácido hidroxâmico, e um ácido  $\alpha$ -hidroxicarboxílico;

<sup>k</sup> o log de  $\beta_{110}$  foi estimado indiretamente baseado em experimentos de competição de EDTA em pH 6 e uma estimativa de valores desconhecidos de  $pK_a$  para alterobactina;

<sup>l</sup> sítios ligantes de Fe(III): um fenol, um átomo de nitrogênio do anel tiazolina e um ácido carboxílico;

<sup>m</sup>  $\log \beta_{220}$  para  $Fe^{3+}_{(aq)} + 2L^{2-} \rightleftharpoons FeL_2$ . Valores correspondentes ao análogo sintético norferritocina:  $\log \beta_{220} = 29,09$ ; pM = 20,51;

<sup>n</sup> sítios ligantes de Fe(III): dois catecois e um fenol;

<sup>o</sup> sítios ligantes de Fe(III): dois ácidos hidroxâmicos e um catecol

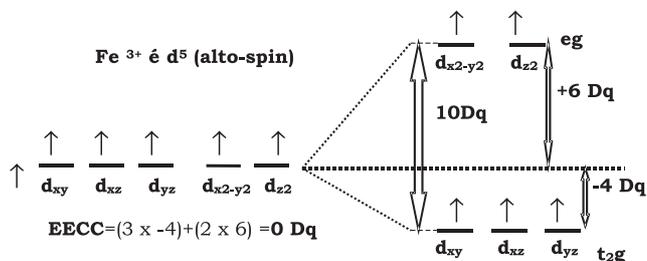


Figura 24. Energia de estabilização do campo cristalino para Fe(III) no desdobramento do campo octaédrico

Conforme mostrado na Figura 24, Fe(III) alto-spin possui configuração  $d^5$ , que não possui EECC, tornando-se um complexo cineticamente lábil, apesar da alta densidade de carga do cátion trivalente. Tal labilidade pode aumentar se o ligante formar um complexo distorcido, como é o caso de quelatos com Fe(III).

Desta forma, complexos de Fe(III) com sideróforos hexadentados são cineticamente lábeis e termodinamicamente estáveis, situação ideal para seu papel de quelante de ferro permeador da membrana celular. Entretanto, isto representa um problema para o micro-organismo durante a assimilação de ferro, uma vez que Fe(III) precisa ser convertido a Fe(II) para que seja incorporado ao metabolismo e este, por sua vez, é mais lábil e menos estável que o Fe(III).

### FE(III)-SIDERÓFOROS E A PERMEACÃO ATRAVÉS DA MEMBRANA CELULAR

Como complexos sideróforos-Fe(III) possuem peso molecular maior que 400-2000 g/mol, sua capacidade para permear estruturas porinas é baixa e proteínas transportadoras específicas tornam-se necessárias<sup>12</sup>. Estudos feitos por Braun e Killmann, utilizando Espectroscopia de Mössbauer, têm fornecido informações elucidativas sobre estas proteínas e sobre o mecanismo de absorção de Fe mediado por sideróforos<sup>36,37</sup>.

O transporte e a liberação de ferro, mediados por sideróforos, são muito mais rápidos que trocas cinéticas para sideróforo Fe(III), apontando para as reações redox que também devem estar envolvidas, conforme a indicação da diferença de potenciais eletroquímicos nas membranas externa e citoplasmática da célula<sup>38,39</sup>.

A Figura 25 apresenta um diagrama esquemático de uma célula

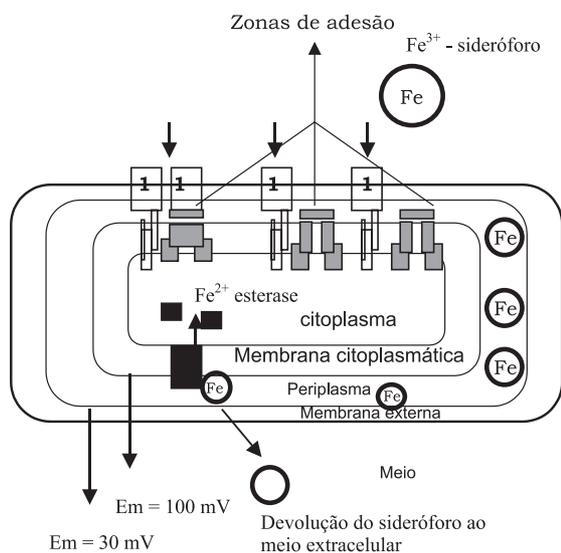


Figura 25. Diagrama esquemático de uma célula de *Escherichia coli*

de *Escherichia coli*, descrito a partir do primeiro uso da Espectroscopia de Mössbauer para demonstrar o transporte de ferro dentro de uma célula. As proteínas receptoras (representadas por **1**) transportam ferro-sideróforo através da membrana externa. No periplasma estas proteínas liberam Fe(III)-sideróforo a compostos que transportam somente o ferro através da membrana citoplasmática (representados na cor cinza); estas são outras proteínas transportadoras, capazes de transportar ferro dentro do citoplasma com gasto de ATP. As respectivas ATPases estão associadas com a entrada de Fe(II) através da membrana citoplasmática. Provavelmente Fe(II) se difunde através da membrana, sendo transportado por outras proteínas (representadas pela cor preta), para finalmente ser incorporado a trajetórias metabólicas do ser vivo<sup>13,37,40</sup>.

Os sideróforos possuem menor afinidade por Fe(II)<sub>(aq)</sub> do que por Fe(III)<sub>(aq)</sub>, sendo a cinética de troca de ligante no Fe(II) alto spin muito mais rápida que no Fe(III) alto spin. Conseqüentemente, a redução do complexo Fe(III)-sideróforo, seguida pela troca do ligante, é um mecanismo quimicamente razoável para a liberação de ferro na membrana ou interior celular.

Os potenciais redox são, desta forma, importantes na determinação se a redução (Fe(III)/Fe(II)) é termodinamicamente possível em condições biológicas. A Tabela 4 apresenta uma compilação dos potenciais redox disponíveis para os complexos Fe(III)-sideróforo. Estes dados ilustram a forte influência do sítio ligante no potencial redox e uma influência relativamente pequena da geometria do ligante.

Tabela 4. Potenciais redox de sideróforos-Fe(III) em solução aquosa

Sideróforo	Figura	$E_{1/2}$ (V vs. NHE) <sup>a</sup>
<b>Tricalecolatos</b>		
Enterobactina	7	-0,750
<b>Monocatecolato</b>		
2,3-dihidroxi benzoilserina	6	-0,350
<b>Triidroxamatos</b>		
Coprogênio	5a	-0,447
Ferricrocina	4d	-0,412
Ferricromo	4a	-0,400
Ferricromo A		-0,440
Ferricromo B		-0,468
<i>N,N,N'</i> - triacetilfusarinina C	16	-0,468
<b>Diidroxamatos</b>		
Ácido rodotelúrico	18a	-0,359
<b>Mistos</b>		
Aerobactina <sup>b</sup>	20	-0,336
Ferritocina <sup>c</sup>	4c	-0,166
Parabactina <sup>d</sup>	8b	-0,673
Parabactina A	10d	-0,400
Pseudobactina <sup>e</sup>	11	-0,482
Pioverdina PaA <sup>f</sup>	23	-0,510

<sup>a</sup> solução aquosa em pH=7;

<sup>b</sup> sítios ligantes de Fe(III): dois ácidos hidroxâmicos e um ácido  $\alpha$ -hidroxicarboxílico em uma estrutura linear;

<sup>c</sup> sítios ligantes de Fe(III): um fenol, um átomo de nitrogênio do anel tiazolina e um ácido carboxílico;

<sup>d</sup> sítios ligantes de Fe(III): dois cateóis e um fenol. A hidrólise do anel oxazolina da L-parabactina férrica conduz a uma abertura da cadeia treonila da estrutura da L-parabactina A;

<sup>e</sup> sítios ligantes de Fe(III): um catecol, um ácido hidroxâmico e um ácido  $\alpha$ -hidroxicarboxílico;

<sup>f</sup> sítios ligantes de Fe(III): dois ácidos hidroxâmicos e um catecol

O pH do meio também pode influenciar no potencial redox dos sideróforos. Por exemplo, o potencial redox da ferrioxiamina B (15a) aumenta em mais de 300mV com o decréscimo do pH para 3,5<sup>31</sup>. O potencial ideal para redução à pH 4,5 é cerca de -180mV, que está na faixa dos redutores biológicos.

## APLICAÇÕES DOS SIDERÓFOROS

A química de coordenação associada aos sideróforos, que os torna tão versáteis do ponto de vista biológico, sugere seu uso potencial como agentes farmacológicos e agroquímicos na incorporação ou no seqüestro deste íon metálico<sup>41</sup>.

### Papel dos sideróforos nas infecções

Um método bastante simples e eficiente de proteger os animais de infecções bacterianas ou fúngicas é privar o organismo da absorção de ferro. Um suprimento adequado de ferro pode ser crítico para muitos microorganismos patogênicos, visto que a transferrina tem uma afinidade muito grande pelo metal ( $\beta = 10^{36}$ )<sup>4,28-30</sup>.

O tratamento da malária, por exemplo, que representa um dos maiores problemas de saúde do mundo, tem levado ao desenvolvimento de novos agentes antimalariais. Nesse contexto um considerável número de quelantes de Fe (III), cujos sítios de complexação são hidroxamatos, têm sido propostos como agentes terapêuticos. Estes são capazes de acessar as células infectadas e remover ferro dos parasitas intracelulares interrompendo, desta forma, o ciclo da doença<sup>42,43</sup>.

Também no tratamento da tuberculose, cólera e lepra, os sideróforos têm alcançado desempenho satisfatório na interrupção do ciclo da doença<sup>36</sup>.

### Aplicações clínicas

Na condição de quelantes de ferro de ocorrência natural, os sideróforos são considerados os menos nocivos para realizar a remoção de ferro em pacientes que sofrem de siderose induzida por transfusão.

O sideróforo excretado por *Streptomyces pilosus*, desferrioxiamina B, é comercializado como um sal de mesilato sob o nome comercial de Desferal®, marca registrada da Ciba-Geigy. Este é o único fármaco disponível no mercado para remover excesso de ferro<sup>36</sup>. A Desferrioxiamina B é administrada intramuscularmente e aumenta a excreção de ferro pela urina. Contudo, este tratamento é caro e tem um grande número de efeitos colaterais, fazendo-se necessário um representante oral do medicamento<sup>44</sup>.

O ácido rodolúrico, que pode ser produzido em grandes quantidades, também tem sido considerado, do ponto de vista do uso clínico, entretanto, ele induz reações inflamatórias locais. Uma grande faixa de catecolatos aparece como possíveis fármacos na remoção de ferro. Contudo, consideráveis esforços têm sido aplicados no “design” e na síntese de análogos menos tóxicos<sup>4,17</sup>.

Um outro aspecto interessante, na aplicação clínica de sideróforos, é a elevação da potência dos antibióticos clássicos, se conjugado a estes sideróforos. O objetivo aqui é adquirir a vantagem da alta seletividade dos sideróforos que, quando conjugados, utilizam captação específica de ferro para a entrada nas bactérias<sup>45</sup>.

### Antibióticos baseados em estruturas de sideróforos

Vários antibióticos potentes têm sido descobertos mimetizando o centro de coordenação de Fe(III) dos sideróforos e, portanto, tendo acesso ao citoplasma da bactéria via sistemas de transporte des-

tes. Uma vez dentro das células a metade ativa do antibiótico é clivada. Desta forma, sideróforos têm sido usados como transportadores para antibióticos sintéticos<sup>45</sup>.

Exemplos de antibióticos com estruturas similares a de sideróforos:

- as ferrimicinas: são isoladas da *Streptomyces* e são ativas frente a organismos Gram-positivos. A estrutura da ferrimicina A envolve uma substituição na função amino terminal da ferrioxiamina B (Figura 14a). Experimentos *in vivo* com camundongos mostram a ferrimicina como sendo mais efetiva que penicilina, frente a alguns microorganismos<sup>17</sup>.
- albomicinas: foi primeiramente isolado da *Actinomyces subtropicus* e consiste em uma mistura de triidroxamatos. É um potente antibiótico contra ambas bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, e sua ação é especificamente antagonizada por ácidos triidroxâmicos tais como ferricromo. Provavelmente, por conta deste aspecto, ele é reconhecido pelo receptor de membrana, sendo absorvido rapidamente pela mesma.

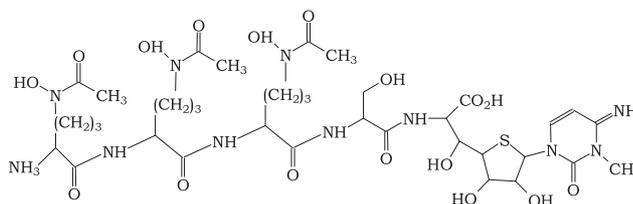


Figura 26. Estrutura da Albomicina

### Interesses agrícolas

*Pseudomonas fluorescentes* formam uma linha de sideróforos que apresentam uma função quinolina, responsável pela fluorescência, e uma cadeia peptídica de comprimento variável portando funções ácido hidroxâmico e  $\alpha$ -hidroxíácidos. Exemplos são a pseudobactina e a pioverdina. Estes sideróforos têm aumentado o crescimento das plantas, através do controle de organismos tóxicos no solo por meio de quelação destes<sup>46</sup>. Tem-se também relatado o uso de sideróforos no tratamento da clorose férrica e do bronzeamento do solo<sup>7</sup>.

Estudos de Rengel e colaboradores demonstraram o sucesso do uso de sideróforos como biofertilizantes, visando aumentar a concentração de micronutrientes em grãos destinados ao consumo humano, principalmente os mais importantes na cadeia alimentar: arroz, feijão, milho<sup>47</sup>. Uma vez que os tradicionais tratamentos contra deficiência vitamínica se dão em forma de suplemento alimentar, as estratégias no campo da agricultura neste sentido, vêm se desenvolvendo rapidamente.

### Outras aplicações

Em 1995, McCafferty e McArdle fizeram um estudo onde mapeavam a atividade inibitória de corrosão em metais, principalmente ferro, atividade esta apresentada por quatro sideróforos: aerobactina, enterobactina, ácido rodolúrico e parabactina, e observaram que a enterobactina apresenta a maior constante de estabilidade, sendo também o melhor inibidor de corrosão para este metal<sup>48</sup>.

Em 1997, Goodell e colaboradores escreveram uma revisão completa sobre o uso de sideróforos na biodegradação da madeira e no branqueamento de polpa de papel. Esta observação representa um verdadeiro ganho econômico e ambiental para a população mundial,

uma vez que sideróforos, na qualidade de produtos naturais, serão facilmente degradados e não poluentes<sup>49</sup>.

Sideróforos também têm sido usados na reconstrução de tecidos do miocárdio, danificados após um ataque do coração. Agem aqui como catalisadores de reações de transferências de elétrons que irão eliminar radicais livres, os causadores dos danos<sup>26</sup>.

Em 1999, Bradley e colaboradores realizaram um estudo onde demonstram a aplicação de sideróforos no recobrimento de metais, visando remediar o desgaste natural dos mesmos e aproveitar sua condição de quelantes de ocorrência natural sendo, desta forma, úteis como agentes de preservação ambiental<sup>50</sup>.

## CONCLUSÕES

Transporte de ferro mediado por agentes quelantes de baixo peso molecular os "sideróforos" têm inúmeras aplicações práticas. A compreensão do processo de captação de ferro pelas células microbianas é facilitada pelo entendimento da química de coordenação e da bioinorgânica dos complexos e dos ligantes.

Devido à grande aplicabilidade destes quelantes naturais, pesquisadores do mundo todo têm voltado seus esforços no intuito de elucidar o mecanismo de absorção de ferro mediado por sideróforos, buscando, desta forma, análogos cada vez mais eficientes, e menos tóxicos, que permitam seu uso clínico em larga escala<sup>51-53</sup>. Análogos sintéticos de sideróforos têm sido usados para investigar não somente o próprio processo de transporte biológico, mas também as propriedades estruturais e termodinâmicas destes extraordinários ligantes.

## REFERÊNCIAS

- Crichton, R. R.; Ward, R. J.; *Analyst* **1995**, *120*, 693.
- Crumbly, A. L.; *Coord. Chem. Rev.* **1990**, *105*, 155.
- Andrews, N. C.; *New Engl. J. Med.* **1999**, *341*, 1986.
- Neilands, J. B.; *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 26723.
- Emery, T.; *Biochemistry* **1976**, *15*, 2723.
- <http://www.ama.org/special/womh/newline/special/tr4703a.htm>, acessada em Março 2001.
- Briat, J. F.; Lobréaux, S.; *Trends Plant Sci.* **1997**, *2*, 187.
- Loper, J. E.; Lindow, S. E.; *Appl. Environ. Microbiol.* **1994**, *60*, 1934.
- Moreau, S.; Puppo, A.; Meyer, J. M.; *FEBS Lett.* **1995**, *361*, 225.
- Wittenberg, J. B.; Wittenberg, B. A.; Day, D. A.; Udvardi, M. K.; Appleby, C. A.; *Plant Soil* **1996**, *178*, 161.
- Harris, W. R.; Carrano, C. J.; Cooper, S. R.; Sofen, S. R.; Avdeef, A. E.; Mcardle, J. V.; Raymond, K. N.; *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 6097.
- Guerinot, M. L.; *Annu. Rev. Microbiol.* **1994**, *48*, 743.
- Reigh, G.; O'Connell, M.; *J. Bacteriol.* **1993**, *175*, 94.
- Francis, J.; Madinaveitia, H. M.; Macturk, H. M.; Snow, G. A.; *Nature* **1949**, *163*, 365.
- Raymond, K. N.; Müller, G.; Matzanke, B. F.; *Top. Curr. Chem.* **1984**, *123*, 50.
- Garibaldi, J. A.; Neilands, J. B.; *Nature* **1956**, *177*, 526.
- Hider, R. C.; *Structure and Bonding* **1984**, *58*, 26.
- Tor, Y.; Libman, J.; Shanzer, A.; Felder, C. E.; Lifson, S.; *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 6661.
- Caris, C.; Baret, P.; Beguin, C.; Serratrice, G.; Pierre, J. L.; Aulhere, J. P.; *Biochem. J.* **1995**, *312*, 879.
- Leong, J.; Raymond, K. N.; *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 293.
- Xu, Y.; Miller, M. J.; *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 4314.
- Hennard, C.; Machi, B.; Kyslík, P.; Abdallah, M. A.; *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 97.
- Wong-lun-sang, S.; Bernardini, J. J.; Hennard, C.; Kyslík, P.; Dell, A.; Abdallah, M. A.; *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 3329.
- Nowak-Thompson, B.; Gould, S. J.; *Tetrahedron Lett.* **1994**, *50*, 9865.
- Buckley, G. M.; Pattenden, G.; Whiting, D. A.; *Tetrahedron* **1994**, *50*, 11781.
- Telford, J. R.; Leary, J. A.; Tunstad, L. M. G.; Byers, B. R.; Raymond, K. N.; *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 4499.
- Budzikiewicz, H.; *Pure Appl. Chem.* **1994**, *66*, 2207.
- Neilands, J. B.; *Annu. Rev. Biochem.* **1981**, *50*, 715.
- Neilands, J. B.; *Structure and Bonding* **1984**, *58*, 1.
- Neilands, J. B.; *Arch. Biochem. Biophys.* **1993**, *302*, 1.
- Emery, T.; *Biochemistry* **1986**, *25*, 4629.
- Albrecht-Gary, A. M.; Crumbly, A. L.; *Met. Ions Biol. Syst.* **1998**, *35*, 239.
- Huhey, J. E.; Keiter, E. A.; Keiter, R. L.; *Inorganic Chemistry: Principles of Structure and Reactivity*, 4<sup>th</sup> ed., Harper Collins College Publishers: New York, 1993.
- Gerloch, M.; Constable, E. C.; *Transition Metal Chemistry: The Valence Shell in d-Block Chemistry*, 1<sup>st</sup> ed., VCH: Weinheim, 1994.
- Barclay, S. J.; Huynh, B. H.; Raymond, K. N.; *Inorg. Chem.* **1984**, *23*, 2011.
- Raymond, K. N.; *Pure Appl. Chem.* **1994**, *66*, 773.
- Braun, V.; Killmann, H.; *Trends Biochem. Sci.* **1999**, *24*, 104.
- Shanzer, A.; Libman, J.; Lazar, R.; Tor, Y.; *Pure Appl. Chem.* **1989**, *61*, 1529.
- Rohrbach, M. R.; Paul, S.; Köster, W.; *Molecular & General Genetics* **1995**, *248*, 33.
- Rolls, A.; Hediger, M. A.; *J. Physiol.* **1999**, *518*, 1.
- Garrett, T. M.; McMurry, T. J.; Hosseini, M. W.; Reyes, Z.E.; Halm, F.E.; Raymond, K. N.; *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 2965.
- Tsafack, A.; Libman, J.; Shanzer, A.; Cabantchik, Z. I.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1996**, *40*, 2160.
- Mabeza, G. F.; Loyevsky, M.; Gordeuk, V. R.; Weiss, G.; *Pharmacol. Ther.* **1999**, *81*, 53.
- Chapman, H.; *Transition Met. Chem.* **1993**, *18*, 439.
- Diarra, M. S.; Lavoie, M. C.; Jacques, M.; Darwish, I.; Dolence, E. K.; Dolence, J. A.; Ghosh, A.; Gosh, M.; Miller, M. J.; Malouin, F.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1996**, *40*, 2610.
- Burd, G. I.; Dixon, D. G.; Glick, B. R.; *Can. J. Microbiol.* **2000**, *46*, 237.
- Rengel, Z.; Batten, G. D.; Crowley, D. E.; *Field Crop Research* **1999**, *60*, 27.
- McCafferty, E.; McArdle, J. V.; *J. Electrochem. Soc.* **1995**, *142*, 1447.
- Goodell, B.; Jellison, J.; Liu, J.; Daniel, G.; Paszczynski, A.; Fekete, F.; Krishnamurthy, S.; Jun, L.; Xu, G.; *J. Biotechnol.* **1997**, *53*, 133.
- Hernlem, B. J.; Vane, L. M.; Sayles, G.D.; *Water Res.* **1999**, *33*, 951.
- Zinelabidine, A.; Bouraoui, A.; Mhenni, F.; Blaive, B.; Gallo, R.; *J. Mol. Struct. (Theochem)* **1993**, *286*, 267.
- Bouraoui, A.; Fathallah, M.; Blaive, B.; Gallo, R.; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1990**, *2*, 1211.
- Meyer, M.; Trowitzsch-Kienast, W.; *J. Mol. Struct. (Theochem)* **1997**, *418*, 93.