

Reaktion von Dicyanocobyrinsäure-heptamethylester mit Ascorbinsäure^[**]

Von Albert Gossauer, Burghard Grünig, Ludger Ernst, Wulf Becker und William S. Sheldrick^[*]

Professor Robert B. Woodward zum 60. Geburtstag gewidmet

Bei den meisten Reaktionen des Cyanocobalamins (Vitamin B₁₂), die unter Änderung der Oxidationszahl des komplex gebundenen Cobalt-Ions ablaufen, bilden sich als Nebenprodukte Farbstoffe, die man als stabile gelbe Corrinoida bezeichnet^[1]. Trotz zahlreicher Bemühungen ist es bisher nicht gelungen, die Konstitution dieser Verbindungen aufzuklären. Wegen ihres biologischen (Metabolismus des Vitamin-B₁₂-Coenzims in der lebenden Zelle) sowie pharmakologischen

Interesses (Inkompatibilität von Cyanocobalamin und Vitamin C in Vitamin-Präparaten) haben wir die Bildung derartiger Farbstoffe bei der Reaktion von Ascorbinsäure und Dicyanocobyrinsäure-heptamethylester (1)^[2], der aufgrund seiner Löslichkeit in aprotischen Lösungsmitteln préparative und analytische Vorteile bietet, untersucht.

Die Umsetzung einer Lösung von (1) in Methanol-Wasser mit Ascorbinsäure in Gegenwart von Sauerstoff liefert ein gelbes Corrinoid (4), dessen physikalische Daten in Tabelle 1 zusammengefaßt sind und dessen Konstitution durch Röntgen-Strukturanalyse ermittelt wurde^[3] (Abb. 1).

Die Hydroxy-Gruppe an C-5 (O-5) befindet sich oberhalb der Molekülebene. Aus den Werten der Bindungslängen und -winkel von (4) ist zu entnehmen, daß die Atome des „inneren“

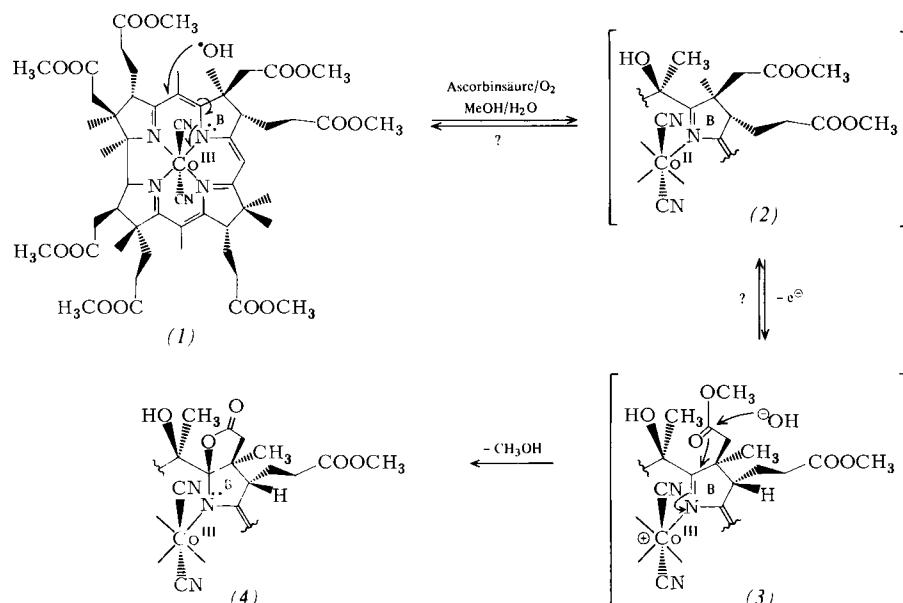


Tabelle 1. Physikalische Eigenschaften der Verbindung (4) [a].

Fp [°C]	UV/VIS (CH ₃ OH) λ_{max} [nm] (log ε)	IR (CHCl ₃) [cm ⁻¹]	¹ H-NMR (100 MHz, CDCl ₃ , TMS intern) δ [ppm]	¹³ C-NMR (25.16 MHz, CDCl ₃ , TMS intern) δ [ppm]
196–197 [b]	488 (4.00)	3410 (assoz. OH)	5.39 (OH, gegen D austauschbar); 5.04 (10-H); 4.22 (H-19, d, $J = 10$ Hz); 3.75, 3.70, 3.67, 3.64 (je 1 OCH ₃); 3.74 (2 \times OCH ₃); 2.17 (15-CH ₃); 1.85 (5-CH ₃); 1.44, 1.29 (je 2 \times CH ₃); 1.22, 1.13 (je 1 CH ₃).	191.8 (C-4); 176.8, 175.6, 175.0, 174.4, 174.0, 172.9, 172.8 (2 C), 172.2 u. 172.0 (7 Ester- bzw. Lacton-CO sowie C-9,11,16); 164.6 (C-14); 134.1 u. 129.8 (je 1 C≡N); 112.2 (C-6); 100.8 (C-15); 85.6 (C-10); 84.8 u. 78.9 (C-1,5); 76.1 (C-19); 59.0, 56.0 u. 53.7 (C-3,8,13); 58.5 (C-17); 52.4 (2 CH ₃ O); 52.0 (CH ₃ O); 51.8 (2 CH ₃ O); 51.7 (CH ₃ O); 50.8, 46.8 u. 45.5 (C-2,7,12); 45.4 u. 40.7 (CH ₂ an C-2 u. C-7); 40.0 (C-18); 33.0, 32.5, 32.3, 31.7, 31.2, 30.0, 25.8 u. 23.2 (restl. CH ₂); 30.7 (pro-S-CH ₃ an C-12); 23.2 (CH ₃ an C-5); 15.0 (CH ₃ an C-15); 21.7, 20.1, 18.4, 17.3 u. 16.1 (restl. CH ₃).
177–178 [c]	469 (3.99)	2990 (CH)		
321 (4.02)		2960 (CH)		
269 (Sch.)		1785 (Lacton-C=O)		
220 (4.73)		1735 (Ester-C=O)		
		u. a.		

[a] Optimale Reaktionsbedingungen: 100 mg (1), 400 mg Ascorbinsäure und 210 mg NaHCO₃ werden in 16 ml Phosphat-Puffer (pH = 7.2) und 10 ml Methanol gelöst. Die Lösung wird mit 2 ml wäßriger EDTA-Lösung (0.01 M) versetzt und 3 h bei 65°C unter Einleiten von Sauerstoff stehengelassen.

Das Produkt wird durch Chromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan/Methanol (97:3) isoliert. Man erhält 30% (4) und gewinnt 48% (1) zurück.

[b] Aus Methanol-Ether.

[c] Aus Benzol-n-Hexan.

[*] Doz. Dr. A. Gossauer, Dipl.-Chem. B. Grünig
Institut für Organische Chemie der Technischen Universität
Schleinitzstraße, D-3300 Braunschweig
Dr. L. Ernst, Dipl.-Chem. W. Becker, Doz. Dr. W. S. Sheldrick
Abteilung für Physikalische Meßtechnik der Gesellschaft für Biotechnologische
Forschung mbH
Mascheroder Weg 1, D-3300 Braunschweig-Stöckheim

[**] 1. Mitteilung zur Konstitution der stabilen gelben Corrinoida. – Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und vom Fonds der Chemischen Industrie unterstützt.

Ringes zwischen N-22 und N-24 ein Polyazamethin-System mit vier konjugierten Doppelbindungen bilden. Die Bindung (C-15)–(C-16) ist aber wesentlich länger als in vergleichbaren Corrinen (z. B. 1.46 Å in der Cobyrinsäure^[4]). Die Bindung (N-21)–(C-4) bleibt als isolierte Doppelbindung. Die Verbindung (4) kristallisiert mit einem Molekül Methanol, das durch Wasserstoffbrückenbindungen an der „oberen“ CN-Gruppe (O–H···N = 2.67 Å) und an O-5 (O···H–O = 2.66 Å) gebunden ist, sowie mit einem Molekül Wasser, das durch eine

O—H…N-Brücke von 2.82 Å mit der „unteren“ CN-Gruppe verknüpft ist.

Im ^1H -NMR-Spektrum ist die Umwandlung von (1) in (4) vor allem durch die Verlagerung des (C-5)- CH_3 -Signals von $\delta = 2.13$ (oder 2.08) nach $\delta = 1.85$ und durch das Auftreten eines HO-Signals erkennbar. Charakteristische Unterschiede in den ^{13}C -NMR-Spektren^[5] betreffen: 1. die durch Unterbrechung der Konjugation und Einführung der Hydroxy-Gruppe

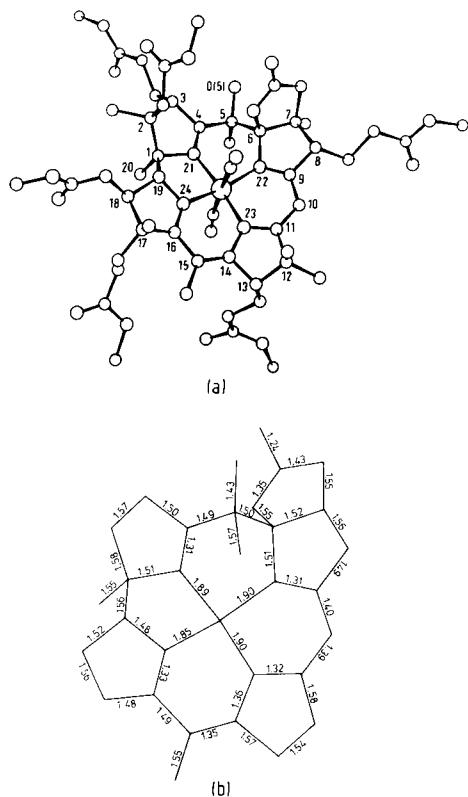


Abb. 1. a) Molekülstruktur von (4) und Numerierung der Atome; b) Bindungslängen (in Å) im Chromophor von (4). Die Standardabweichungen betragen 0.01 Å bei Co—N und 0.02 Å bei anderen Abständen.

an C-5 bedingte Entschirmung von C-4, das in (1) im Bereich $\delta = 171$ bis 176, im Produkt bei $\delta = 191.8$ absorbiert; 2. die Verringerung der Anzahl der Signale in dem für C-5 und C-15 charakteristischen Bereich ($\delta = 100$ bis 105) von zwei auf eins; 3. die Verlagerung des Signals für C-6 von $\delta = 164$ nach $\delta = 112.2$ ppm. Die Lactonbildung lässt sich in den ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren durch das Verschwinden jeweils eines Methoxy-Signals und im IR-Spektrum durch das Auftreten der charakteristischen Absorption bei $\tilde{\nu}_{\text{max}} = 1785 \text{ cm}^{-1}$ nachweisen.

Die Bildung von (4) aus (1) lässt sich am plausibelsten durch Anlagerung eines Hydroxy-Radikals an C-5 unter simultaner Reduktion des komplex gebundenen Cobalt-Ions, Oxidation des so gebildeten Cobalt(II)-Komplexes (2) und intramolekulare Stabilisierung des Cobalt(III)-Chelats (3) unter Bildung des Lactonringes aus der Essigsäureester-Gruppe an C-7 deuten.

Durch Ascorbinsäure induzierte Hydroxylierungen organischer Substrate in wasserhaltigen Medien sind bekannt. Vermutlich finden sie radikalisch unter intermediärer Bildung von Wasserstoffperoxid statt^[6]. In der Tat lässt sich (1), wenngleich mit schlechterer Ausbeute, auch mit H_2O_2 in (4) überführen. Vom reaktionsmechanistischen Standpunkt aus ist die Regioselektivität bei der Bildung von (4) bemerkenswert. Wahrscheinlich ist die Bildung des fünfgliedrigen Lactonringes

unter Beteiligung der Essigsäureester-Gruppe an C-7 geschwindigkeitsbestimmend.

Eingegangen am 27. April 1977 [Z 725]

- [1] *J. M. Pratt*: Inorganic Chemistry of Vitamin B₁₂. Academic Press, London 1972, Kapitel 15; *W. Friedrich*: Vitamin B₁₂ und verwandte Corrinoids. Thieme, Stuttgart 1975, S. 87.
 - [2] Dargestellt aus Cyanocobalamin (E. Merck, Darmstadt) nach der von *L. Werthmann*, Dissertation, ETH Zürich 1968, angegebenen Vorschrift.
 - [3] Aus Methanol-Ether kristallisiert (4) orthorhombisch (Raumgruppe: P2₁2₁2₁), mit $a = 19.054(2)$, $b = 31.416(2)$, $c = 9.540(1)$ Å, $Z = 4$, $d_{ber.} = 1.33$ g cm⁻³. Die Struktur wurde mit Patterson- und Differenz-Synthesen gelöst und für 4499 unabhängige Reflexe ($F \geq 3.0$ σ (F), 2208 Friedel-Areale) mit dem Programmsystem SHELX-76 zu $R = 0.098$ und $R_w = 0.103$ verfeinert (Co anisotrop). Die für Cobyrinsäure angegebene absolute Konfiguration [4] [vgl. (1)] wurde bestätigt.
 - [4] *K. Venkatesan*, *D. Dale*, *D. Crowfoot Hodgkin*, *C. E. Nockolds*, *F. H. Moore*, *B. H. O'Connor*, Proc. Roy. Soc. London A 323, 455 (1971).
 - [5] Bezüglich der Zuordnung der ¹³C-NMR-Spektren von (1) siehe *A. I. Scott*, *C. A. Townsend*, *K. Okada*, *M. Kajiwara*, *R. J. Cushley*, *P. J. Whitman*, J. Am. Chem. Soc. 96, 8069 (1974); *A. R. Battersby*, *M. Ihara*, *E. McDonald*, *J. R. Redfern*, *B. T. Golding*, J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 1977, 158.
 - [6] *J. H. Green*, *B. J. Ralph*, *P. J. Schofield*, Nature 198, 754 (1963).

Ein geometrisch isomeres Bilatrien-abc^[**]

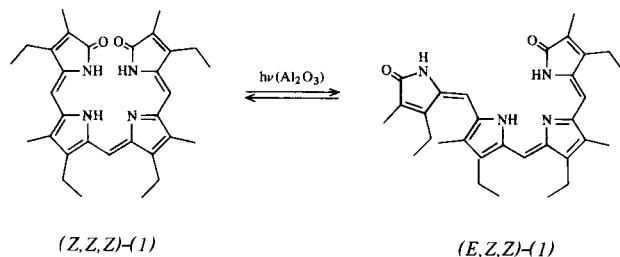
Von Heinz Falk und Karl Grubmayer^[*]

Gallenfarbstoffe sind bezüglich Synthese und Konstitution gut untersucht^[1]. In strukturanalytischer Hinsicht (Konfiguration, Konformation, Tautomerie) sind erst in jüngster Zeit nennenswerte Einsichten^[2-4] erzielt worden. Geometrische Isomere eines Gallenpigments waren bislang nicht bekannt, sind jedoch im Hinblick auf Hypothesen über die Funktion des pflanzlichen Photorezeptors Phytochrom^[5] von Interesse.

Es ist uns nunmehr gelungen, am Ätiobiliverdin-IV- γ (1), einem Bilatrien-abc, eine ($Z \rightleftharpoons E$)-Isomerisierung nachzuweisen und das neue Isomer zu isolieren.

Nach der Bestrahlung von (1), das an Aluminiumoxid adsorbiert wurde, liefert die chromatographische Trennung neben dem Edukt ein langsamer wanderndes Produkt, das durch sein Massenspektrum [MS (70 eV, 140°C); m/e (%): 498 (100, M^+), 483 (15), 469 (16), 249 (13, M^{2+})] als Isomer charakterisiert wurde. Die Reaktion ließ sich in beiden Richtungen führen, d. h. bei neuerlichem Bestrahlen des Produktes unter den genannten Bedingungen erhielt man wieder das Gemisch der beiden Formen, wobei die rascher wandernde Komponente sich in allen Eigenschaften^[6] als identisch mit dem Edukt erwies. Das Absorptionsspektrum des Isomers [UV-VIS (CHCl₃): 262 (18 000), 323 (27 000), 369 (41 000), 598 (21 000), nm (ϵ)] unterscheidet sich von dem des Eduktes durch eine hypsochrome Verschiebung der langwelligeren Bande um 38 nm.

Dem Edukt ist wegen seiner Analogie zum Biliverdindimethylylester^[2] und auch im Hinblick auf die bei Partialstrukturen



[*] Prof. Dr. H. Falk, Mag. rer. nat. K. Grubmayr
Organisch-Chemisches Institut der Universität
Währingerstraße 38, A-1090 Wien (Österreich)

[**] Die Arbeit wurde vom Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Projekt Nr. 2732) gefördert.