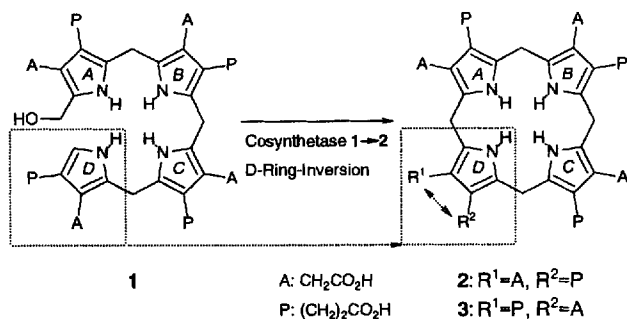


Untersuchungen zur Biosynthese der Pigmente des Lebens: Rechnungen zur Bildung von Uroporphyrinogen III aus Hydroxymethylbilan und Beschreibung eines neuen Mechanismus zur D-Ring-Inversion**

Von Lutz F. Tietze* und Holger Geissler

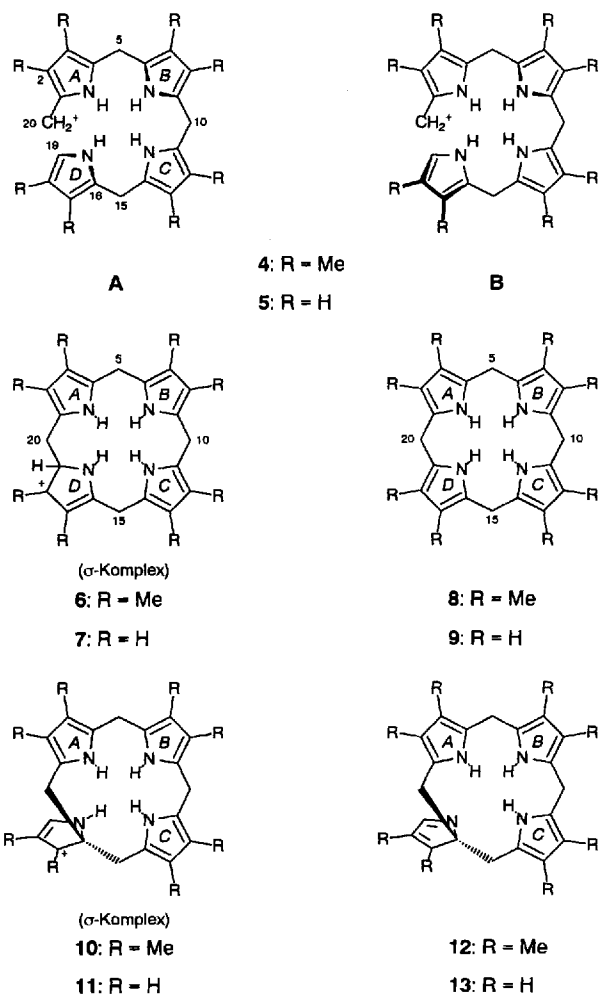
Professor Wolfgang Steglich
zum 60. Geburtstag gewidmet

Das cyclische Tetrapyrrol Uroporphyrinogen III **2** ist die biosynthetische Vorstufe der Chlorophylle und Bakteriochlorophylle sowie von Hämin, Sirohäm, Coenzym F 430 und Vitamin B₁₂, die als Pigmente des Lebens bezeichnet werden. Es entsteht unter Einwirkung der Enzyme Hydroxymethylbilan-Synthase (HMBS) und Uroporphyrinogen-III-Synthase (Cosynthetase) aus Porphobilinogen (PBG); hierbei konnte Hydroxymethylbilan **1** als nicht-enzymgebundene Zwischenstufe nachgewiesen werden^[1]. Bemerkenswert an der Biosynthese von Uroporphyrinogen III **2** ist die Inversion des Ringes D, die nur in Gegenwart von Cosynthetase erfolgt^[2]. Bei Abwesenheit dieses Enzyms entsteht nur Uroporphyrinogen I **3**, das dann auch in Gegenwart von Cosynthetase nicht zu **2** isomerisiert^[3]. Zahlreiche bisher nicht verifizierbare Modelle wie die Bildung einer Spiroverbindung als Intermediat^[4], der Fragmentierungs-Rekombinations-Mechanismus^[1, 5], [1,5]-sigmatrope Umlagerungen^[5b, c] und die intermediäre Bildung eines Lactons^[6] werden zur Erklärung des Phänomens herangezogen. In dieser Arbeit beschreiben wir unter Verwendung der Modellverbindungen **4** und **5** Rechnungen zur Bildung von Uroporphyrinogen III **2** aus Hydroxymethylbilan **1** und stellen einen neuen Mechanismus zur Inversion des Ringes D vor.



In der vorhergehenden Arbeit hatten wir anhand von Rechnungen zeigen können, daß für die acyclischen Tetrapyrrole **4** und **5** die cyclischen Konformationen **A** und **B** Energieminima sind^[7]. Zur Untersuchung der Cyclisierung wurden nun die bei der Bildung des cyclischen Tetramers **8** aus **4** durch den Angriff von C-19 an C-20 sowie der Spiroverbindung **12** aus **4** durch Angriff von C-16 an C-20 auftretenden Übergangszustände^[8] und σ -Komplexe mit der semiempirischen Rechenmethode AM1/RHF^[9] bestimmt. Ähnliche Rechnungen haben wir auch für die Bildung von **9** und **13** aus dem unsubstituierten acyclischen Tetrapyrrol **5** durchgeführt.

Es wurden für die Cyclisierung von **4** und **5** jeweils vier Übergangsstrukturen (TS-4a–d und TS-5a–d) gefunden. Die Cyclisierung von **4** zum cyclischen Tetrapyrrol **8** via **6**



aus der Konformation **A** erfordert den geringsten Energieaufwand. (TS-4a: $\Delta H_f^\ddagger = 8.36 \text{ kJ mol}^{-1}$). Dies würde der Bildung von Uroporphyrinogen I **3** aus **1** entsprechen und steht in Übereinstimmung mit der säurekatalysierten Cyclisierung von Porphobilinogen, die primär in einer kinetisch kontrollierten Reaktion zu **3** führt; unter den äquilibrierenden Reaktionsbedingungen wird dann ein Gemisch der Uroporphyrinogene I, II, III und IV im Molverhältnis 1:1:4:2 gefunden^[10]. Erwähnenswert ist hierbei, daß für die Cyclisierung von **5** zu **9** via **7** eine fast doppelt so hohe Aktivierungsenergie berechnet wurde (TS-5a: $\Delta H_f^\ddagger = 14.7 \text{ kJ mol}^{-1}$). Dies ist sicherlich auch auf die geringere Reaktivität des unsubstituierten Pyrrols zurückzuführen; betrachtet man zusätzlich die Hyperfläche für die Konformationen von **5**, die nur schwach ausgeprägte Minima aufweist, so wird die Tendenz zur Polymerisation verständlich^[7]. Interessanterweise sind die bei der elektrophilen Substitution am Pyrrol intermediär gebildeten kationischen σ -Komplexe **6** und **7**, die zu den Tetrapyrrolen **8** bzw. **9** führen, erheblich stabiler als die kationischen Substrate **4** und **5**; die berechneten Energiedifferenzen ΔH_f betragen $-91.3 \text{ kJ mol}^{-1}$ für **4** und $-87.3 \text{ kJ mol}^{-1}$ für **5**. Dies kann ein Hinweis darauf sein, daß bei der enzymatischen Cyclisierung von Hydroxymethylbilan eine kationische Zwischenstufe vom Typ **4** nicht auftritt und daß die σ -Komplexe vom Typ **6** eine vergleichsweise hohe Lebensdauer haben.

Von wesentlicher Bedeutung für die Erklärung der Ringinversion bei der Bildung von Uroporphyrinogen III **2** aus **1** ist der Befund, daß die berechneten Aktivierungsenergien für die Bildung der Spiroverbindungen **12** und **13** aus **4** bzw. **5** via **10** bzw. **11** erheblich höher sind als die für die Cyclisierung zu **8** und **9** gefundenen Werte (siehe oben) (TS-4b:

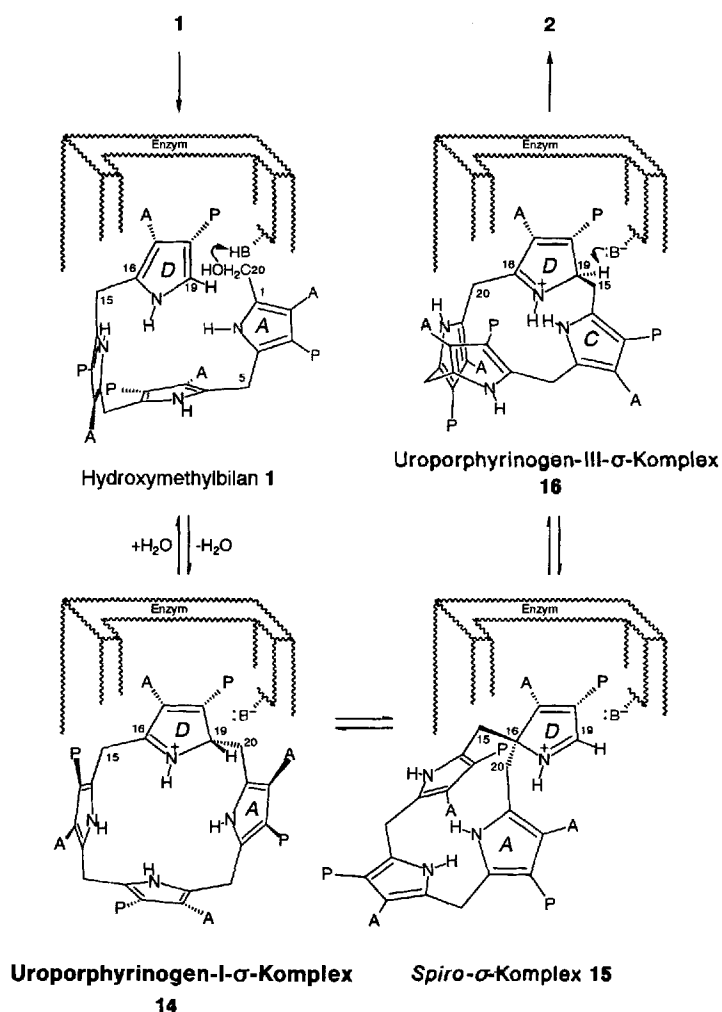
[*] Prof. Dr. L. F. Tietze, Dr. H. Geissler
Institut für Organische Chemie der Universität
Tammannstraße 2, D-37077 Göttingen
Telefax: Int. + 551/39-9476

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie gefördert.

$\Delta H_f^\ddagger = 56.0$, **TS-5b**: $\Delta H_f^\ddagger = 54.0$ kJ mol⁻¹). So beträgt die Energiedifferenz für die Cyclisierung von **4** zu **8** im Vergleich zur Cyclisierung von **4** zur Spiroverbindung **12** 47.6 kJ mol⁻¹.

Aufgrund der Rechenergebnisse können Cyclisierungen aus Konformation **B** heraus vernachlässigt werden, da die Übergangsstrukturen für beide Arten der Cyclisierung (C-19 → C-20 und C-16 → C-20) energiereicher sind (**TS-4c**: $\Delta H_f^\ddagger = 35.7$, **TS-5c**: $\Delta H_f^\ddagger = 29.2$, **TS-4d**: $\Delta H_f^\ddagger = 74.5$, **TS-5d**: $\Delta H_f^\ddagger = 72.1$ kJ mol⁻¹).

Die Rechnungen zeigen, daß die direkte Bildung der Spiroverbindung **12** oder des σ -Komplexes **10** aus **4** energetisch sehr viel ungünstiger ist als die Bildung von **8** bzw. **6** aus **4**. Wir halten daher das postulierte Spirotetrapyrrol-Modell für die Bildung von Uroporphyrinogen III **2** aus Hydroxymethylbilan **1** für wenig wahrscheinlich und schlagen deswegen für die Bildung von **2** aus **1** den in Schema 1 skizzierten Mechanismus vor, der in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Rechnungen und den bisherigen Untersuchungen zur Biosynthese von **2** steht.



Schema 1. Postulierter Biosyntheseweg zu Uroporphyrinogen III **2** aus Hydroxymethylbilan **1** (A: CH₂CO₂H, P: (CH₂)₂CO₂H).

Der Primärschritt ist hierbei die Bildung des Uroporphyrinogen-I- σ -Komplexes **14** über die Protonierung der Hydroxygruppe in **1** durch eine Säuregruppe in einer Tasche des Enzyms Cosynthetase. Der Angriff des Pyrrolringes D auf das zunächst gebildete Oxonium-Ion erfolgt hierbei von oben unter Bildung des Uroporphyrinogen-I- σ -Komplexes **14** mit einem β -ständigen H-Atom an C-19 (oder vice

versa). Es schließen sich mehrere reversible suprafaciale [1,5]-sigmatrope Verschiebungen zum Spiro- σ -Komplex **15** und nachfolgend zum Uroporphyrinogen-III- σ -Komplex **16** an, in dem jetzt das H-Atom an C-19 α -ständig ist (oder vice versa). Durch Abstraktion dieses H-Atoms durch eine geeignet angeordnete Base in der Enzymtasche – vermutlich das Anion der Säure, die im ersten Reaktionsschritt **1** protoniert – wird in einer irreversiblen Reaktion Uroporphyrinogen III **2** gebildet.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Natur einen Weg finden mußte, die unselektive Synthese von Uroporphyrinogen III in der Ursuppe zu optimieren. Dies ist mit der Entwicklung des Enzyms Cosynthetase gelungen, das, wie wir annehmen, die Abspaltung eines Protons aus dem primär gebildeten Uroporphyrinogen-I- σ -Komplexes unter Bildung von Uroporphyrinogen I verhindert, während die Abspaltung eines Protons aus dem im Gleichgewicht vorliegenden Uroporphyrinogen-III- σ -Komplexes unter Bildung von Uroporphyrinogen III beschleunigt wird. Eine Differenzierung zwischen den beiden H-Atomen in den σ -Komplexen durch das Enzym ist möglich, da sie eine entgegengesetzte räumliche Anordnung aufweisen.

Eingegangen am 12. Februar 1993 [Z 5865]

- [1] A. R. Battersby, C. J. R. Fookes, K. E. Gustafson-Potter, E. McDonald, G. W. J. Matcham, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1982**, 2427–2444.
- [2] L. Bogorad, *J. Biol. Chem.* **1958**, 233, 501–509.
- [3] L. Bogorad, *J. Biol. Chem.* **1958**, 233, 510–515.
- [4] a) A. R. Battersby, F. J. Leeper, *Chem. Rev.* **1990**, 90, 1261–1274; b) J. H. Mathewson, A. H. Corwin, *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, 83, 135–137.
- [5] a) A. H. Jackson, W. Lertwanawatana, R. K. Pandey, K. R. N. Rao, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1989**, 374–375; b) A. R. Battersby, M. G. Baker, H. A. Broadbend, C. J. R. Fookes, F. J. Leeper, *ibid.* **1987**, 2027–2028; c) A. R. Battersby, H. A. Broadbend, C. J. R. Fookes, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1983**, 1240–1242.
- [6] a) A. I. Scott, *Tetrahedron* **1992**, 48, 2559–2578; b) A. I. Scott, *Acc. Chem. Res.* **1990**, 23, 308–317.
- [7] L. F. Tietze, H. Geissler, *Angew. Chem.* **1993**, 105, 1087; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, 32, Nr. 7.
- [8] Die Übergangsstrukturen wurden mit der NS01A-Routine (M. J. D. Powell, J. Chandrasekar, P. H. M. Budzelaar, T. Clark) des VAMP-Programmpaketes optimiert und mit FORCE-Rechnungen charakterisiert: J. W. McIver, A. Kormonicki, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 2625–2633.
- [9] M. J. S. Dewar, E. G. Zoebisch, E. F. Healy, J. J. P. Stewart, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 3902–3909.
- [10] D. Mauzerall, *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82, 2601–2605.

Hochenantioselektive Protonierung von Thioesterenolaten

Von Charles Fehr*, Isabelle Stempf und José Galindo

Die enantioselektive Protonierung achiraler Enolate mit Hilfe effizienter und synthetisch nützlicher chiraler Protonenquellen wird seit langem diskutiert und ist von beachtlicher präparativer Bedeutung. Neuere Fortschritte auf diesem Gebiet^[1–3] ermöglichten Enantioselektivitäten bis zu 91 % ee^[2]. Sowohl unter präparativen als auch unter mechanistischen Gesichtspunkten wäre jedoch eine noch stärkere enantiofaciale Differenzierung wünschenswert. Unsere Bemühungen richteten sich auf die Synthese von enantiomerenreiner (*R*)- und (*S*)- α -Cyclogeraniumsäure (*R*)-**1** bzw. (*S*)-**1**^[4], die vielseitige Schlüsselbausteine für die Synthese von Duftstoffen und in der medizinischen Chemie sind^[5].

* Dr. C. Fehr, Dr. I. Stempf^[+], J. Galindo
Firmenich SA, Forschungslaboratorien
Postfach 239, CH-1211 Genf 8 (Schweiz)
Telefax: Int. +22/7803334

[+] Postdoktorandin bei Firmenich (1990–1991)