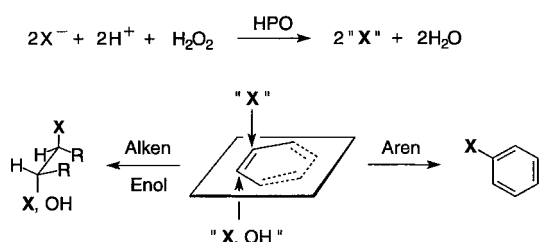


# Die Biosynthese von Barbamid – ein Radikalweg zur „Biohalogenierung“?

Jens Hartung\*

Natürlich vorkommende Organohalogenverbindungen haben sich in den letzten Jahren von Exoten zu einem festen Bestandteil der Naturstoffforschung entwickelt – und das aus gutem Grund! Halogenierte organische Verbindungen sind in der Biosphäre weit verbreitet, strukturell bemerkenswert vielseitig und mengenmäßig in zahlreichen Fällen bedeutsam.<sup>[1]</sup> Mit Fluor, Chlor, Brom und Iod sind alle vier wichtigen Halogene in Naturstoffen vertreten, die beispielsweise als Schilddrüsenhormon, als Repellent oder als Toxine eine Reihe wesentlicher physiologischer Funktionen übernehmen.<sup>[1]</sup> Halogene kommen in der Natur überwiegend ionisch in Mineralen oder im Meer gelöst vor und können in dieser Form von Organismen für Biosynthesen genutzt werden. Ein Großteil der „Biohalogenierungen“ wird durch Haloperoxidasen ermöglicht (Klassifizierungsnummer für Haloperoxidasen: EC 1.11.1.X, Halogenid:Wasserstoffperoxid-Oxidoreduktasen; z. B. Chloridperoxidase: EC 1.11.1.10) – Enzymen, die Wasserstoffperoxid als Elektronenacceptor nutzen und anhand des maximal oxidierbaren Halogenids in Chloridperoxidasen, Bromidperoxidasen und Iodidperoxidasen eingeteilt werden. Einige Haloperoxidasen haben Porphyrineisenkomplexe oder Peptid-gebundenes Vanadat(v) als Cofaktoren, andere kommen ohne Übergangsmetall-Katalyse aus.<sup>[2]</sup> In summa vermögen Haloperoxidasen Halogenid-Ionen mit Hilfe von Wasserstoffperoxid zu aktivieren und vorwiegend in Substrate mit elektronenreichen C-C-Doppelbindungen einzubauen (Schema 1).



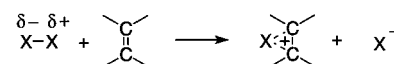
Schema 1. Haloperoxidase-Reaktion: enzymatische Oxidation von Halogeniden durch Wasserstoffperoxid und Einbau der oxidierten Halogenide in Substrate mit elektronenreichen C-C-Doppelbindungen.  $X = Cl, Br, I$ ; HPO = Haloperoxidase; „ $X$ “ =  $\frac{1}{2}X_2$  oder  $X^+$  in HOX.

[\*] Dr. J. Hartung  
Institut für Organische Chemie der Universität  
Am Hubland, D-97074 Würzburg  
Fax: (+49) 931-888-4606  
E-mail: hartung@chemie.uni-wuerzburg.de

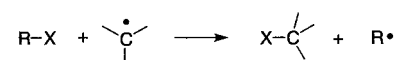
Die Oxidationskraft von Haloperoxidasen wird allein durch das aktive Zentrum bestimmt, so daß Chloridperoxidasen aller drei Typen (Porphyrineisen-haltig, Vanadium-abhängig und Übergangsmetall-frei) bekannt sind.<sup>[1, 2]</sup> Trotz intensiver Forschung ist die Natur der halogenierenden Spezies in Haloperoxidase-Reaktionen noch nicht in allen Einzelheiten geklärt. Experimentellen Befunden zufolge sind entweder elementares Halogen oder Hypohalogenit (z. B. hypobromige oder hypochlorige Säure) in freier oder komplexierter Form an diesen Biohalogenierungen beteiligt.<sup>[1–3]</sup> Einfacher scheint der Sachverhalt bei der Synthese von Monohalogenmethanen aus (*S*)-Adenosylmethionin<sup>[4]</sup> sowie bei NADH-abhängigen Halogenasen<sup>[5]</sup> zu sein, da hier jeweils Halogenide durch nucleophile Substitution in organische Reste eingeführt werden. Es ist anzunehmen, daß letzteres Verfahren in vivo zur Synthese von Fluormetaboliten dient, da Reagentien mit positiviertem Fluor oder elementares Fluor unter physiologischen Bedingungen nicht hergestellt werden können.<sup>[6]</sup>

Bei Laborsynthesen werden drei Halogenierungsmechanismen genutzt: elektrophile, radikalische und nucleophile (Schema 2). Elektrophile Halogenierungen entsprechen

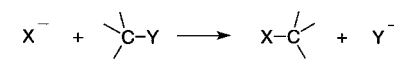
## • elektrophile Halogenierung



## • radikalische Halogenierung



## • nucleophile Halogenierung



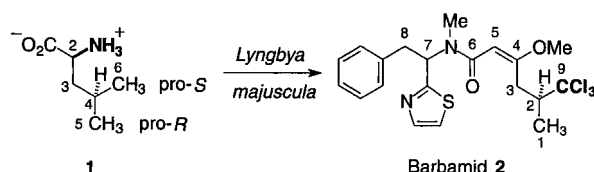
Schema 2. Mechanismen, nach denen Organohalogenverbindungen gebildet werden können.

mechanistisch gesehen den Haloperoxidase-Reaktionen. Gut ausgearbeitete Methoden zur radikalischen Halogenierung stehen seit einigen Jahren zur Verfügung.<sup>[7]</sup> Der nucleophile Einbau von Halogenen in Zielverbindungen gelingt durch Substitutionsreaktionen mit Halogeniden als Nucleophilen.

Eine neue Arbeit von Gerwick und Mitarbeitern verdeutlicht nun, daß das Bild, das von der Biohalogenierung gezeichnet wurde, möglicherweise noch nicht vollständig

ist.<sup>[8]</sup> Die Autoren untersuchten Inhaltsstoffe einer Cyanobakterien-Spezies – Cyanobakterien sind photosynthetisch aktive prokaryontische Blaugrünalgen ohne zelluläre Organellen. Bisher fielen bei der Untersuchung cyanobakterieller Metabolite im wesentlichen tricyclische Guanidine, cyclische Peptide und eine Vielzahl strukturell verschiedener Isocyanide auf.<sup>[9]</sup> Aus einem lipophilen Extrakt des Cyanobakteriums *Lyngbya majuscula* isolierten Gerwick und Mitarbeiter den Trichlormethyl-substituierten Metaboliten Barbamid **2**, der wichtige Aufschlüsse über die Lebensgemeinschaft von Schwämmen und Cyanobakterien lieferte.

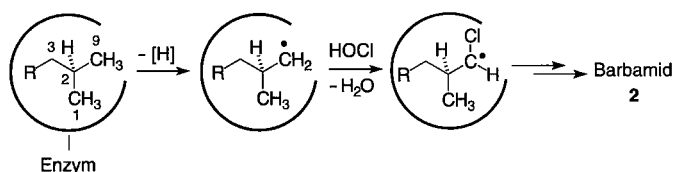
Durch Verfütterungsexperimente mit isotope markierten Synthesestufen konnten die Autoren zeigen, daß die Kohlenstoffatome 1–4 und 9 des lipophilen Teils von **2** aus der Aminosäure L-Leucin **1** stammen und dort den Atomen 2–6 entsprechen (Schema 3). Das Carboxykohlenstoffatom



Schema 3. Biosynthese von Barbamid **2** aus L-Leucin **1**.

von **1** wird nicht in **2** eingebaut. C5 und C6 von **2** stammen aus einem Molekül Acetat.<sup>[10]</sup> Während an der Aufklärung der absoluten Konfiguration von C7 noch gearbeitet wird,<sup>[10]</sup> konnte die (S)-Konfiguration von C2 eindeutig bestimmt werden. Um zu ermitteln, welche der beiden Methylgruppen von **1** in die Trichlormethylgruppe von **2** übergeführt wird, synthetisierten Gerwick und Mitarbeiter zwei stereoselektiv markierte Aminosäuren **1**; einmal war die pro-R- und einmal die pro-S-Methylgruppe <sup>13</sup>C-markiert. Diese Vorstufen wurden in zwei parallelen Versuchsreihen Kulturmedien von *L. majuscula* zugesetzt. Nach zehn Tagen wurden die Organismen geerntet, der Metabolit **2** aus beiden Chargen isoliert und jeweils per <sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie analysiert. Es ergab sich, daß nur die pro-S-Methylgruppe von **1** bei der Barbamid-Synthese chloriert wird! Welchem Mechanismus aber folgt diese Chlorierung? Verfütterung von perdeutertem **1** lieferte deuteriertes **2**, in dem laut <sup>2</sup>H-NMR-Spektrum das Verhältnis von Deuterium in den Positionen 3 und 2 zusammen und in der nicht chlorierten Perdeuteromethylgruppe C1 2.77:3.00 betrug. Diese Versuche schlossen eine Oxidation von **1** oder einem Derivat im Zuge seines Katabolismus weitgehend aus. Mit anderen Worten: Während der Barbamid-Synthese sollte zwischen C2 und C3 keine Doppelbindung auftreten. Diese Befunde warfen neue Fragen auf: Welche Enzyme in *L. majuscula* ermöglichen die stereoselektive Chlorierung einer nichtaktivierten Methylgruppe? Scheidet eine „normale“ elektrophile Chlorierung mittels einer Chloridperoxidase von vornherein aus? Gerwick und Mitarbeiter schlugen eine radikalische Chlorierung vor, ohne weiter auf die Details dieser Reaktion einzugehen. Bei genauerem Betrachten wird deutlich, daß eine radikalische Chlorierung zwei Besonderheiten aufweisen würde: die Stereoselektivität der Wasserstoffabstraktion aus **1** oder

einem entsprechenden Derivat und die Energiebilanz des Prozesses. Schließlich werden bei dieser Chlorierung statt einer schwächeren tertiären C-H-Bindung ( $BDE_{C-H_{tert}} = (404 \pm 2) \text{ kJ mol}^{-1}$ ) stärkere primäre C-H-Bindungen ( $BDE_{C-H_{prim}} = (423 \pm 2) \text{ kJ mol}^{-1}$ ) homolytisch gespalten. In 2-Methylbutan, das ein ähnliches Strukturelement wie **1** aufweist, wird bei der radikalischen Gasphasenchlorierung mit elementarem Chlor ( $T = 300^\circ\text{C}$ ) die tertiäre C-H-Bindung 4.4mal schneller gespalten als die primären C-H-Bindungen der Methylgruppen. Unter physiologischen Bedingungen sollte die Selektivität bezüglich des tertiären H-Atoms in 2-Methylbutan, das 4-H in **1** entspricht, noch zunehmen. Da radikalische 1,2-Verschiebungen einzelner Atome als Drei-Elektronen-drei-Zentren-Prozesse verboten sind, sollte die pro-S-Methylgruppe auch der Ort der primären Wasserstoffabstraktion durch ein Enzym sein. Die Antwort auf die Frage, welcher Chlorierungsmechanismus tatsächlich bei der Biosynthese von Barbamid **2** zum Tragen kommt, können erst weitere Experimente geben. Die Beobachtung erinnert allerdings an das Prinzip der negativen Katalyse durch Enzyme.<sup>[11]</sup> Dieses Prinzip besagt, daß Reaktionen zwischen organischen Substraten und reaktiven Zwischenstufen in Lösung durch Enzymbindung vollständig verändert werden können. Wendet man dieses Prinzip auf die Biosynthese von **2** an, sollte der erste Schritt der Chlorierung die Bindung einer Biosynthesestufe von **2** an ein Enzym sein, durch die die pro-R-Methylgruppe und das tertiäre Wasserstoffatom sterisch abgeschirmt werden. Nur die pro-S-Methylgruppe sollte angreifenden Reagentien ausgesetzt sein (Schema 4). Hypochlorige Säure (Chloridperoxida-



Schema 4. Vorgeschlagener Reaktionspfad zur stereoselektiven radikalischen Chlorierung einer Barbamid-Vorstufe.

se?), die in Nachbarschaft zum koordinierten Substrat erzeugt würde, würde durch spontane oder induzierte Homolyse der schwachen Chlor-Sauerstoff-Bindung ( $BDE_{O-Cl} = (251 \pm 13) \text{ kJ mol}^{-1}$ )<sup>[6]</sup> Chloratome und OH-Radikale liefern, denen nur die C-H-Bindungen der nicht abgeschirmten  $\text{CH}_3$ -Gruppe für eine Wasserstoffabstraktion zugänglich wären. Das dabei entstehende C-Radikal sollte mit weiterem HOCl unter Knüpfen einer Chlor-Kohlenstoff-Bindung und Freisetzen eines reaktiven OH-Radikals reagieren. Letzteres müßte nun entweder entgiftet werden oder könnte dank seiner räumlichen Position zur weiteren gezielten Wasserstoffabstraktion aus der  $\text{CH}_2\text{Cl}$ -Gruppe dienen.

Die Herausforderung für künftige Arbeiten auf diesem Gebiet wird sein, den radikalischen Mechanismus der Chlorierung bei der Biosynthese von Barbamid **2** durch Einsatz geeigneter mechanistischer Sonden zu bestätigen. Welches chlorierende Enzym ist in *L. majuscula* vorhanden, und welcher Cofaktor wird benötigt? Dienen neben L-Leucin **1**

weitere Aminosäuren als Substrate für eine radikalische stereoselektive Biohalogenierung? Sollte sich die Annahme einer radikalischen Chlorierung bestätigen, wäre neben den Reaktionen von Coenzym B<sub>12</sub> ein weiterer Enzym-induzierter Radikalprozeß entdeckt worden. Ähnlich den Reaktionen der Alkylcobalamine<sup>[11]</sup> könnte die beschriebene Halogenierung einen signifikanten Einfluß auf die Entwicklung der modernen Radikalchemie haben und wichtige Impulse für stereo- und regioselektive Radikalreaktionen liefern.

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 1209–1211

**Stichwörter:** Biosynthese • Chloridperoxidase • Chlor • Cyanobakterien • Radikale

- [1] a) S. L. Neidleman, J. Geigert, *Biohalogenation: Principles, Basic Roles and Application*, Halsted, New York, **1986**; b) G. W. Gribble, *J. Chem. Educ.* **1994**, 71, 907–911.
- [2] M. Picard, J. Gross, E. Lübbert, S. Tölzer, S. Krauss, K.-H. van Pée, A. Berkessel, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 1245–1247; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 1196–1199.
- [3] H.-A. Wagenknecht, W.-D. Woggon, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 404–407; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 390–392.
- [4] N. Itoh, M. Tsujita, T. Ando, G. Hisatomi, T. Higashi, *Phytochemistry* **1997**, 45, 67–73.
- [5] J. Dolfing, *FEMS Microbiol. Lett.* **1998**, 167, 271–274.
- [6] J. A. Kerr in *Handbook of Chemistry and Physics* (Hrsg.: D. R. Lide), 78. Aufl., CRC Press, **1997–1998**, S. 9-64–9-69.
- [7] D. H. R. Barton, D. Crich, W. B. Motherwell, *Tetrahedron* **1985**, 41, 3901–3924.
- [8] N. Sitachitta, J. Rossi, M. A. Roberts, W. H. Gerwick, M. D. Fletcher, C. L. Willis, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 7131–7132.
- [9] M. J. Garson, *Chem. Rev.* **1993**, 93, 1699–1733.
- [10] W. H. Gerwick, persönliche Mitteilung.
- [11] J. Rétey, *Angew. Chem.* **1990**, 102, 373–379; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, 29, 355–362.

## Metallorganische Verbindungen von einwertigen Elementen der 13. Gruppe: schwache Assoziation an monomere, vielseitige Zweielektronen-Donoren\*\*

Ramaswamy Murugavel\* und Vadapalli Chandrasekhar\*

Professor S. S. Krishnamurthy zum 60. Geburtstag gewidmet

Gegenwärtig arbeiten Chemiker mit großem Interesse an der Herstellung von Verbindungen der Elemente der 13., 14. und 15. Gruppe, die niedervalent sind und ein niedrig koordiniertes Zentralatom sowie Mehrfachbindungen aufweisen. Die letzten Jahre waren diesbezüglich sehr interessant, da einige ungewöhnliche Verbindungen hergestellt wurden. So gelang es unter anderem, a) ein Tetrasila-1,3-butadien,<sup>[1a]</sup> b) das erste Silaaren,<sup>[1b]</sup> c) Verbindungen mit nicht abgeschirmten Bi=Bi-<sup>[2a]</sup> und Sb=Sb-Doppelbindungen,<sup>[2b]</sup> d) Silyliumionen,<sup>[3a]</sup> e) ein Cyclotrigermenium-Kation mit einem 2 $\pi$ -Elektronensystem,<sup>[3b]</sup> f) ein Al<sub>77</sub>-Cluster-Ion mit

konzentrischen Kugelschalen von Al-Atomen,<sup>[4]</sup> g) Verbindungen mit diskreten Metall-Chalkogen-Doppelbindungen wie Sn=Se<sup>[5]</sup> und h) mit mehrfach gebundenen Galliumatomen<sup>[6]</sup> herzustellen.

Auch bei der Stabilisierung einwertiger metallorganischer Verbindungen der 13. Gruppe wurden bedeutende Fortschritte gemacht. Es wurden Verbindungen des Typs M<sup>I</sup>R (M = Metallzentrum der 13. Gruppe) isoliert, die im Feststoff auf interessante Art aggregiert, in der Gasphase und in Lösung hingegen monomer vorliegen. Bahnbrechend sind Untersuchungen von Schnöckel und Mitarbeitern, denen zufolge in festem [GaCp\*] die Ga...Ga-Bindungen sehr lang sind und die Aggregation nur schwach beeinflussen,<sup>[7]</sup> obwohl [GaCp\*] hexamer vorliegt. Man nimmt statt dessen an, daß sich diese Cluster infolge von van-der-Waals-Wechselwirkungen der organischen Hülle um das Metallzentrum bilden. Power, Niemeyer und Haubrich gelang es, nichtassoziierte Monoalkylverbindungen der 13. Gruppe herzustellen, die im festen Zustand als Monomere vorliegen.<sup>[8]</sup> Ähnliches berichteten Uhl et al., die In<sup>I</sup>-Verbindungen auf ihre Verwendbarkeit als Liganden untersuchten, über einen ungewöhnlichen Ni<sup>0</sup>-Komplex mit ausschließlich monomeren In-Baueinheiten als Liganden.<sup>[9]</sup> Auch Jutzi und Mitarbeiter stellten viele verschiedene Metallocarbonylcluster her, die monomere [GaCp\*]-Gruppen als endständige und als verbrückende

[\*] Dr. R. Murugavel  
Department of Chemistry  
Indian Institute of Technology  
Powai, Bombay-400076 (Indien)  
Fax: (+91)22-578-3480  
E-mail: rmv@chem.iitb.ernet.in  
Prof. Dr. V. Chandrasekhar  
Department of Chemistry  
Indian Institute of Technology  
Kanpur-208016 (Indien)  
Fax: (+91)512-597436  
E-mail: vc@iitk.ac.in

[\*\*] Diese Arbeit wurde vom CSIR, New Delhi (R.M.), und von DST, New Delhi (V.C.), gefördert. Die Autoren danken Dr. M. G. Walawalkar und einem Gutachter für deren Kommentare und Vorschläge beim Durchsehen des Manuskripts.