

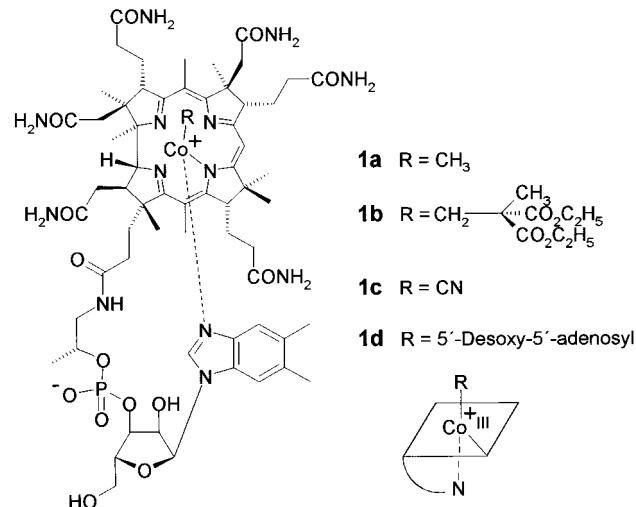
- [12] R. S. Feller, C. Leforestier, L. B. Braly, M. G. Brown, R. J. Saykally, *Science* **1999**, *284*, 945–948.
- [13] T. L. Hill, *An Introduction to Statistical Thermodynamics*, Dover, New York, **1986**, S. 118.
- [14] F. Weinhold, *J. Chem. Phys.* **1998**, *109*, 367–372.
- [15] F. Weinhold, *J. Chem. Phys.* **1998**, *109*, 373–384.
- [16] R. Ludwig, F. Weinhold, *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 508–515.
- [17] J. Rodríguez, D. Laria, E. J. Marceca, D. E. Estrín, *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 9039–9047.
- [18] J. K. Gregory, D. C. Clary, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 18014–18022.
- [19] D. J. Wales, M. P. Hodges, *Chem. Phys. Lett.* **1998**, *286*, 65–72.
- [20] T. D. Dyke, K. M. Mack, J. S. Muenter, *J. Chem. Phys.* **1977**, *66*, 498–510.
- [21] S. X. Xantheas, T. H. Dunning, Jr., *J. Chem. Phys.* **1993**, *99*, 8774–8792.
- [22] I. M. B. Nielsen, E. T. Seidl, C. L. Janssen, *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 9435–9442.
- [23] J. E. Fowler, H. F. Schaefer III, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 446–452.
- [24] M. F. Vernon, D. J. Krajnovich, H. S. Kwok, J. M. Lisy, Y. R. Shen, Y. T. Lee, *J. Chem. Phys.* **1982**, *77*, 47–57.
- [25] K. Kim, K. D. Jordan, T. S. Zwier, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11568–11569.
- [26] K. Liu, M. G. Brown, C. Carter, R. J. Saykally, J. K. Gregory, D. C. Clary, *Nature* **1996**, *381*, 501–503.
- [27] K. Liu, M. G. Brown, R. J. Saykally, *J. Phys. Chem. A* **1997**, *101*, 8995–9010.
- [28] R. N. Pribble, T. S. Zwier, *Science* **1994**, *265*, 75–79.
- [29] C. Foces-Foces, F. H. Cano, M. Martínez-Ripoll, R. Faure, C. Roussel, R. M. Claramunt, C. López, D. Sanz, J. Elguero, *Tetrahedron: Asymmetry* **1990**, *1*, 65–86.
- [30] C. J. Gruenloh, J. R. Carney, C. A. Arrington, T. S. Zwier, S. Y. Fredericks, K. D. Jordan, *Science* **1997**, *276*, 1678–1681.
- [31] W. B. Blanton, S. W. Gordon-Wylie, G. R. Clark, K. D. Jordan, J. T. Wood, U. Geiser, T. J. Collins, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 3551–3552.
- [32] U. Buck, I. Ettischer, M. Melzer, V. Buch, J. Sadlej, *Phys. Rev. Lett.* **1998**, *80*, 2578–2581.
- [33] L. J. Barbor, G. W. Orr, J. L. Atwood, *Nature* **1998**, *393*, 671–673.
- [34] D. Eisenberg, W. Kauzmann, *The Structure and Properties of Water*, Oxford University Press, Oxford, **1969**.
- [35] N. H. Fletcher, *The Chemical Physics of Ice*, Cambridge University Press, Cambridge, **1970**.
- [36] C. Loban, J. J. Finney, W. F. Kuhs, *Nature* **1998**, *391*, 268–270.
- [37] M. Koza, H. Shobert, A. Tölle, F. Fujara, T. Hansen, *Nature* **1999**, *397*, 660–661.
- [38] O. Mishima, H. E. Stanley, *Nature* **1998**, *396*, 329–335.
- [39] P. Loubeire, R. LeToullec, E. Wolanin, M. Hanfland, D. Hausermann, *Nature* **1999**, *397*, 503–506.
- [40] J. K. Gregory, D. C. Clary, K. Liu, M. G. Brown, R. J. Saykally, *Science* **1997**, *275*, 814–817.
- [41] M. Alcamí, O. Mó, M. Yáñez, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 11074–11083.
- [42] I. Alkorta, J. Elguero, M. Alcamí, O. Mó, M. Yáñez, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [43] D. J. Wales, *Science* **1996**, *271*, 925–929.
- [44] D. J. Wales, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 11180–11190.
- [45] N. Pugliano, R. J. Saykally, *Science* **1992**, *257*, 1937–1940.

Ungewöhnliche Alkylierungsreaktionen in der Natur und die Aufklärung ihrer Mechanismen

Martina Glasenapp-Breiling und Franz-Peter Montforts*

Eine Vielzahl enzymatischer Methylierungen in der Biosynthese unterschiedlicher Naturstoffklassen erfolgt mit dem Vitamin-B₁₂-Derivat Methylcobalamin **1a** unter Inversion der Konfiguration der übertragenen Methylgruppen.^[1] Der stereochemische Ablauf, nachweisbar durch den Einsatz chiraler Methylgruppen (CHDT), beweist den Mechanismus einer S_N2-Reaktion, wobei die Methylgruppen durchweg auf reaktive nucleophile Zentren übertragen werden.

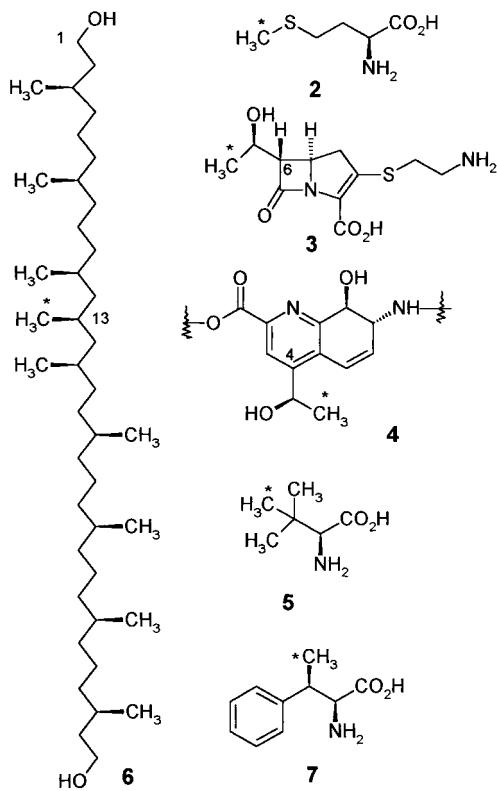
In jüngster Zeit mehren sich Beispiele für ungewöhnliche Methylierungen, bei denen die aus Methionin **2** stammenden Methylgruppen intakt und unter Nettoretention mit gesättigten, nicht aktivierte Kohlenstoffatomen verknüpft werden. Die ersten Beobachtungen dieser Art machten Floss et al. bei



Biosynthesestudien an Thienamycin **3** und Thiomstrepton. Die 6''-Methylgruppe von **3** sowie die 4''-Methylgruppe der Chinaldinuntereinheit **4** von Thiomstrepton werden aus Me-

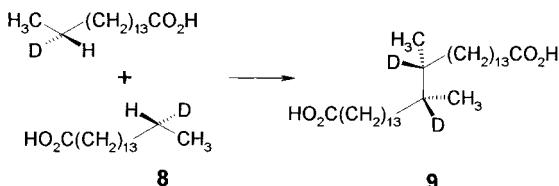
[*] Prof. Dr. F.-P. Montforts, Dr. M. Glasenapp-Breiling
 Institut für Organische Chemie
 FB 2 (Biologie/Chemie) der Universität
 Postfach 33 04 40, 28334 Bremen (Deutschland)
 Fax: (+49) 421-218-3720
 E-mail: mont@chemie.uni-bremen.de

thionin unter Retention übertragen.^[2] Auch die Methylgruppen der ungewöhnlichen Aminosäureuntereinheiten *tert*-Butylglycin **5** und β -Methylphenylalanin **7** des peptidischen Antibiotikums Bottromycin aus *Streptomyces bottropensis* stammen aus Methionin **2**.^[3]



Die stereochemische Analyse ergab, dass die Methylgruppen selbst unter Erhaltung der Konfiguration auf Valin bzw. Phenylalanin übertragen werden und an den methylierten Kohlenstoffatomen Inversion erfolgt. Eine ähnliche Methylierung, die unter Retention bezüglich der eingeführten Methylgruppe und unter Inversion am methylierten Zentrum abläuft, wurde in Untersuchungen zur Biosynthese der Lipidether Caldarcheol und Isocaldarcheol aus Archaeabakterien beobachtet.^[4] Die „normalen“ Lipidether werden dann, wenn die Mikroorganismen unter Stressbedingungen kultiviert werden, zu Homocaldarcheol und Homoisocaldarcheol methyliert, in denen sich die zusätzlichen Methylgruppen in der 13-Position des Bisphytanols **6** als nicht glyceridischer Alkoholkomponente der Lipide wiederfinden.

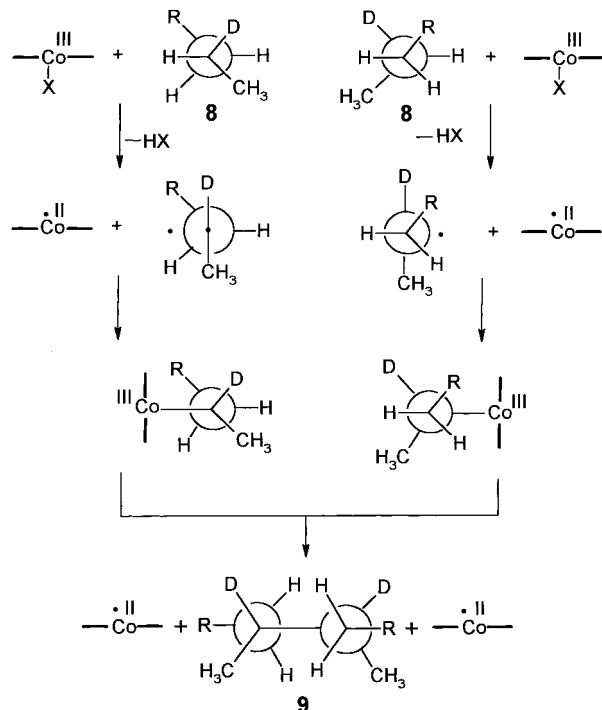
Verwandt mit diesen Methylierungen ist die Dimerisierung von Palmitinsäure **8** zu Diabolinsäure **9** im Eubakterium *Butyrivibrio fibrisolvens* (Schema 1).^[4] Diabolinsäure **9**, die



Schema 1. Dimerisierung von Palmitinsäure **8** zu Diabolinsäure **9**.

zentrale Komponente der komplexen bakteriellen Lipide, wird unter Inversion an beiden nicht aktivierten, miteinander reagierenden Zentren der Palmitinsäuremoleküle gebildet, wobei Studien mit isotopenmarkierten Verbindungen ergeben, dass keine der benachbarten Methyl- oder Methylengruppen in irgendeiner Weise an der Bildung der zentralen C-C-Bindung beteiligt ist. Den von Arigoni et al. beobachteten Bindungsknüpfungen ist gemein, dass sie unter strikt anaeroben Bedingungen erfolgen, wodurch die Beteiligung von sauerstoffabhängigen, dem Cytochrom-P₄₅₀ verwandten Cofaktoren ausgeschlossen werden kann.

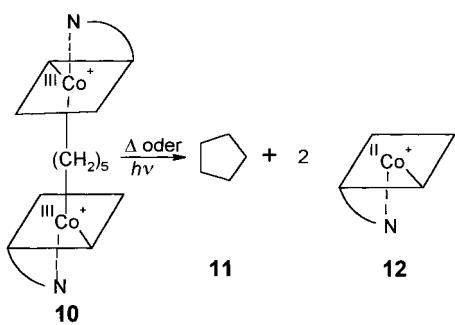
Für die Bildung von Diabolinsäure **9** schlugen Arigoni et al. einen radikalischen Mechanismus vor – z. B. unter Beteiligung von Coenzym B₁₂ **1d** –, der im Hinblick auf das Vorkommen von Corrinoiden in entsprechenden Mikroorganismen plausibel ist (Schema 2).^[4] Danach wird durch Homolyse einer



Schema 2. Vorschlag für den Mechanismus der Bildung von **9**.

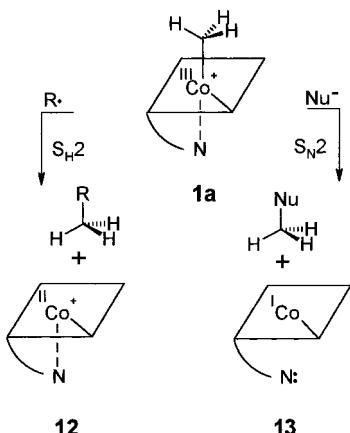
Co-X-Bindung in einem alkylierten Cobalamin und nachfolgende H-Abstraktion aus dem Substrat **8** eine radikalische Zwischenverbindung erzeugt, die unter Retention mit dem Cobalt(II)-Komplex zum entsprechenden Alkylcobalamin reagiert. Zwei der Palmitoylcobalamine könnten dann in einer enzymatisch kontrollierten stereoselektiven Reaktion zu Diabolinsäure **9** dimerisieren. Dieser Reaktionsablauf wird durch eine Modellreaktion gestützt, in der ein über eine Kette von 5 CH₂-Einheiten an den Metallatomen verbrücktes Biscobalamin (**10**) beim Erhitzen oder durch Bestrahlung Cyclopentan (**11**) bildet (Schema 3).^[5]

Normalerweise methyliert Methylcobalamin **1a** Nucleophile nach einem S_N2-Mechanismus, wobei das Bindungselektronenpaar der Kohlenstoff-Cobalt-Bindung von **1a** im Substitutionsschritt unter Bildung des Cobalt(I)-Komplexes **13**



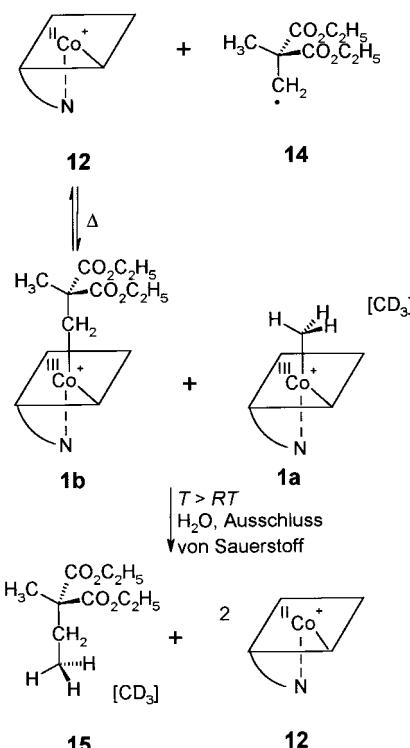
Schema 3. Modellreaktion für den in Schema 2 gezeigten Reaktionsablauf.

auf das Metallzentralatom übertragen wird (Schema 4).^[1, 6] Kräutler et al. wiesen kürzlich erstmals in einer bisher präzedenzlosen Modellreaktion nach, dass auch Alkylradikale in einer S_{H2}-Reaktion von Methylcobalamin (**1a**) methyliert werden, wobei das Metallzentralatom unter Bindungsspaltung zum Co^{II}-Komplex **12** reduziert wird.^[7]



Schema 4. Reaktion von Methylcobalamin **1a** mit Radikalen und Nucleophilen.

Zum experimentellen Nachweis der Methylierung eines Kohlenstoffradikals wurde ein Gemisch von Methylcobalamin (**1a**) oder seines Tris(deuteriomethyl)-Derivats mit 2',2'-Bis(ethoxycarbonyl)propylcobalamin **1b** unter Sauerstoff- und Lichtausschluss ca. 5 h auf 70 °C erhitzt. Als Reaktionsprodukte wurden Ethyl-2-malonsäurediethylester **15** bzw. sein entsprechend deuteriertes Derivat und 2,2-Dimethylmalonsäurediethylester im Verhältnis 4.7:1 in 70 % Gesamtausbeute erhalten (Schema 5). Das thermolabile Cobalamin **1b** zerfällt bereits bei Raumtemperatur unter Homolyse zu Cob(ii)-alamin **12** und zum Bis(ethoxycarbonyl)propyl-Radikal **14** mit einer Halbwertszeit von ca. 50 min, während sich Methylcobalamin **1a** selbst bei 130 °C nur mit einer Halbwertszeit von ca. 4 h zersetzt. Die Bildung von **15** aus **1a** und **1b** kann danach auf eine Substitution des Cobalcorrin-Teils von **1a** durch das aus **1b** erzeugte Alkylradikal **14** zurückgeführt werden. Die Abstraktion der Cobalt-gebundenen Methylgruppe von **1a** durch das primäre Alkylradikal **14** lässt sich aufgrund von Abschätzungen der homolytischen Bindungs-



Schema 5. Experimenteller Nachweis der Methylierung von Kohlenstoffradikalen.

dissoziationsenergien als sehr exothermer Reaktionsschritt ($\Delta H^\circ \approx -48 \text{ kcal mol}^{-1}$)^[8] charakterisieren, der erfolgreich mit der Rekombination des Radikals **14** mit dem Co^{II}-Corrin **12** zu **1b** konkurriert kann. Die enzymatische Methylübertragung von **1a** auf ein Kohlenstoffradikal sollte mit entsprechend isotopensubstituierten Methylgruppen unter Inversion bezüglich der Methylgruppen-Konfiguration ablaufen, also mit Nettoretention bezüglich Methionin, da dieses zuvor seine Methylgruppe unter Inversion auf das Metallzentralatom überträgt.

- [1] a) J. M. Wood in *B₁₂, Vol. 2* (Hrsg.: D. Dolphin), Wiley, New York, 1982, S. 151–164; b) R. T. Taylor in *B₁₂, Vol. 2* (Hrsg.: D. Dolphin), Wiley, New York, 1982, S. 307–355; c) B. Kräutler in *Vitamin B₁₂ and B₁₂ Proteins* (Hrsg.: B. Kräutler, D. Arigoni, B. T. Golding), Wiley-VCH, Weinheim, 1998, S. 3–43; d) R. G. Matthews, R. V. Banerjee, S. W. Ragsdale, *BioFactors* 1990, 2, 147–152; e) H. G. Floss, M. Tsai, *Adv. Enzymol.* 1979, 50, 243; f) D. Arigoni, E. L. Eliel, *Topics in Stereochemistry*, Vol. 4, Wiley, New York, 1969; g) H. G. Floss, R. G. Matthews, S. J. Benkovic, *J. Am. Chem. Soc.* 1986, 108, 3152–3153.
- [2] a) D. R. Houck, K. Kobayashi, J. M. Williamson, H. G. Floss, *J. Am. Chem. Soc.* 1986, 108, 5365–5366; b) P. Zhou, D. O'Hagan, U. Mocek, Z. Zeng, L.-D. Yuen, T. Frenzel, C. J. Unkefer, J. M. Beale, H. G. Floss, *J. Am. Chem. Soc.* 1989, 111, 7274–7276.
- [3] L. Kellenberg, D. Holmes, B. Martinoni, D. Arigoni, *Chimia* 1996, 50, 344.
- [4] P. Galliker, O. Gräther, M. Rümmler, W. Fitz, D. Arigoni in *Vitamin B₁₂ and B₁₂ Proteins* (Hrsg.: B. Kräutler, D. Arigoni, B. T. Golding), Wiley-VCH, Weinheim, 1998, S. 447–458.
- [5] B. Kräutler, T. Dérrer, P. Liu, W. Mühlacker, M. Puchberger, K. Gruber, C. Kratky, *Angew. Chem.* 1995, 107, 66–69; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1995, 34, 84–89.
- [6] a) B. Kräutler, *Helv. Chim. Acta* 1987, 70, 1268–1278; b) C. L. Drennan, M. M. Dixon, D. M. Hoover, J. T. Jarrett, C. W. Goulding, R. G. Matthews, M. L. Ludwig in *Vitamin B₁₂ and B₁₂ Proteins* (Hrsg.:

HIGHLIGHTS

B. Kräutler, D. Arigoni, B. T. Golding), Wiley-VCH, Weinheim, **1998**, S. 133–155; c) E. Stupperich, R. Konnte, M. Lehle in *Vitamin B₁₂ and B₁₂ Proteins* (Hrsg.: B. Kräutler, D. Arigoni, B. T. Golding), Wiley-VCH, Weinheim, **1998**, S. 179–197; d) B. T. Golding, R. J. Anderson, S. Ashwell, C. H. Edwards, I. Garnett, F. Kroll, W. Buckel in *Vitamin B₁₂ and B₁₂ Proteins* (Hrsg.: B. Kräutler, D. Arigoni, B. T. Golding), Wiley-VCH, Weinheim, **1998**, S. 201–216.

- [7] H. Mosimann, B. Kräutler, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 417–419; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 393–395.
[8] a) B. D. Martin, R. G. Finke, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 585–592;
b) A. J. Gordon, R. A. Ford in *The Chemist's Companion*, Wiley, New York, **1972**.

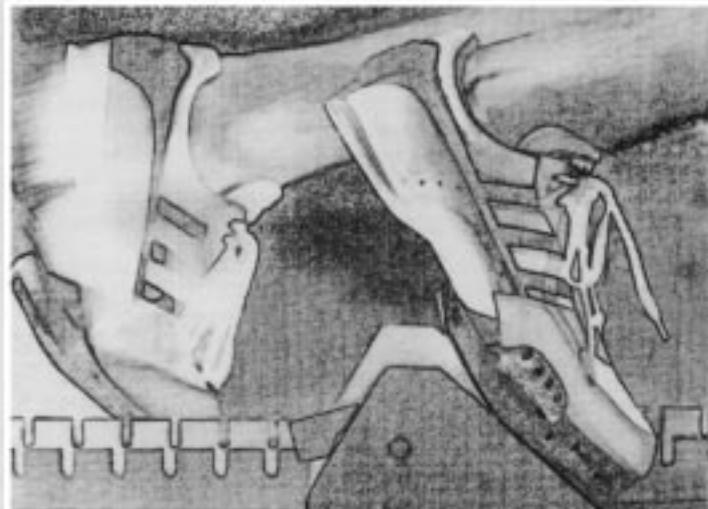
JETZT DURCHSTARTEN!

ANGEWANDTE CHEMIE

zum Studentenpreis*

- * € 108,00 / DM 211,23 für studentische GDCh-Mitglieder. Bitte fordern Sie weitere Informationen zur GDCh an.
- * € 128,00 / DM 250,35 für alle anderen Studenten. Bescheinigung erforderlich.

Weitere Infos und Bestellung unter:
Tel. (0 62 01) 606-147 · Fax (0 62 01) 606-117
WILEY-VCH-Leserservice
Postfach 10 11 61 · 69451 Weinheim



 **WILEY-VCH**