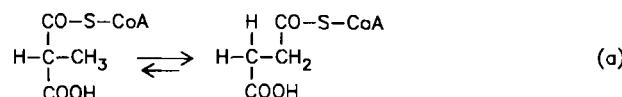


- ANS: $2 \times 10^{-6} \text{ M}$; die Konzentration von **2a** und **3a** wurde von 0 bis 10^{-3} M variiert.
- [7] Vgl. F. Diederich, K. Dick, *J. Am. Chem. Soc.* **106** (1984) 8024.
- [8] K. H. Grosse-Brinkhaus, E. Steckhan, W. Schmidt, *Acta Chem. Scand.* **B37** (1983) 499; M. Platen, E. Steckhan, *Chem. Ber.* **117** (1984) 1679, zit. Lit.
- [9] W. Schmidt, E. Steckhan, *Chem. Ber.* **113** (1980) 577.
- [10] Obwohl die freien Amine **2a**, **3a**, **6a** sich elektroanalytisch untersuchen lassen, wie wir am Beispiel von **2a** zeigen konnten, wurden wegen ihrer höheren chemischen Stabilität die Tosyl-Derivate **2b**, **3b**, **6b** ausgewählt. Die sterischen Einflüsse auf die Potentiale sollten für beide Verbindungstypen ähnlich sein.
- [11] Potentiostat-Wenkinger-Potentiostat POS 73 (Bank Elektronik), kombiniert mit einem Hewlett-Packard-xy-Schreiber Modell 7045A. Als Elektrolyse-Gefäß diente die Zelle EA-876-5 der Fa. Metrohm, ausgerüstet mit Platin-Arbeits- (0.18 cm^2) und -Gegenelektroden sowie einer Ag/AgNO₃-Referenzelektrode.
- [12] Ein Schritt in diese Richtung ist auch die Substitution von β -Cyclodextrin in 6-Position durch eine redoxkatalytisch wirksame Gruppe: C. Z. Smith, J. H. P. Utley, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1981**, 792. Beispiele zu redoxkatalytisch wirksamen Makromonocyclen allgemein: A. G. Tamma, P. Jouin, J. G. De Vries, C. B. Troostwijk, G. H. Werumeus Buning, J. K. Waninge, J. Vischer, R. M. Kellogg, *J. Am. Chem. Soc.* **107** (1985) 3981; W. Geuder, S. Hüning, A. Suchy, *Angew. Chem.* **95** (1983) 501; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **22** (1983) 489.

Methylmalonyl-carba(dethia)-Coenzym-A als Substrat der Coenzym-B₁₂-abhängigen Methylmalonyl-CoA-Mutase: Enzymatische Umlagerung einer β - zu einer γ -Ketosäure**

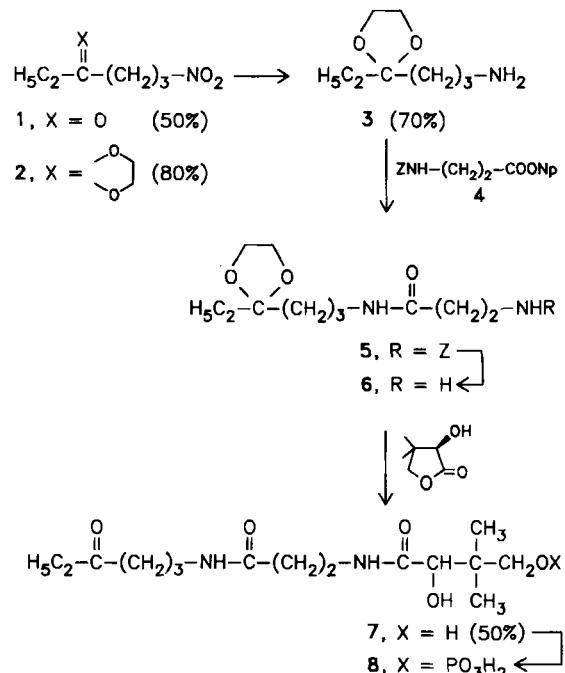
Von Martina Michenfelder und János Rétey*
Professor Hans Musso zum 60. Geburtstag gewidmet

Das einzige wohlcharakterisierte Coenzym-B₁₂(AdoCbl)-abhängige Enzym, das auch in tierischen und menschlichen Geweben vorkommt, ist Methylmalonyl-CoA-Mutase^[1]. Sie katalysiert die reversible Umlagerung von Methylmalonyl-CoA zu Succinyl-CoA [Gl. (a)], einen wichtigen Schritt im Propionsäuremetabolismus. Trotz der Aufdeckung interessanter Details^[1] ist der Mechanismus dieser



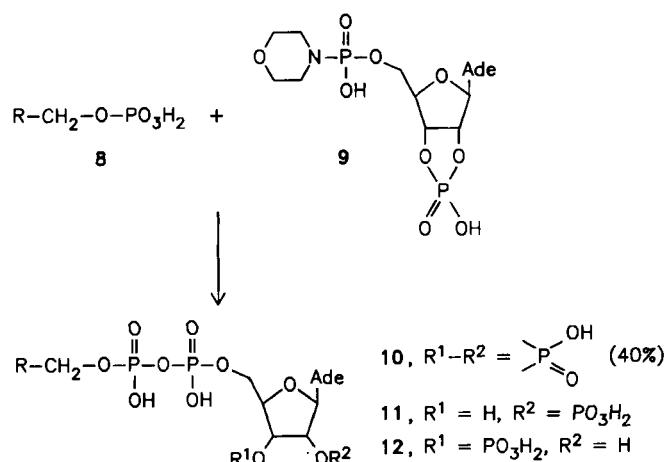
ungewöhnlichen Enzymreaktion noch ungeklärt. Einen Beitrag zum Verständnis der Wirkungsweise von Enzymen kann oft deren Verhalten gegenüber Substratanaloga leisten. Durch Kombination von chemischen und enzymatischen Methoden synthetisierten wir deshalb Methylmalonyl-carba(dethia)-CoA **13**, ein Analogon, in welchem Schwefel durch Methylen ersetzt ist (Schema 1 und 2)^[2].

Addition von Nitromethan an Ethylvinylketon in Gegenwart von Natriummethanolat gab 6-Nitro-3-hexanon **1**. Im Acetal **2** wurde die Nitrogruppe mit Raney-Nickel zu **3** reduziert, das in Anlehnung an die Arbeit von Stewart und Wieland^[2a] mit geschütztem β -Alanin **4** zum Peptid **5** kondensiert wurde. Das durch hydrogenolytische Entfernung der Benzyloxycarbonyl-Schutzgruppe erhaltene Amin **6** ließ sich mit (-)-(R)-Pantolacton in der Schmelze zu Propionyl-carba(dethia)-pantethein **7** kondensieren^[3]. Die Phosphorylierung von **7** gelang mit (Cyanethyl)phosphat



Schema 1. Z = Benzyloxycarbonyl, Np = p-Nitrophenyl.

in Gegenwart von Dicyclohexylcarbodiimid, wobei die Cyanethylgruppe anschließend durch alkalische Hydrolyse entfernt wurde. Das erhaltene Bariumsalz von Propionyl-carba(dethia)-phosphopantethein **8** wurde durch ¹H- und ³¹P-NMR-Spektren charakterisiert^[4].



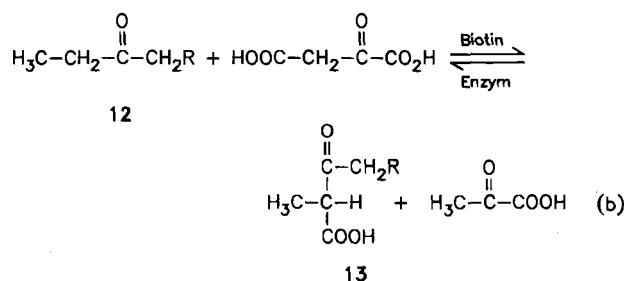
Schema 2. R siehe 8 in Schema 1. Ade = Adenin-Rest.

Die letzten Schritte zur Herstellung des gewünschten Coenzym-A-Analogons **13** sind in Schema 2 skizziert. **8** wurde mit dem bekannten^[2,5] Adenosin-Derivat **9** zum Carba(dethia)-CoA-Derivat **10** kondensiert, in welchem man nur noch den 2',3'-Phosphatester-Ring öffnen mußte, um ein nahezu 1:1-Gemisch der 2'- und 3'-Phosphate **11** und **12** zu erhalten. Das 3'-Phosphat ist die Zielverbindung, nämlich Propionyl-carba(dethia)-Coenzym-A **12**, während das ¹H-NMR-spektroskopisch unterscheidbare 2'-Phosphat dem unerwünschten Propionyl-carba(dethia)-Isocoenzym-A **11** entspricht. **11** und **12** wurden durch Chromatographie an DE-32-Cellulose mit einem LiCl-Gradienten fast vollständig getrennt und anschließend charakterisiert^[6].

[*] Prof. Dr. J. Rétey, Dipl.-Chem. M. Michenfelder
Lehrstuhl für Biochemie im Institut für Organische Chemie
der Universität
Richard-Willstätter-Allee, D-7500 Karlsruhe 1

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

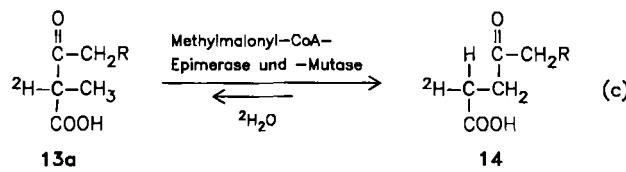
Während **11** gegenüber Methylmalonyl-CoA-pyruvat-Carboxylase (Transcarboxylase) inert ist, wird **12** nach Gleichung (b) glatt umgesetzt. (Die enzymatische Carboxylierung von **12** kam insofern nicht unerwartet, als die analoge Carboxylierung von Acetyl-carba(dethia)-CoA schon bekannt ist^[7].)



Entfernung von Pyruvat aus dem Gleichgewicht durch Reaktion mit Lactat-Dehydrogenase bewirkte vollständige Umsetzung zu (2R)-Methylmalonyl-carba(dethia)-CoA **13**, das isoliert und ¹H-NMR-spektroskopisch charakterisiert wurde^[8].

Die pH-abhängige Epimerisierung von **13** kann im NMR-Spektrometer direkt beobachtet werden, da sie mit dem Austausch des α-H-Atoms gegen Deuterium einhergeht. Die Halbwertszeit der Epimerisierung bei p²H 7.1 beträgt 140 min und ist damit kürzer als die für einen Methylmalonsäure-thioester^[9]. Die Epimerisierung von **13** zu **13a** wird von Methylmalonyl-CoA-Epimerase beschleunigt.

13a ist ein ausgezeichnetes Substrat für die Coenzym-B₁₂-abhängige Methylmalonyl-CoA-Mutase. Die enzymatische Umlagerung [Gl. (c)] konnte direkt im NMR-Spektrometer beobachtet werden. Das Auffallendste war das



Verschwinden des Methyldoublets bei δ = 1.21^[10]. In einem präparativen Ansatz wurde die enzymatische Umlagerung in unmarkiertem Lösungsmittel durchgeführt und Succinyl-carba(dethia)-CoA **14** isoliert. Mit **14** und mit Succinyl-CoA als Substrat für Methylmalonyl-CoA-Mutase wurden die Michaelis-Konstanten zu K_M = 13.6 × 10⁻⁵ M bzw. K_M = 2.5 × 10⁻⁵ M bestimmt. Die Konstante für **14** ist etwas höher (das heißt die Affinität für das Analogon ist etwas geringer), während die maximale Reaktionsgeschwindigkeit (V_{max}) praktisch gleich ist.

Die enzymatische Umlagerung einer β-(**13**) zu einer γ-Ketosäure (**14**) ist hier erstmals gelungen; die Zersetzung von zu Modellzwecken synthetisierten Cobalt-Komplexen unter Wanderung einer Acylgruppe wurde bereits früher beobachtet^[11].

Eingegangen am 26. November 1985,
ergänzt am 30. Januar 1986 [Z 1553]

[1] Neuere Übersicht: J. Rétey in D. Dolphin (Hrsg.): *B₁₂*, Vol. 2, Wiley, New York 1982, S. 357.

[2] Synthese von Acetyl-carba(dethia)-CoA: C. J. Stewart, T. Wieland, *Liebigs Ann. Chem.* 1978, 57.

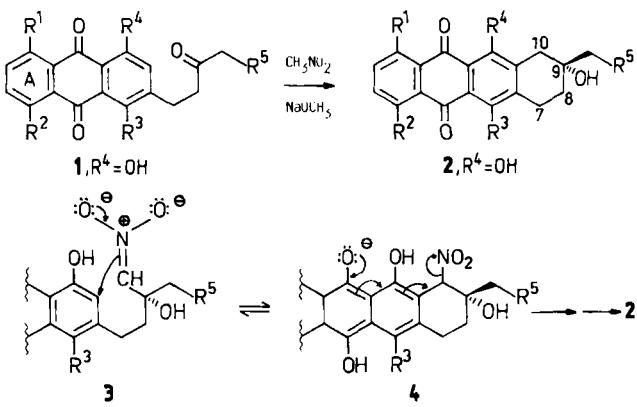
[3] 7, 250MHz-¹H-NMR (²H₂O): δ = 0.78 (s, 3H), 0.81 (s, 3H), 0.90 (t, J = 7.9 Hz, 3H), 1.63 (quint., J = 7.7 Hz, 2H), 2.4 (m, 6H), 3.05 (t, J = 7.7 Hz, 2H), AB 3.36 (J = 12 Hz, 2H), 3.41 (m, 2H), 3.86 (s, 1H).

- [4] **8**, 250MHz-¹H-NMR (²H₂O): δ = 0.83 (s, 3H), 0.98 (s, 3H), 1.00 (t, J = 9 Hz, 3H), 1.73 (quint., J = 6.5 Hz, 2H), 2.5 (m, 6H), 3.16 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.52 (t, J = 5.5 Hz, 2H), 3.74 (m, 2H), 4.10 (s, 1H), 121.49MHz-³¹P-NMR (²H₂O, H₃PO₄ ext.): δ = 6.62 (s).
- [5] J. G. Moffatt, H. G. Khorana, *J. Am. Chem. Soc.* 83 (1961) 649, 663.
- [6] **12**, 250MHz-¹H-NMR (²H₂O): δ = 0.60 (s, 3H), 0.70 (s, 3H), 0.83 (t, J = 6.8 Hz, 3H), 1.51 (quint., J = 6.6 Hz, 2H), 2.32 (m, 6H), 2.91 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.30 (t, J = 7.0 Hz, 2H), ABX 3.6 (J = 12 Hz, J_{HP} = 5 Hz, 2H), 3.9 (s, 1H), 4.1 (m, 2H), 6.09 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.43 (s, 1H), 121.49MHz-³¹P-NMR (²H₂O, H₃PO₄ ext.): δ = -7.89 (m), 2.7 (s). - **11**, 250MHz-¹H-NMR (²H₂O): δ = 6.23 (d, J = 5.8 Hz, 1H), sonst wie bei **12**, 121.49MHz-³¹P-NMR (²H₂O): δ = -7.89 (m), +6.61 (s).
- [7] J. Nikawa, S. Numa, T. Shiba, C. J. Stewart, T. Wieland, *FEBS-Lett.* 91 (1978) 144.
- [8] **13**, 250MHz-¹H-NMR (²H₂O): δ = 0.73 (s, 3H), 0.88 (s, 3H), 1.21 (d, J = 7.5 Hz, 3H), 1.71 (quint., J = 6.6 Hz, 2H), 2.45 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.65 (m, 2H), 3.13 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.45 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 3.55 (m, 1H), unausgelöstes ABX 3.66 (2H), 4.00 (s, 1H), 4.25 (m, 2H), 6.20 (d, J = 6.2 Hz, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.58 (s, 1H).
- [9] P. Overath, G. M. Kellerman, F. Lynen, H. P. Fritz, H. J. Keller, *Biochem. Z.* 335 (1962) 500.
- [10] **14**, 250MHz-¹H-NMR (²H₂O): δ = 0.55 (s, 3H), 0.72 (s, 3H), 1.50 (quint., J = 5.8 Hz, 2H), 2.25 (m, 3H), 2.40 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.53 (d, J = 6.2 Hz, 2H), 2.95 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 3.30 (t, J = 6.8 Hz, 2H), ABX 3.53 (J = 12 Hz, J_{HP} = 6 Hz, 2H), 3.86 (s, 1H), 4.10 (m, 2H), 6.06 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.43 (s, 1H).
- [11] M. Okabe, T. Osawa, M. Tada, *Tetrahedron Lett.* 22 (1981) 1899.

Einfache Anthracyclinon-Synthese durch Cyclisierung eines intermediären Hydroxynitronats**

Von Karsten Krohn* und Wahyudi Priyono

Durch die regioselektive Einführung funktionalisierter Seitenketten durch Marschalk-Reaktion oder Claisen-Umlagerung sind hydroxylierte Anthrachinone zu wertvollen Ausgangsmaterialien der Anthracyclinon-Synthese geworden^[2]. So können beispielsweise die Oxoalkyl-anthrachinone **1b-f** in über 50proz. Ausbeute aus industriell hergestelltem 1,4,5-Trihydroxy-9,10-anthrachinon bereitet werden^[3,4]. Das für den Ringschluß zu Anthracyclinonen notwendige C-Atom wurde früher über Acylanion-Äquivalente wie Lithio-1,3-dithian^[3] oder Lithio-dichlormethan^[4] in mehrstufiger Reaktion eingeführt. Wir fanden jetzt in



R ¹	R ²	R ³	R ⁵	2, Ausb. [%]
a	H	OH	CH ₃	66
b	H	OH	H	80
c	H	OH	CH ₃	92
d	H	OCH ₃	H	81
e	H	OCH ₃	CH ₃	83
f	OH	H	H	81

[*] Prof. Dr. K. Krohn, Dr. W. Priyono
Institut für Organische Chemie der Technischen Universität
Hagenring 30, D-3300 Braunschweig

[**] Synthetische Anthracyclinone, 30. Mitteilung. – 29. Mitteilung: [1].