

**149. Reduktive Co-Alkylierung von Heptamethyl-cobyrynat mit dem Methylthiomalonat
(S)-Methyl-3-bromo-2-[(ethylthio)carbonyl]-2-methylpropanoat**

von **Susanna Müller, Annemarie Wolleb, Lorenz Walder und Reinhart Keese***

Institut für organische Chemie, Universität Bern, Freiestrasse 3, CH-3012 Bern

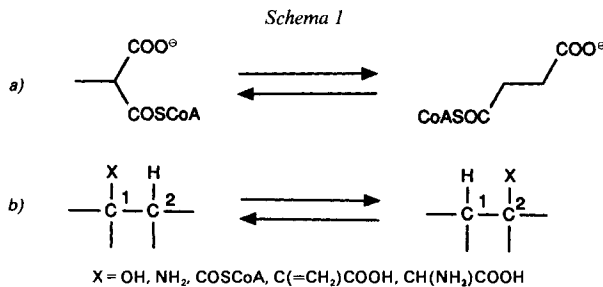
Herrn Prof. Dr. *Albert Eschenmoser* zum 65. Geburtstag gewidmet

(27. VI. 90)

Reductive Co Alkylation of Heptamethyl Cobyrylate with the Methylthiomalonate (S)-Methyl 3-Bromo-2-[(ethylthio)carbonyl]-2-methylpropanoate

The methylthiomalonate (–)-(*S*)-Methyl 3-bromo-2-[(ethylthio)carbonyl]-2-methylpropanoate (**5a**) was prepared from dimethyl methylmalonate in five steps *via* the stereospecific cleavage of the (*pro-S*)-ester group of **1** with pig-liver esterase in an overall yield of 26.5% (*Scheme 4a*). Reductive Co alkylation of heptamethyl *Co* β -perchlorato cob (II)yrinate (**8**) with **5a** by electrosynthesis lead to the alkylcobalt complex **9a** in 40% yield (*Scheme 4b*). The O₂-dependent reactions of the methylmalonyl fragment produced by photolysis of **9a** and its deuterated derivative **9c** are reported (*Scheme 5*).

Seit der Entdeckung durch *Ochoa* und Mitarbeiter [1] und *Katz* und *Chaikoff* [2], dass Coenzym B₁₂ die Isomerisierung von Methylmalonat (= 2-Methylpropandioat) zu Succinat (= Butandioat) katalysiert (*Scheme 1a*), fehlt es nicht an Untersuchungen, diese

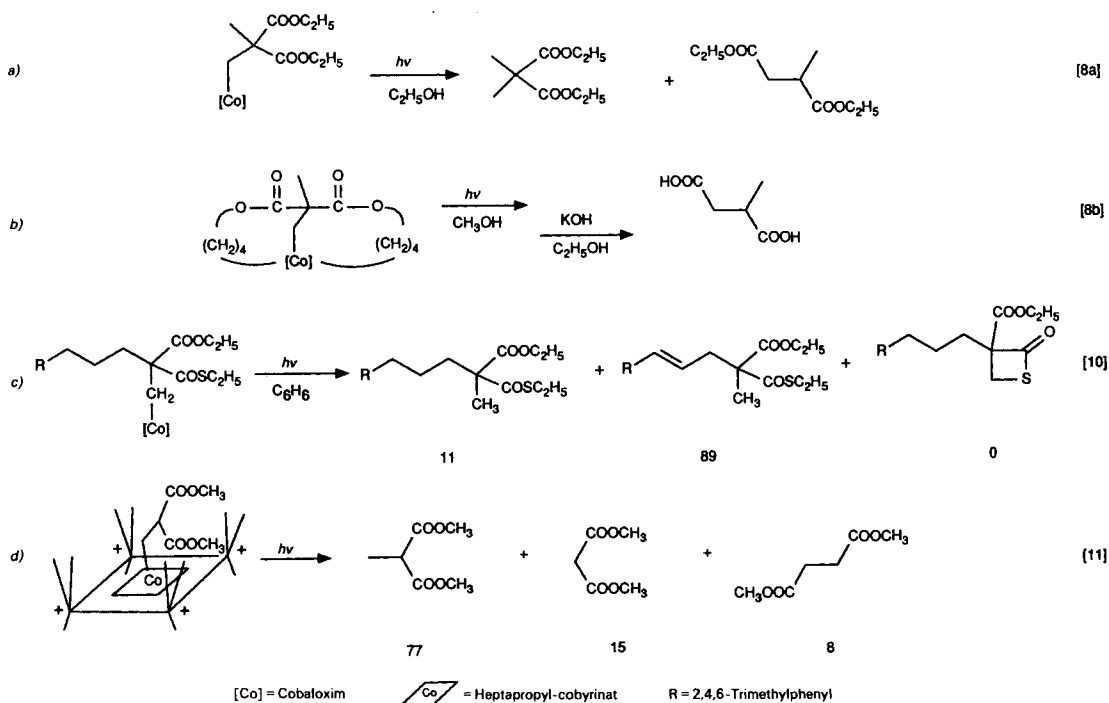


Reaktion zu verstehen. Gemeinsames Merkmal dieser und weiterer von Coenzym B₁₂ abhängigen Umlagerungen ist der Vertausch einer funktionellen Gruppe und eines H-Atoms an benachbarten C-Atomen (*Schema 1b*) [3–7]. Gestützt auf umfangreiche experimentelle Resultate wird der Mechanismus der für Mammalia essentiellen Methylmalonyl-Succinyl-Umlagerung folgendermassen formuliert: Durch Spaltung der (Co–C)-Bindung des Coenzym B₁₂ wird das 5'-Adenosyl-Radikal gebildet. Dieses abstrahiert ein H-Atom aus der Me-Gruppe des Methylmalonats, das als Thioester des Coenzym A vorliegt. Durch 1,2-Wanderung der Thioacyl-Gruppe entsteht das C-Gerüst des Succin-

nats; die Reaktion wird durch H-Transfer aus der 5'-Stellung des Adenosins abgeschlossen. Es ist bisher nicht geklärt, ob die Umlagerung unter enzymatischen Bedingungen radikalischer oder anionischer Natur ist. Die Stereoselektivität der Reaktionen des Substrats wird dabei durch das Assoziat Enzym-Coenzym-Substrat kontrolliert.

Wesentliche Erkenntnisse über die strukturellen Eigenheiten dieser Umlagerung stammen aus Modellstudien, bei denen die von *Rétey* und Mitarbeitern [8] und *Dowd et al.* [9] zuerst hergestellten Alkylcobalt-Derivate geeigneter Co-Komplexe besonders aufschlussreiche Resultate lieferten. Die Spaltung der (Co–C)-Bindung kann photochemisch induziert oder durch Reaktion des Alkylcobalt-Komplexes mit Reduktionsmitteln eingeleitet werden. Dementsprechend kann die 1,2-Verschiebung der Alkoxy-carbonyl- bzw. (Alkylthio)carbonyl-Gruppe entweder radikalischer oder anionischer Natur sein.

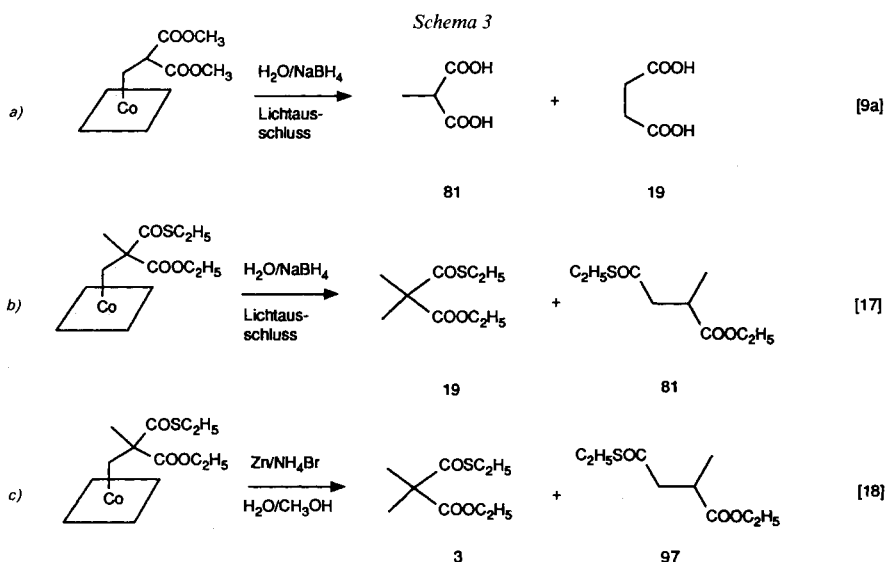
Schema 2



Das Ausmass der Umlagerung hängt vor allem von strukturellen Faktoren ab. So erhielten *Rétey* und Mitarbeiter [8b] bei der Bestrahlung eines überbrückten Cobaloxim-Komplexes (*Schema 2b*), in dem die Ester-Gruppen des Methylmalonyl-Substrats kovalent mit dem Oxim-Liganden verknüpft sind, 2-Methylbernsteinsäure (= 2-Methylbutandisäure) in hoher Ausbeute, während *Tada et al.* [10] bei der Photolyse eines ähnlichen Co-Komplexes (*Schema 2c*) kein Umlagerungsprodukt erhielten. Wie *Murakami et al.* [11] kürzlich bei einem Corrinco-balt-Komplex zeigten, lassen sich Konkurrenzreaktionen wie beispielsweise die H-Abstraktion aus dem Lösungsmittel zurückdrängen, wenn der Komplex vor der Bestrahlung mit einer hydrophoben Hülle umgeben wird (*Schema 2d*).

Es scheint unbestritten zu sein, dass bei der Photolyse dieser (Alkyl)cobaloxim- und (Alkyl)(corrin)cobalt-Komplexe der eigentliche Umlagerungsschritt radikalischer Natur ist. Erst in jüngerer Zeit wurde von uns [12], Halpern [13] und Beckwith *et al.* [14] gezeigt, dass sich Methylmalonyl-Radikale auch in Abwesenheit von Co-Komplexen zu Succinyl-Radikalen umlagern können¹⁾. Analoge Radikal-Umlagerungen in der Gasphase haben Schwarz und Mitarbeiter [16] nachgewiesen. Darüber hinaus ist naheliegend, die photochemisch induzierten Isomerisierungen von *a*, *b* und *d* (Schema 2) mechanistisch so zu deuten, dass die Anregungsenergie lediglich für die homolytische Spaltung der (Co–C)-Bindung verwendet wird und mit dem Umlagerungsschritt nichts zu tun hat.

Daneben gibt es eine grosse Anzahl von Modellstudien, bei denen die Spaltung der (Alkyl)(corrin)cobalt-Komplexe reaktiv eingeleitet wird und somit die Methylmalonyl-Succinyl-Umlagerung in Gegenwart von Reduktionsmitteln abläuft (Schema 3). So hat Dowd bei der Reaktion eines Cobalamin-Derivates unter Lichtausschluss Bernsteinsäure isoliert (Schema 3a) [9]. Scott *et al.* [17] haben darauf hingewiesen, dass unter diesen

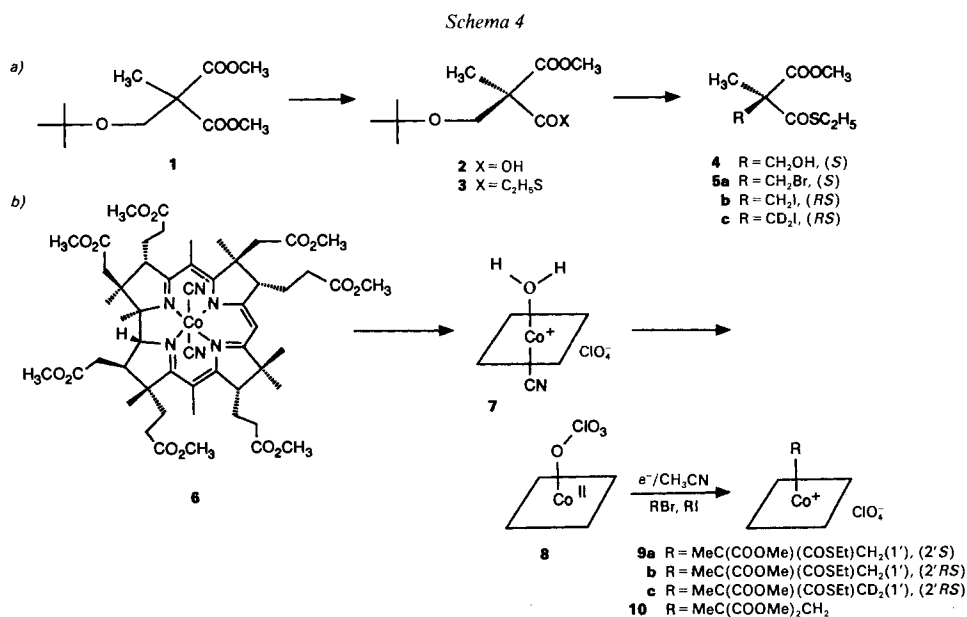


Bedingungen zwischen der reductiven und homolytischen Spaltung der (Co–C)-Bindung und der elektronischen Natur des Umlagerungsschrittes zu unterscheiden sei. Seine Resultate deuten darauf hin, dass die Isomerisierung primär auf der Radikalstufe abläuft (Schema 3b). Hingegen haben Schrauzer und Mitarbeiter [18] aus seinen Untersuchungen zur Isomerisierung in Gegenwart von Zn gefolgert (Schema 3c), dass die Umlagerung anionisch verläuft. Inzwischen steht fest, dass eine anionische Methylmalonyl-Succinyl-Umlagerung auch in Abwesenheit von Co-Komplexen abläuft. Allerdings wandert nicht mehr ausschliesslich die Thioester-Gruppe, und die Geschwindigkeit dieser anionischen Umlagerung ist viel höher als bei der entsprechenden radikalischen Reaktion [13].

¹⁾ Radikalische 1,2-Umlagerungen von Acyl-Gruppen, die nicht Teil eines Malonester-Gerüsts sind, wurden ebenfalls untersucht. S. z. B. [15].

Um die elektronische Natur und die Geschwindigkeit des Umlagerungsschrittes in Gegenwart von Corrinco-balt-Komplexen und in Beziehung zu externen Faktoren zu bestimmen, die Stereochemie der Isomerisierungsreaktion zu untersuchen und Orientierungsphänomene des Substrates im Wirkungsbereich des Co-Komplexes zu erfassen, haben wir aus dem Methylthiomalonat (*S*)-Methyl-3-bromo-2-[(ethylthio)carbonyl]-2-methylpropanoat (**5a**) und Heptamethyl-cob(III)yrinat **6** den konfiguratив einheitlichen Komplex **9a** hergestellt. Wir berichten hier über die Synthese von **9a** und seine photoinduzierten Reaktionen in Gegenwart von O₂.

Für die Synthese des optisch aktiven Thiomalonats **5a** wurde die enzymatische Hydrolyse von disubstituierten Malonsäure-estern genutzt [19]. Die mit Hilfe von Schweineleber-Esterase aus dem Dimethyl-(*tert*-Butoxymethyl)(methyl)malonat (**1**) in hoher chemischer (90%) und optischer Ausbeute (e.e. 95%) erhaltene Monosäure **2** wurde mit Ethanthiol zu **3** verestert (*Schema 4a*). Nach Abspaltung der *t*-Bu-Gruppe in **3** mit HBr



(→**4**) gelang die Substitution zu **5a** mit *N*-Bromosuccinimid (NBS) und Triphenyl-phosphit [20]. Dicyano-cob(III)yrinat **6** wurde aus Vitamin B₁₂ hergestellt²⁾. Da **6** nur langsam reduziert wird und andere Liganden durch freies CN⁻ leicht verdrängt werden, wurde **6** in das Aqua-cyano-cob(III)yrinat **7** übergeführt und anschliessend mit NaBH₄ im Zweiphasengemisch Et₂O/Hexan/MeOH/H₂O reduziert (*Schema 4b*). Nach Abtrennung von Dicyano-cob(III)yrinat **6** mit der wässrigen Phase wurde mit HClO₄ das gegenüber O₂ inerte Perchlorato-cob(II)yrinat **8** erhalten [11a]³⁾.

Das Redoxverhalten von **8** wurde durch cyclische Voltammetrie in 0,1M LiClO₄/MeCN-Lösung (*vs.* SCE) untersucht. Für Perchlorato-cob(II)yrinat **8** wurde E_{1/2} (Co(II)/

²⁾ Die ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren sind von *Ernst* analysiert worden [21].

³⁾ Für die Röntgenstrukturanalyse von **8** s. [22].

Co(I)) = $-0,69$ V bestimmt⁴⁾. Eine zweite, schwache Welle bei $-1,3$ V entspricht der Reduktion einer CN-haltigen Spezies⁵⁾. Durch Zugabe eines grossen Überschusses von **5a** wird $E_{1/2}$ nicht verändert. Allerdings erscheint bei $-1,2$ V eine irreversible Reduktionsstufe, die bei langsamerer Vorschubgeschwindigkeit deutlicher hervortritt. Diese Stufe kann der Reduktion des in einer Reaktionsschicht an der Elektrode entstehenden Alkylcobalt-Komplexes **9a** zugeordnet werden, da für reines **9a** die elektrochemische Reduktion im Bereich von $-1,2$ bis $-1,5$ V liegt und die Thioester **5a** und **12a** (s. unten) wesentlich negativere Reduktionspotentiale aufweisen ($E_{1/2}$ (**5a**) = $-2,32$ V, $E_{1/2}$ (**12a**) < $-2,7$ V, beide *vs.* SCE, in MeCN mit Bu₄NClO₄ als Leitsalz). Die nach [24] bestimmte Geschwindigkeitskonstante k der Alkylierung von Cob(I)yrinat mit dem Bromid **5a** liegt mit 4 ± 1 [1/mol · s] in der gleichen Grössenordnung wie für die Reaktion von Butyl-bromid mit Vitamin B_{12s} [25]. Das Potential von $-1,2$ V, das der irreversiblen Reduktion des Alkylcobalt-Komplexes **9a** zugeordnet wird, ist vergleichbar mit dem Verhalten der aus Diethyl-(bromomethyl)(methyl)malonat (E_p = $-1,3$ V *vs.* Ag/AgCl in DMF (*ca.* $-1,33$ V *vs.* SCE)) und Ethyl-(bromomethyl)(cyano)acetat (E_p = $-1,25$ V *vs.* Ag/AgCl in DMF) hergestellten Komplexen [11b]. Zur Herstellung des Komplexes **9a** wurde elektrochemisch aus **8** erzeugtes Cob(I)yrinat mit einem Überschuss an Bromid **5a** bei einem konstanten Potential von $-0,8$ V umgesetzt⁶⁾). Das UV/VIS-Spektrum der 'flash'-chromatographisch gereinigten Verbindung **9a** (Ausbeute 40% bzgl. **8**) zeigt die für (Alkyl)(corrin)cobalt-Verbindungen charakteristischen Absorptionsbanden bei 264, 296 und 421 nm. Im IR-Spektrum erscheint neben den typischen Banden des Cobyryns eine schwache CO-Streckschwingung des Thioesters bei 1675 cm⁻¹. Die Konstitution von **9a** konnte im wesentlichen NMR-spektroskopisch (COSY, Hetero-COSY, COLOC) geklärt werden.

Das ¹³C-NMR-Linienspektrum enthält die erforderliche Anzahl von Signalen für eine strukturell einheitliche Verbindung, die aufgrund der e.e.'s der Edukte optisch weitgehend rein sein muss. Das ¹³C-NMR-Spektrum des mit racemischem **5b** hergestellten Komplexes **9b** weist hingegen eine weit grössere Zahl von Linien auf. Für die (C–H)- und (C–C)-Verknüpfung im zentralen Bereich des Corrin-Gerüsts sowie im axialen Methylmalonyl-Gerüst waren die im COLOC-Modus gemessenen weitreichenden ¹³C, H-Kopplungen aufschlussreich⁸⁾. Dass das Methylmalonyl-Gerüst ohne Umlagerung an das Co-Atom gebunden ist, geht aus dem durch die Wechselwirkung mit Co ($J(^{27}\text{Co}) = 7/2$) deutlich verbreiterten ¹³C-NMR-Signal der direkt an das Co gebundenen CH₂(1')-Gruppe hervor. Der grosse Unterschied in der chemischen Verschiebung der beiden diastereoisotopen H-Atome (0,66 bzw. 2,16 ppm) an C(1') deutet auf eine ausgeprägte konformationelle Präferenz des axialen Liganden hin (vgl. Fig.).

Aus NOE-Messungen geht eindeutig hervor, dass die Me-Gruppe des axialen Liganden von **9a** zwischen der 12β-Me- und der 17β-Me-Gruppe der Ringe C und D des Corrin-Gerüsts steht. Die Alkylierung hat somit ausschliesslich auf der β-Seite des Corrin-Systems stattgefunden⁹⁾. Unter Berücksichtigung der absoluten Konfiguration der Methylmalonyl-Einheit ergibt sich damit unter der Annahme einer gestaffelten Kon-

4) Murakami *et al.* haben in MeCN mit Bu₄NClO₄ als Leitsalz $E_{1/2} = -0,64$ V gemessen [23].

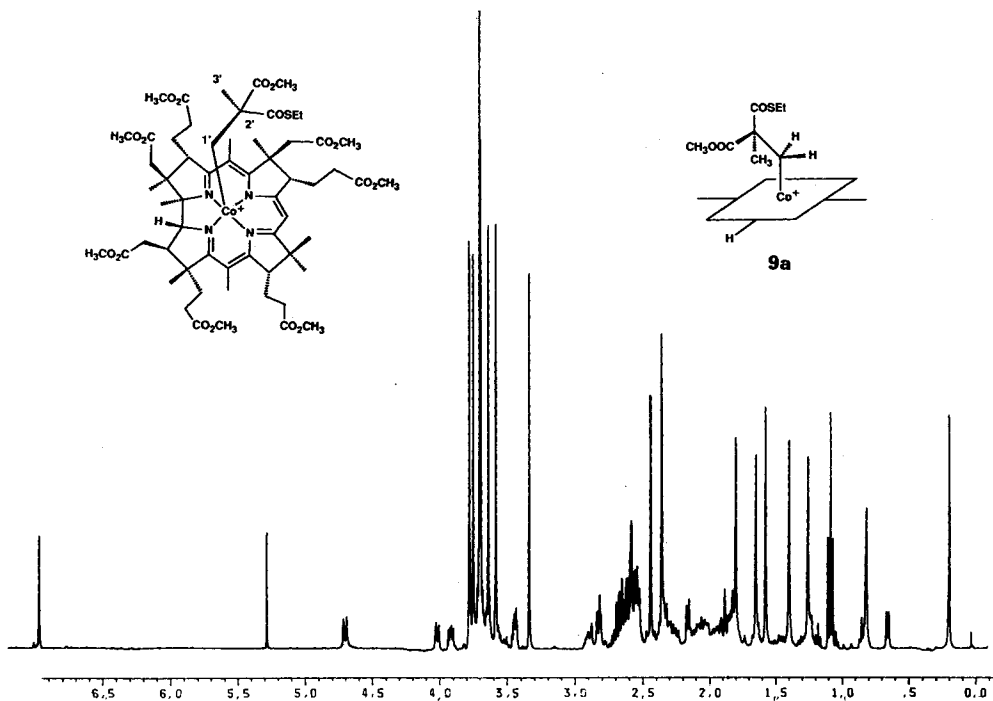
5) Ob dieses Cyanid aus einer Verunreinigung von **8** oder MeCN stammt, wurde nicht geklärt.

6) Bei der Alkylierung des durch NaBH₄ vorreduzierten Aqua-cyanocob(III)esters **7** mit **5** wurde keine Alkylcobalt-Verbindung **9** erhalten.

7) Murakami *et al.* haben bei der Reaktion des Heptaesters **8** mit Diethyl-(bromomethyl)(methyl)malonat unter elektrochemischen Bedingungen bei $-1,0$ V die Bildung eines Alkylcobalt-Komplexes beobachtet, diesen aber nicht isoliert [11].

8) Für diese Messungen danken wir Dr. C. Müller und PD Dr. P. Bigler.

9) In der Lücke zwischen Ring C und D auf der β-Seite des Corrin-Gerüsts steht im Coenzym B₁₂ der Ribose-Ring [26] und in (S)-(2,3-Dihydroxypropyl)cobalamin die terminale CH₂OH-Gruppe [27].



Figur. $^1\text{H-NMR-Spektrum}$ (400 MHz, CDCl_3) des Alkylcobalt-Komplexes **9a**

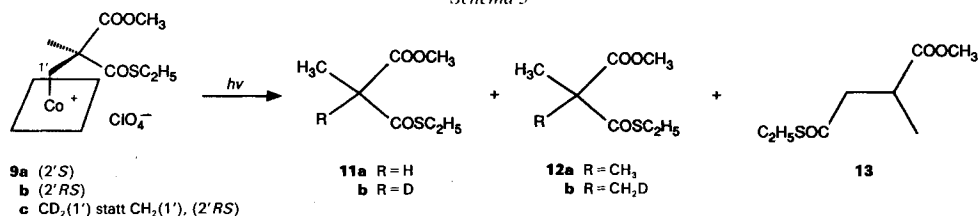
formation eine Struktur, bei der die COOMe-Gruppe zwischen Ring B und C und die COSEt-Gruppe antiperiplanar zur $(\text{Co}-\text{CH}_2)$ -Bindung steht. Das (*pro-R*)- bzw. (*pro-S*)-H-Atom der direkt an Co gebundenen CH_2 -Gruppe zeigt in Richtung der Ringe A und B bzw. A und D. Falls diese Konformation nach der Spaltung der $(\text{Co}-\text{C})$ -Bindung für die Umlagerung eine Rolle spielt, wäre mit einer Inversion am C-Atom der CH_2 -Gruppe zu rechnen¹⁰⁾.

Der Alkylcobalt-Komplex **9** ist im Dunkeln bei -20° während Monaten haltbar. In O_2 -freier Lösung zersetzte sich **9** im Dunkeln bei Raumtemperatur langsam unter Spaltung der $(\text{Co}-\text{C})$ -Bindung; bei Belichtung war der Reaktionsverlauf stark O_2 -abhängig. In einer mit Ar entgasten THF-Lösung entstanden bei der Bestrahlung von **9a** mit einer 150-W-Glühlampe die Hauptprodukte **11a** und **12a** im Verhältnis 59:41, während ohne rigorose O_2 -Ausschaltung **11a** und **12a** im Verhältnis 84:16 gebildet wurden (Schema 5). In lufthaltigem (D_8)THF wurden aus **9b** **11a** und **12b** (Deuterierungsgrad 60%) im Verhältnis 98:2 erhalten. Liess man während der Bestrahlung von **9b** Luft durch die Lösung perlen, entstand hauptsächlich **11a**, während sich **12a** nicht mehr nachweisen liess¹¹⁾.

¹⁰⁾ Rétey *et al.* haben gezeigt, dass die enzym-katalysierte Umlagerung unter Retention verläuft [5].

¹¹⁾ Schrauzer und Mitarbeiter haben die Bildung von Ethyl-2-[(ethylthio)carbonyl]propanoat bei der Bestrahlung der aus Vitamin $\text{B}_{12\text{s}}$ und *rac*-Ethyl-3-bromo-2-[(ethylthio)carbonyl]-2-methylpropanoat hergestellten Alkylcobalt-Komplexe unter areoben Bedingungen beschrieben und postuliert, dass daneben $\text{CH}_2=\text{O}$ entsteht [18]. Von Murakami *et al.* wurde bei der Belichtung eines von Heptapropyl-cobyriat und Dimethyl-methylmalonat abgeleiteten Co-Komplexes unter nicht näher spezifizierten Bedingungen Dimethyl-malonat erhalten (vgl. Schema 2d) [11]. S. a. [9b].

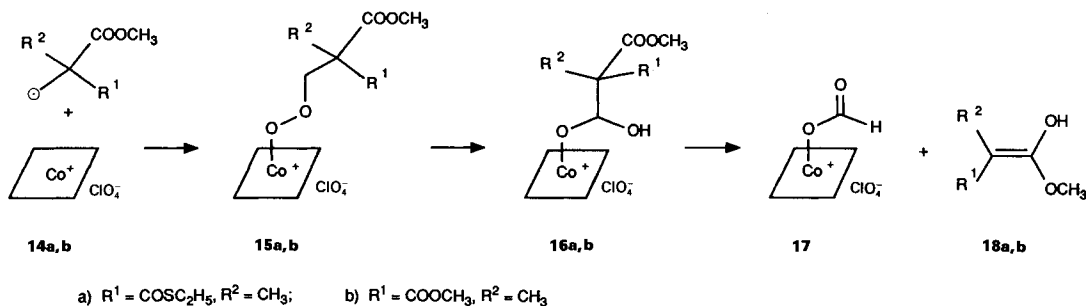
Schema 5



Für den Mechanismus der in Gegenwart von O₂ beobachteten Bildung von **11** sind die folgenden Resultate relevant: Wurde **9c** in THF belichtet, erhielt man D-freies **11a**; demnach wurde die CD₂-Gruppe abgespalten. Bei der Belichtung von **9b** in (D₈)THF während 3 h entstand **11a** (D-Gehalt < 1,5%), während in THF/D₂O 1:1 nach 3 h **11b** (D-Gehalt 91,5%) erhalten wurde¹². Dass sich **11b** nicht nachträglich aus **11a** gebildet hat, geht aus folgenden Experimenten hervor: in THF/D₂O 1:1 betrug der H/D-Austausch bei **11a** nach 3 h lediglich 11%, und bei der Bestrahlung eines Gemisches **10/11a** in THF/D₂O 1:1 während 2 h war das Verhältnis **11a/11b** 9:1, während das gebildete Dimethyl-methylmalonat 91% D enthielt.

Auf dieser experimentellen Grundlage lässt sich für die Bildung des Monomethylmalonats **11** die folgende Reaktionssequenz formulieren (Schema 6). Eingeleitet durch die photochemisch induzierte Homolyse der (Co–C)-Bindung von **9** wird aus **14** mit O₂ der Komplex **15** gebildet, der nach Fragmentierung in das Halbacetal **16** übergeht¹³. Durch

Schema 6



retro-Aldol-Reaktion entstehen **17** und **18**; letzteres tautomerisiert zu **11**. Es ist möglich, dass der *retro*-Aldol-Reaktion in Gegenwart von H₂O ein Ligand-Austausch vorangeht und aus **16** (sowie **17**) der Aqua- bzw. Hydroxocobalt(III)-Komplex entsteht. Die ursprünglich an Co gebundene CH₂-Gruppe wird durch diese Reaktionssequenz in Formiat überführt¹¹). Wir haben bisher nicht geklärt, woher das Proton für die Bildung von **18** in H₂O-freiem THF stammt. Schüttelte man nämlich den Komplex **9b** vor der

¹²) Die Produkte wurden aus dem Reaktionsgemisch nach Entfernen von THF extrahiert. Bei der direkten Filtration durch wenig 'flash'-Silicagel wurde in **11b** D vollständig gegen H ausgetauscht.

¹³) Mechanistische Einzelheiten der photoinduzierten Reaktion von Methylcobalamin mit O₂ sind von *Endicott* und *Ferraudi* beschrieben worden [28]; die Geschwindigkeitskonstanten der Reaktion von Alkyl- und Hydroxyalkyl-Radikalen mit O₂ in der Gasphase sind bekannt [29].

Belichtung mit einem Phosphat-Puffer in D₂O, isolierte man nach der Reaktion D-freies **11a**. Auch der aus einem Bestrahlungsexperiment isolierte und in **6** umgewandelte Corrincoobalt-Komplex war im ¹H-NMR unverändert.

Belichtete man den Alkylcobalt-Komplex **9b** bei sorgfältigem O₂-Ausschluss in Benzol/THF 2:1, verschob sich das Produktverhältnis **11a/12a** zugunsten von **12a**. Unter diesen Bedingungen liess sich das durch Umlagerung entstandene Succinat **13** gaschromatographisch in Spuren nachweisen.

Damit sind die Randbedingungen, unter denen eine photoinduzierte Umlagerung bei Komplexen vom Typ **9** in unpolaren aprotischen Lösungsmitteln ausgelöst werden kann, präzisiert. Mit Ausnahme der von *Murakami* beschriebenen Experimente (vgl. *Schema 2d*) sind radikalische Umlagerungen von den aus Komplexen vom Typ **9** zugänglichen Radikalen meist durch die Anwesenheit von Reduktionsmitteln maskiert. Unter unseren Bedingungen ist die radikalische Umlagerung von **14** langsamer als die Abstraktion eines H-Atoms aus THF und die Reaktion mit O₂.

Wir danken dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Projekt Nr. 2.016.86/4916 und 20-26220.89), dem Basler Stipendienfonds und der Hochschulstiftung zur Förderung der Forschung an der Universität Bern für die Unterstützung dieser Arbeit. R. Keese dankt B. T. Golding für anregende Diskussionen.

Experimenteller Teil

Unter Mitarbeit von *Beat Herzog*

Allgemeines. S. [30] [31]. Wenn nicht anderes vermerkt, wurden alle Reaktionen unter N₂ durchgeführt. UV/VIS: Angabe von λ_{max}(ε · 10⁻²) in nm.

(-)-(S)-Methyl-3-(tert-Butoxy)-2-[(ethylthio)carbonyl]-2-methylpropanoat (**3**). Zu einer Lsg. von 3,23 g (15 mmol) Säure **2** [19] und 0,18 g (1,5 mmol) 4-(Dimethylamino)pyridin in 35 ml CH₂Cl₂ wurden bei 0° 2,2 ml (30 mmol) Ethanthiol und 3,4 g (16,5 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid gegeben. Nach 5 min wurde die Kühlung entfernt und über Nacht bei RT. gerührt. Nach Filtration durch *Celite* wurde eingedampft und die mit Et₂O aufgenommene Lsg. mit HCl- und NaHCO₃-Lsg. gewaschen. 'Flash'-Chromatographie ergab 2,84 g (72%) **3** als farbloses Öl. [α]_D^{RT} = -4,34 (c = 5, 11, MeOH). IR: 1740, 1675, 1452, 1365, 1260, 1195, 1090, 960. ¹H-NMR: 1,13 (s, 9 H); 1,26 (t, J = 7,5, 3 H); 1,52 (s, 3 H); 2,93 (q, J = 7,5, 2 H); 3,75 (ca. s, 5 H). MS: 262 (1, M⁺), 115 (8), 89 (13), 57 (100). Anal. ber. für C₁₂H₂₂O₄S (462,37): C 54,93, H 8,45, S 12,22; gef.: C 54,87, H 8,45, S 12,25.

(-)-(S)-Methyl-2-[(ethylthio)carbonyl]-3-hydroxy-2-methylpropanoat (**4**). In eine Lsg. von 2,80 g (10,7 mmol) **3** in 35 ml CH₂Cl₂ wurde bei 0° während 30 min HBr eingeleitet. Nach 40 min Rühren wurde HBr mit N₂ ausgetrieben und mit NaHCO₃ neutralisiert: 2,11 g (96%) DC-reines **4**. R_f 0,66 (Et₂O). [α]_D^{RT} = -20,8 (c = 5,13, CHCl₃). IR: 3570, 1730, 1670, 968. ¹H-NMR: 1,27 (t, J = 7,8, 3 H); 1,53 (s, 3 H); 2,94 (br. q, J = 7,8, 3 H); 3,80 (s, 3 H); 3,92 (d, J = 6, 2 H). MS: 206 (1, M⁺), 145 (74), 117 (29), 116 (12), 115 (89), 85 (100), 83 (36).

(-)-(S)-Methyl-3-bromo-2-[(ethylthio)carbonyl]-2-methylpropanoat (**5a**). Zu einem Gemisch aus 85 mg (0,48 mmol) NBS und 149 mg (0,48 mmol) P(PhO)₃ in 2 ml abs. THF wurden 50 mg (0,24 mmol) **4** in 0,5 ml THF getropft. Nach 30 min Rühren wurde mit Et₂O verdünnt und mit H₂O gewaschen. Mitteldruck-Chromatographie (Hexan/Et₂O 2:1) ergab 38,6 mg (60%) **5a**. R_f 0,44 (Hexan/Et₂O 4:1). Kap.-GC: 98,3% (110°, t_R 10,23 min). [α]_D^{RT} = -0,69 (c = 8,65, CHCl₃). IR: 1742, 1675, 967. ¹H-NMR: 1,27 (t, J = 7,4, 3 H); 1,64 (s, 3 H); 2,94 (q, J = 7,4, 2 H); 3,75 (d, J = 10,3, 1 H); 3,78 (s, 3 H); 3,88 (d, J = 10,3, 1 H). ¹³C-NMR: 14,20 (q); 20,0 (q); 23,85 (t); 35,96 (t); 53,13 (q); 61,73 (s); 169,66 (s); 196,68 (s). MS: 270, 268 (6, M⁺); 239, 237 (1); 209, 207 (40); 189 (14); 181, 179 (20); 153, 151 (18); 99 (16); 89 (47); 64 (43); 54 (47); 41 (100). Anal. ber. für C₈H₁₃BrO₃S (269,16): C 35,70, H 4,87, S 11,91; gef.: C 35,61, H 4,96, S 11,55.

Heptamethyl-Co₂Co^{III}-dicyanocob(III)yrinat (6)¹⁴. Durch eine Suspension von 2,60 g (1,92 mmol) Vitamin B₁₂ in 200 ml MeOH, das 30 min mit N₂ entgast worden war, wurde 10 min N₂ durchgeleitet. Nach Zugabe einer

¹⁴) Das ursprüngliche von *A. Eschenmoser* und *R. Keese* 1963/64 entwickelte Verfahren wurde von *Werthemann* (Diss. ETH 4097, 1968), *Kräutler* und *Caderas* [32] verbessert und von *Müller* (Diss. Universität Bern, 1988) weiter optimiert. S. a. [33].

Mischung von 10 ml konz. H_2SO_4 -Lsg. und 100 ml MeOH wurde unter N_2 langsam aufgeheizt und das Gemisch 4 Tage schwach unter Rückfluss gekocht. Das abgekühlte Gemisch wurde unter Vakuum auf 40 ml eingeengt, mit 400 ml Eis/ H_2O verdünnt und mit festem NaHCO_3 vorsichtig neutralisiert. Bei pH 7–8 wurden 1,40 g (21,5 mmol) KCN zugegeben (\rightarrow dunkelviolett). Die Suspension wurde je $3 \times$ mit 250 ml CCl_4 extrahiert und ergab nach Trocknen (Na_2SO_4) 2,06 g rohes **6**. Weitere Extraktion mit 3×200 ml CH_2Cl_2 ergab 0,48 g Material, das in 50 ml mit N_2 -gesättigtem MeOH gelöst und mit 5 ml konz. H_2SO_4 -Lsg. 2 Tage unter N_2 und Rückfluss gekocht wurde. Umsetzung mit KCN und Extraktion mit CCl_4 wie zuvor lieferte weitere 0,38 g rohes **6**. Das Rohprodukt wurde durch Mitteldruck-Chromatographie (500 g Kieselgel, Hexan/ CH_2Cl_2 /*i*-PrOH/MeOH (0,1% HCN) 8:2:1:1, Fluss 21 ml/min) aufgetrennt: 1,68 g (80%) DC-reines **6**. Weitere Fraktionen enthielten ein Gemisch von Heptester und Dicyano-cobester-*c*-lacton [32] (0,16 g) und partiell verestertes Dicyano-cobester-amid (0,18 g). Weitere Nebenprodukte wurden mit MeOH herausgewaschen und die Säule mit Laufmittel regeneriert. Durch Kristallisation aus Benzol/Hexan¹⁵ wurden 1,454 g (70%) **6** als rotviolette Nadeln erhalten. R_f 0,41 (Laufmittel s.o.). Schmp. 198–200°. UV/VIS ($c = 1,2 \cdot 10^{-5}$ M, CH_2Cl_2): 227 (403), 265 (sh, 75), 276 (115), 312 (93), 326 (sh, 63), 354 (sh, 131), 369 (298), 420 (27), 512 (sh, 53), 548 (87), 586 (114). IR: 2990, 2960, 2123, 1735, 1583, 1504, 1440, 1155. $^1\text{H-NMR}$: 1,21, 1,27, 1,35, 1,38, 1,51, 1,56 (6s, 18 H); 1,63–1,90 (*m*, 4 H); 2,00–2,73 (*m*, überlagert von 2,18 und 2,23 (2s), total ca. 24 H); 2,81 (*m*, 1 H); 3,03 (*dd*, 1 H); 3,45 (*dd*, 1 H); 3,63, 3,68, 3,69 (dopp. Int.), 3,70, 3,72, 3,76 (6s, 21 H); 3,80 (*m*, 2 H); 5,59 (*s*, 1 H). $^{13}\text{C-NMR}$: 15,26 (*q*); 15,87 (*q*); 16,94 (*q*); 18,46 (*q*); 19,21 (*q*); 19,79 (*q*); 22,03 (*q*); 24,94 (*t*); 25,66 (*t*); 26,44 (*t*); 29,71 (*t*); 30,68 (*t*); 31,12 (*q*); 31,12 (*t*); 31,80 (*t*); 32,55 (*t*); 33,73 (*t*); 39,23 (*d*); 41,10 (*t*); 42,24 (*t*); 45,61 (*s*); 47,00 (*s*); 48,59 (*s*); 51,62 (*q*); 51,65 (*q*); 51,77 (*q*); 51,81 (*q*); 51,85 (*q*); 52,39 (*q*); 53,58 (*d*); 54,09 (*d*); 56,60 (*d*); 58,31 (*s*); 74,76 (*d*); 82,55 (*s*); 91,18 (*d*); 102,20 (*s*); 103,58 (*s*); 130,48 (*s*); 130,83 (*s*); 163,42 (*s*); 163,58 (*s*); 171,04, 171,44, 171,76, 171,95, 172,76, 172,96, 173,56, 173,92, 175,27, 175,62, 176,24 (11s); 128,32 (Benzol).

Heptamethyl-Co β -perchlorato-cob(II)yrinat (**8**) wurde nach [11b] hergestellt. Cyclische Voltammetrie in 0,1M $\text{LiClO}_4/\text{MeCN}$ ergab $E^{1/2}(\text{Co(II)}/\text{Co(I)}) = -0,69$ V vs. SCE.

Alkylierung von **8** mit **5a**: {Heptamethyl-Co β -{(S)-2'[(ethylthio)carbonyl]-2'-(methoxycarbonyl)-propyl}cob(III)yrinat}perchlorat (**9a**). In der elektrochemischen Zelle [34] wurde unter Ar eine 0,1M $\text{LiClO}_4/\text{MeCN}$ -Lsg. bei $-1,4$ V reduziert, bis der Grundstrom auf 3 mA gefallen war. Nach Zugabe von 0,150 g (0,132 mmol) **8**, gelöst in 2 ml dieses vorreduzierten MeCN, wurde anfänglich bei $-0,8$ V, später bei $-1,0$ V reduziert (21 As, 2 mA Grundstrom). Die grünschwarze Lsg. wurde auf 15° gekühlt und unter Lichtausschluss mit 160 mg (0,59 mmol) **5a** versetzt. Während 10 min wurde das Potential bei $-1,0$ V, dann bei $-0,8$ V gehalten. Nach 85 min wurde die Lsg. abpipettiert und die Kathode mit THF extrahiert. Diese Lsg., die nach DC überschüssiges **5a**, den gelben Komplex **9a** und eine gelbe, lichtempfindliche Verbindung am Start sowie geringe Mengen einer roten Substanz (R_f 0,66 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Et}_2\text{O}/\text{THF}$ 2:2:1)) enthielt, wurde bei RT. im Wasserstrahlpumpenvakuum eingeengt. Der schwarze Rückstand wurde in 7 ml THF und 50 ml CH_2Cl_2 aufgenommen und 3mal auf 40 ml 0,07M Phosphatpuffer (pH 5) geschüttelt [32]. Die org. Phase wurde getrocknet (MgSO_4), bei RT. eingedampft, in wenig CH_2Cl_2 /Benzol aufgenommen und mit Hexan gefällt. Das bei 0,2 Torr getrocknete Rohprodukt wurde an 15 g 'flash'-Silicagel, das mit NaClO_4 imprägniert worden war [35], mit $\text{Et}_2\text{O}/\text{THF}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 2,5:1:1 chromatographiert. Nach Filtration der Fraktionen durch Watte, Eindampfen und Fällung aus CH_2Cl_2 /Benzol mit Hexan wurden 70,2 mg (40%) ockergelbes, fast DC-reines **9a** erhalten. R_f 0,51 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Et}_2\text{O}/\text{THF}$ 2:2:1). UV/VIS ($c = 2,56 \cdot 10^{-5}$ M, CH_2Cl_2): 264 (253), 296 (239), 314 (204), 328 (179), 342 (154), 421 (105), 452 (95), 478 (71), 516 (32). IR: u. a. 1735. $^1\text{H-NMR}$: 0,21 (*s*, 3 H); 0,66 (*d*, $J = 7, 1$ (*pro-R*)-H); 0,82 (*s*, 3 H); 1,09 (*t*, $J = 7, 4, 3$ H); 1,26, 1,40, 1,58, 1,65, 1,80 (5s, 15 H); 1,79–2,94 (Stapel, darin *d* bei 2,16 ($J = 7, 1$, (*pro-S*)-H) und 2s bei 2,36, 2,44 (6 H); total ca. 30 H); 3,34 (*s*, 3 H); 3,44 (*m*, 1 H); 3,58–3,78 (7s, 21 H); 3,92 (*dd*, $J = 5, 9, 1$ H); 4,02 (*d*, $J = 8, 8, 1$ H); 4,70 (*d*, $J = 10, 1$ H); 6,96 (*s*, 1 H). $^{13}\text{C-NMR}$: 60 Signale der erwarteten Multiplizität [36].

Analog wurden **9b** (= (1'RS)-**9a**), {Heptamethyl-Co β -{(RS)-2'[(ethylthio)carbonyl]-2'-(methoxycarbonyl)}(1',1'- $^2\text{H}_2$)propyl}cob(III)yrinat}perchlorat (**9c**) und {Heptamethyl-Co β -[2',2'-bis(methoxycarbonyl)propyl}cob(III)yrinat}perchlorat (**10**) hergestellt.

9c: R_f 0,31 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Et}_2\text{O}/\text{THF}$ 1,5:2:1). UV/VIS ($c = 2,86 \cdot 10^{-5}$ M, CH_2Cl_2): 264 (257), 296 (245), 315 (sh, 214), 328 (sh, 186), 342 (sh, 162), 420 (106), 450 (sh, 95), 480 (sh, 70), 512 (sh, 35). Für weitere Daten s. [36].

10: R_f 0,26 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Et}_2\text{O}/\text{THF}$ 1,5:2:1). UV/VIS ($c = 4,38 \cdot 10^{-5}$ M, CH_2Cl_2): 264 (226), 296 (205), 315 (sh, 173), 326 (sh, 148), 346 (sh, 114), 416 (86), 450 (sh, 78), 482 (sh, 55), 512 (sh, 27). Für weitere Daten s. [37].

Bestrahlungsexperimente. O_2 -freie 0,007–0,018M Lsg. der Alkylcobalt-Komplexe wurden durch Entgasung mit Ar, das über reduzierten BTS-Katalysator geleitet worden war oder durch wiederholtes Ausfrieren und Evakuieren hergestellt. Die Bestrahlungen erfolgten mit einer 150-W-Glühbirne aus einer Entfernung von 50 cm. Lsgn. von H_2O -freien Bestrahlungsansätzen wurden zur Trockene eingedampft. Der Rückstand in wenig $\text{CH}_2\text{Cl}_2/$

¹⁵) Kristallisation aus Toluol/Hexan ergab eine schlechte Ausbeute.

Et₂O/THF 1,5:2:1, wurde auf eine Silicagel-Säule aufgetragen und mit Et₂O eluiert. D₂O-haltige Ansätze wurden nach der Bestrahlung eingedampft und mit Hexan/Et₂O 10:1 extrahiert¹²⁾.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] M. Flavin, P. J. Ortiz, S. Ochoa, *Nature (London)* **1955**, 176, 823.
- [2] J. Katz, I. L. Chaikoff, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 2659.
- [3] B. T. Golding, in 'Comprehensive Organic Chemistry', Eds. D.H.R. Barton und W.D. Ollis, Pergamon, Oxford, 1979, Vol. 5, Kap. 24.4.
- [4] 'Vitamin B₁₂', Eds. B. Zagalak und W. Friedrich, W. de Gruyter, Berlin, 1979.
- [5] 'B₁₂', Ed. D. Dolphin, Wiley-Interscience, New York, 1982, Vol. 1 und 2.
- [6] B. T. Golding, D. N. R. Rao, 'Enzyme Mechanismus', Royal Society of Chemistry, London, 1987, Kap. 20.
- [7] M. Rossi, J. P. Glusker, in 'Environmental Influences and Recognition in Enzyme', Eds. J. F. Liebman und A. Greenberg, VCH Publishers, New York, 1988, Kap. 1.
- [8] a) G. Bidlingmaier, H. Flohr, U. M. Kempe, T. Krebs, J. Rétey, *Angew. Chem.* **1975**, 87, 877; b) H. Flohr, W. Pannhorst, J. Rétey, *Helv. Chim. Acta* **1978**, 61, 1565; c) M. Fontoulakis, J. Rétey, *Chem. Ber.* **1980**, 113, 650.
- [9] a) P. Dowd, M. Shapiro, K. Kang, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 4754; b) P. Dowd, M. Shapiro, *Tetrahedron* **1984**, 40, 3060.
- [10] M. Tada, T. Nakamura, M. Matsumoto, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 110, 4647.
- [11] a) Y. Murakami, Y. Hisaeda, A. Kajihara, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1983**, 56, 3642; b) Y. Murakami, Y. Hisaeda, T. Ozuaki, T. Tshiro, T. Ohno, Y. Tani, Y. Matsuda, *ibid.* **1987**, 60, 311.
- [12] U. Aeberhard, R. Keese, E. Stamm, U.-C. Vögeli, W. Lau, J. K. Kochi, *Helv. Chim. Acta* **1984**, 66, 2740.
- [13] J. Halpern, *Science* **1985**, 227, 869.
- [14] A. L. J. Beckwith, D. M. O'Shea, S. W. Westwood, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 2565.
- [15] W. M. Best, A. P. F. Cook, J. J. Russell, D. A. Widdowson, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1986**, 1139.
- [16] T. Weiske, H. Halim, H. Schwarz, *Chem. Ber.* **1985**, 118, 495.
- [17] A. I. Scott, J. R. Hansen, S.-U. Chung, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1980**, 388.
- [18] J. H. Grate, J. W. Grate, G. N. Schrauzer, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 1588.
- [19] M. Luyten, S. Müller, B. Herzog, R. Keese, *Helv. Chim. Acta* **1987**, 70, 1250.
- [20] A. K. Bose, B. Tal, *Tetrahedron Lett.* **1973**, 3937.
- [21] a) L. Ernst, *Liebigs Ann. Chem.* **1981**, 376; b) L. Ernst, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1984**, 2267.
- [22] B. Kräutler, W. Keller, M. Hughes, C. Caderas, C. Kratky, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1987**, 1678.
- [23] Y. Murakami, Y. Hisaeda, A. Najihara, T. Ohno, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1984**, 57, 405.
- [24] R. S. Nicholson, I. Shain, *Anal. Chem.* **1964**, 36, 706.
- [25] B. Steiger, A. Ruhe, L. Walder, *Anal. Chem.* **1990**, 62, in press.
- [26] P. G. Lenhart, *Proc. R. Soc. London, [Ser.] A* **1968**, 303, 45.
- [27] N. W. Alcock, R. M. Dixon, B. T. Golding, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1985**, 603.
- [28] J. F. Endicott, G. J. Ferraudi, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 243.
- [29] A. Miyoshi, H. Matsui, N. Washida, *J. Phys. Chem.* **1990**, 94, 3016.
- [30] J. Mani, S. Schüttel, C. Zhang, P. Bigler, C. Müller, R. Keese, *Helv. Chim. Acta* **1989**, 72, 487.
- [31] M. Luyten, R. Keese, *Tetrahedron* **1986**, 42, 1687.
- [32] C. Caderas, Diss. ETH Zürich, Nr. 7822, 1987.
- [33] D. Dolphin, D. J. Halko, R. B. Silverman, H. P. C. Hagenkamp, D. L. Anton, *Inorg. Synth.* **1980**, 20, S. 139.
- [34] L. Walder, R. Orlinski, *Organometallics* **1987**, 6, 1606.
- [35] R. Stepanek, Diss. ETH Zürich, Nr. 8069, 1987.
- [36] S. Müller, Dissertation, Universität Bern, 1988.
- [37] A. Wolleb, Dissertation, Universität Bern, in Planung.