

Naturstoff-Strukturen hinterfragen

von **Albert Eschenmoser**

Vom Autor redigierte Nachschrift der aus Anlass der 150-Jahrfeier der Universität Zürich am 15. Oktober 2008 in der Aula der Universität gehaltenen *Paul Karrer*-Vorlesung

Den Mitgliedern des Stiftungsrats der *Paul Karrer*-Stiftung möchte ich für die Ehre, die mir durch die Verleihung der goldenen *Paul Karrer*-Medaille erwiesen wird, meinen Dank aussprechen. Herzlich danken möchte ich auch *Jay Siegel* für seine wohlwollenden Worte der Einführung. Die hohe Auszeichnung durch die *Paul Karrer*-Medaille bereitet mir nicht zuletzt deshalb besondere Freude, weil sie mich gedanklich in die Zeit meines Studiums an der ETH gegen Ende des zweiten Weltkriegs zurückversetzt. Ich gehöre zur Generation von Zürcher Chemikern, die *Paul Karrer* in seinen späteren Jahren noch gekannt, gehört und erlebt haben. Was war das doch für eine unglaubliche Zeit damals in der organischen Chemie hier in Zürich: an der Universität *Paul Karrer* (*Abb. 1*), berühmt durch seine grundlegenden Arbeiten über Carotinoide, Vitamine

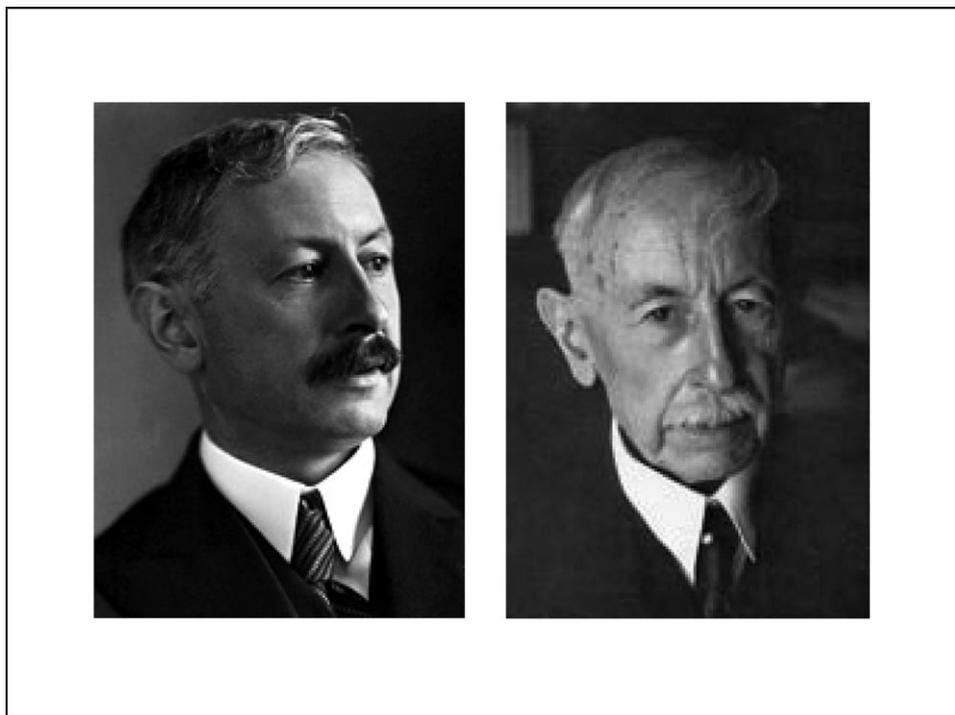


Abb. 1

und Cofaktoren; an der ETH *Leopold Ružička* (*Abb. 2*), nicht minder bekannt durch seine umfassende Erforschung der Terpene, die Entdeckung der vielgliedrigen Kohlenstoff-Ringe, und seine dramatischen Beiträge zur Chemie der männlichen Sexualhormone; beide Naturstoffchemiker allerhöchsten Ranges, beide Träger eines *Nobel*-Preises und: unser Zürich weltweit bekannt als ein Mekka der organischen Naturstoffchemie. Die vorangegangenen 30-iger Jahre waren die hohe Zeit in der Erforschung der chemischen Struktur der Vitamine und Hormone, beides Stoffklassen, deren Struktur-Aufklärung Teil der Grundlegung des chemischen Fundaments der Biologie war. Wissenschaftler wie *Paul Karrer* und *Leopold Ružička* waren nicht nur Chemiker und Klassiker der organischen Naturstoffchemie, sie waren auch chemische Pioniere einer Wissenschaft, die heute Molekulare Biologie heisst.

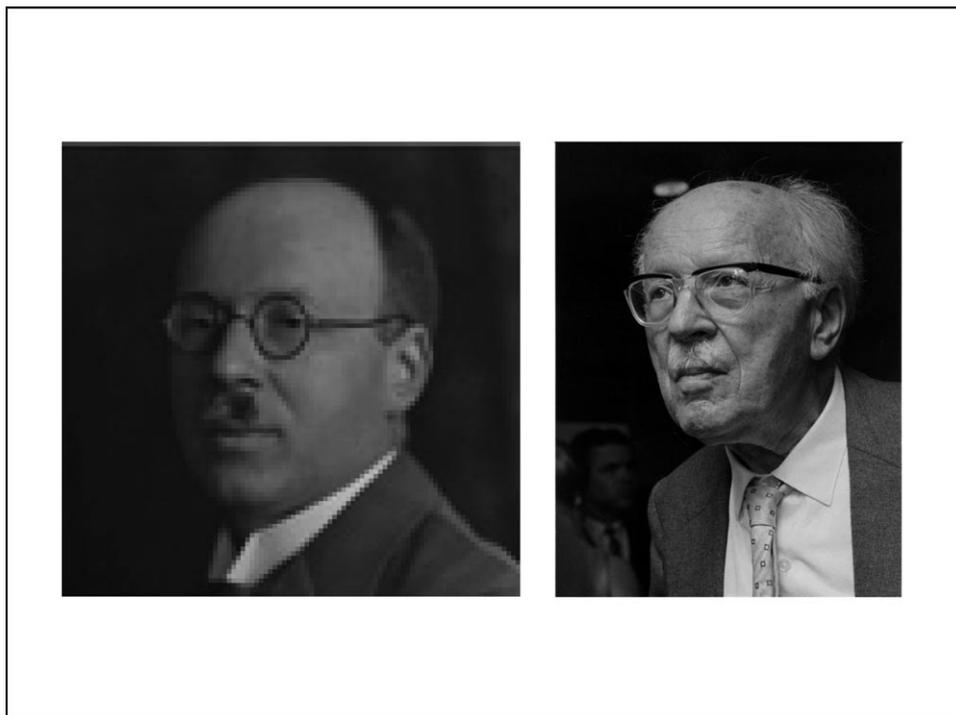


Abb. 2

Der Name *Karrer* weckt in mir vor allem auch die Erinnerung an das Lehrbuch, zu dessen Beschaffung ich in meinem 2. Semester im April 1945 von meinem älteren Bruder eine Anleihe von 70 Schweizerfranken aufnahm: '*Lehrbuch der Organischen Chemie*', von *Paul Karrer*, 9. Auflage, aus dem Kriegsjahr 1943 (*Abb. 3*), international massgebendes Lehrbuch in organischer Chemie jener Zeit, '*den Karrer*', wie man den tausendseitigen Wälzer unter Chemiestudierenden damals nannte. Das Buch, das ich heute noch besitze und hege, diente mir bis zum Diplom als umfassende Quelle von

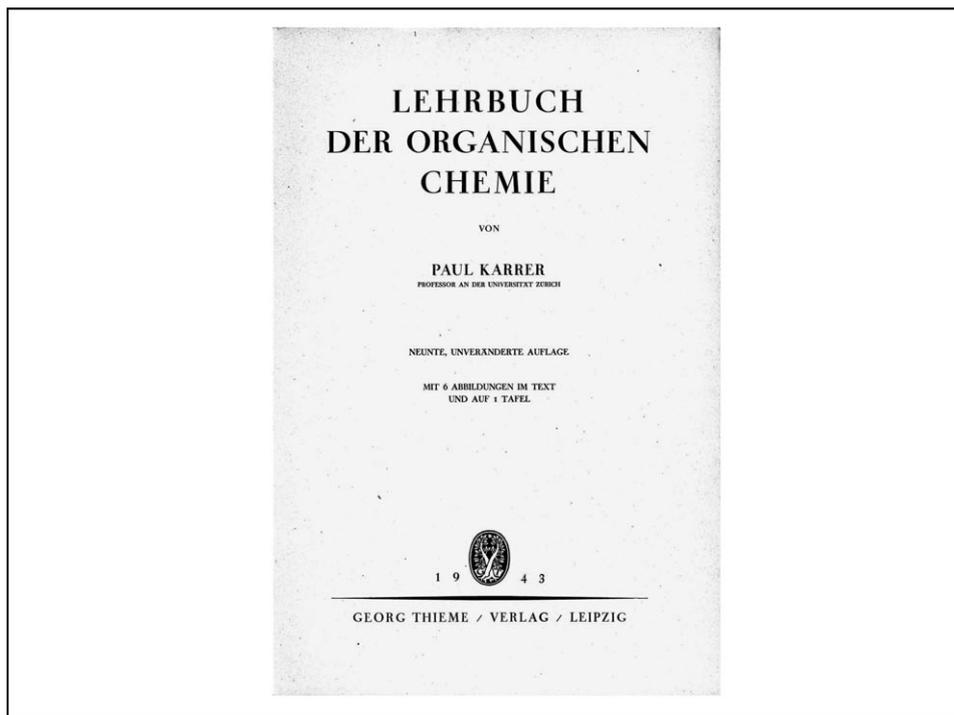


Abb. 3

Wissen über organische Chemie zu Beginn des Studiums, aber vor allem auch als disziplinierende Ergänzung der zwar begeisternden, aber doch eher 'wilden' Vorlesungen meines Lehrers *Leopold Ružička*.

Ich muss gestehen, dass mich die Nachricht von der Verleihung der goldenen *Paul Karrer*-Medaille der Universität Zürich auch deshalb ganz besonders gefreut hat, weil es nun genau 50 Jahre her sind, dass ich als junger Privatdozent die silberne *Leopold Ružička*-Medaille der ETH in Empfang nehmen durfte. War die Auszeichnung von damals, nebst dankbar entgegengenommener Anerkennung, vor allem auch eine Aufmunterung des jungen Wissenschafters zu neuen Taten, so empfinde ich die heutige Ehrung nicht zuletzt ebenfalls als Aufmunterung, wenn natürlich auch in ganz anderem Sinne: Welcher Emeritus, auch wenn ansonsten im Frieden mit sich selbst, würde nicht auch Grund haben, kritisch auf sein Lebenswerk zurückzuschauen und dabei, kraft besserer Durchsicht und grösserer Klarheit im Alter, nebst all dem, was mit Glück gelang, auch das erkennen und beklagen, was verpasst oder durch eigenes Verschulden misslungen war. Als Emeritus eine Ehrung wie diese zu empfangen zu dürfen, ist deshalb nicht zuletzt eine Aufmunterung zur Toleranz gegenüber eigenem Ungenügen.

Im Folgenden will ich versuchen, einen autobiographischen Rückblick über drei Kern-Bereiche meiner Forschung zu geben, die in Zusammenarbeit mit einer grossen Anzahl zum weitaus überwiegenden Teil hervorragender Doktoranden und Postdoktoranden durchzuführen ich das Glück hatte. Es sind dies Bereiche, die zeitlich sich

über fast sechs Jahrzehnte verteilen, jedoch inhaltlich insofern miteinander zusammenhängen, als ihnen die *'Hinterfragung von Naturstoffstrukturen'* sozusagen als gemeinsamer Nenner zugrunde liegt (*Abb. 4*). Eigentlich müsste man vorerst den Titel des Vortrags hinterfragen, klären, was *'hinterfragen'* im vorliegenden Zusammenhang bedeuten soll (*Abb. 5*). Man kann eine Naturstoffstruktur hinterfragen z. B. nach der Richtigkeit ihres chemischen Strukturmodells, oder auch z. B. nach ihrer biologischen Funktion; die eine Frage stellt der Chemiker, die andere der Biologe. Oder ein an der Biologie interessierter Chemiker kann fragen, wie ein Naturstoff in der Natur entsteht. Ursprünglich, d. h. vor der Mitte des vergangenen Jahrhunderts, war die Erforschung von Biosynthesen eine exklusive Domäne der Biochemie, später aber, als die Komplexität der Biosynthese gewisser Naturstoffe offenbar wurde, zunehmend auch ein Forschungsgebiet organischer Naturstoffchemiker. Biosynthese-Forschung war in der Zeit meiner Generation die wohl meist begangene Brücke zwischen Biologie und Chemie. blieb die Erforschung der Biosynthese der Proteine bis heute ein zentrales Anliegen der Biologie, wurden die Biosynthese des Coenzym B₁₂ und anderer Cofaktoren Paradeprobleme der (bio)organischen Chemie; beide sind mächtige, bis in unsere Zeit hinein ragende Pfeiler dieser Brücke.

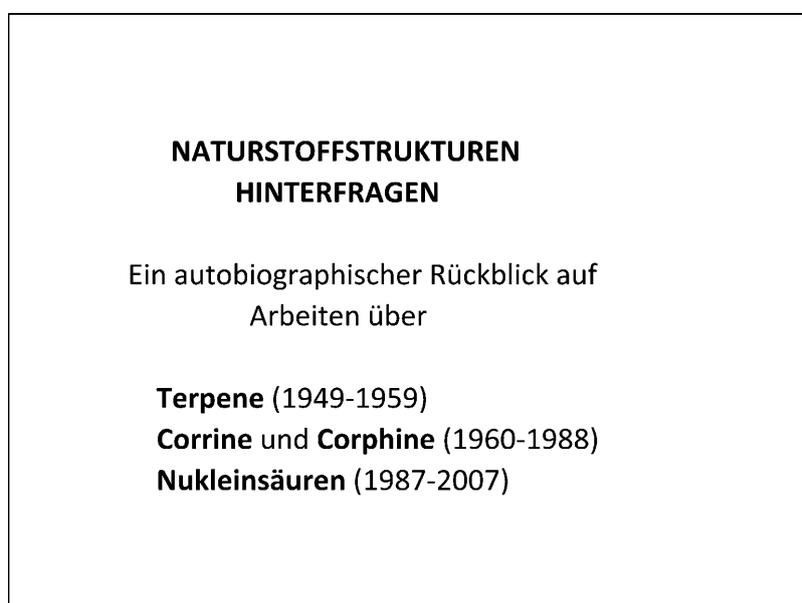


Abb. 4

Man kann auch eine Naturstoff-Biosynthese hinterfragen, und zwar nach ihrem Ursprung. Dann allerdings verlässt man das Territorium, auf welchem man durch klares Fragen zu klaren Antworten kommen kann. Dennoch: Fragen nach dem Ursprung gehört spätestens seit *Charles Darwin* zur Biologie. Durch ihn wurde die Biologie eine nicht mehr nur beobachtende, klassifizierende und analysierende Wis-

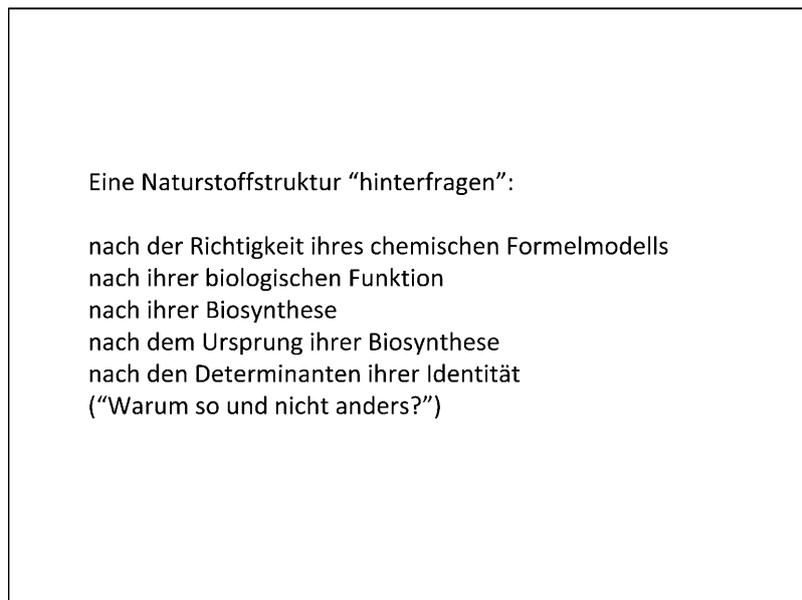


Abb. 5

senschaft, sondern eine Biologie, die auch nach dem Ursprung ihrer Objekte fragt. Die Chemie, bislang nie eine historisierende Wissenschaft, ist heute so eng mit der Biologie verstrickt, dass sie ihren Teil zu den Ursprungsfragen der Biologie wird beitragen müssen. Sie wird auf ihrem eigenen Territorium, gemäss ihren eigenen Methoden und in der ihr eigenen Sprache, solche Fragen zu stellen haben. Einem organischen Naturstoff-Chemiker, der nach dem Ursprung der Biosynthese einer Naturstoff-Struktur fragt, stehen 'chemiespezifische' Wege für eine Annäherung an Antworten von solchen Fragen offen. So kann er nach den chemischen Determinanten der strukturellen Identität eines Naturstoffs fragen und mit den Mitteln der chemischen Synthese einer Antwort sich nähern. 'Warum sieht ein Biomolekül so aus und nicht anders?' Mit dieser Art des Fragens haben alle drei Forschungsgebiete zu tun, die hier dargestellt werden.

Terpene

Diplomarbeit und Doktorarbeit absolvierte ich im Laboratorium von *Hans Schinz* (Abb. 6) am *Ružičkaschen* Institut für Organische Chemie an der ETH. Anfang der 20-iger Jahre, als *Ružička* Titularprofessor an der ETH war, wurde *Schinz* einer seiner ersten Doktoranden und dann im Rahmen der engen Zusammenarbeit *Ružičkas* mit der Genfer Riechstoff-Firma *Firmenich & Co* in Genf Angestellter dieser Firma. Vorerst als Mitarbeiter von *Ružička*, später als selbständiger Forscher der Genfer Firma, hat er bis zu seiner Pensionierung am *Ružičkaschen* Institut an der ETH gearbeitet. Während und nach dem zweiten Weltkrieg, als *Ružička* sich aktiv für

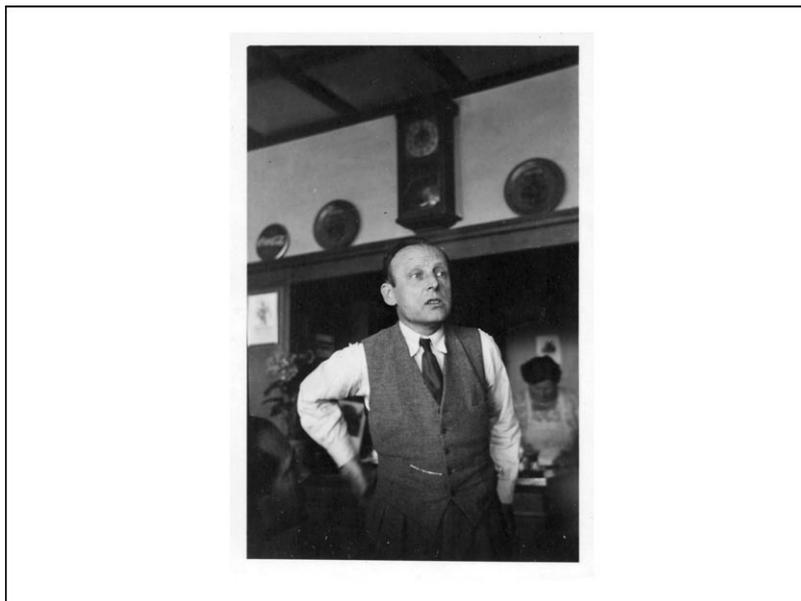


Abb. 6

niederländische Malerei interessierte und er sich zudem Angelegenheiten widmete, die mit der Linderung von kriegsbedingten Problemen in seinem Ursprungsland Kroatien zusammenhingen, hat er seinem ehemaligen Mitarbeiter *Schinz* erlaubt, Doktoranden anzuheuern und mit ihnen die Studenten der Naturwissenschaften im organisch-chemischen Praktikum zu betreuen. Offiziell waren diese Doktoranden *Ružička*-Doktoranden. Mit ihnen hat *Schinz* nebst seinen industriell orientierten Riechstoff Arbeiten präparative Untersuchungen über den in der Terpen-Chemie und Riechstoff-Industrie wichtigen Reaktionstyp der säurekatalysierten Polyen-Cyclisierung durchgeführt. Damals als Diplomand des Doktoranden *Alfred Lauchenauer* im Laboratorium von *Schinz* mit eben diesem Problemkreis in Kontakt gekommen zu sein, war mein Glück.

Schriftsteller und Wissenschaftler haben zeitlebens ein besonderes Verhältnis zu ihrem Erstling, d. h., wenn man Chemiker ist, zur ersten wissenschaftlichen Publikation. So geht es auch mir mit der Veröffentlichung, die 1950 in den *Helvetica Chimica Acta* erschien und von der Konstitution des Zingiberens handelte (Abb. 7). In meiner Diplomarbeit hatte ich die Vermutung ausgesprochen, dass die 20 Jahre zuvor von *Ružička* publizierte Konstitutionsformel des Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffs Zingiberen nicht richtig sein könne, da sie mit der aus der Literatur bekannten Eigenschaft des monocyclischen Kohlenwasserstoffs, unter dem Einfluss von Säure sehr leicht in ein bicyclisches Isomer überzugehen, nicht vereinbar sei. Überlegungen zum Mechanismus der säurekatalysierten Polyen-Cyclisierung, die zu dieser Aussage führten, liessen gleichzeitig auch erkennen, wie die richtige Zingiberen-Formel auszusehen hat. So brauchte es denn – soweit ich mich erinnere – auch nur ungefähr einen Monat meiner Doktorarbeit, um die experimentelle Bestätigung für die Richtigkeit der aus

HELVETICA CHIMICA ACTA.
Volumen XXXIII, Fasciculus I (1950) – No. 26. 171

26. Zur Kenntnis der Sesquiterpene und Azulene.

(91. Mitteilung¹).

Zur Konstitution des Zingiberens

von A. Eschenmoser und H. Schinz.

(21. XII. 49.)

L. Ruzicka & A. G. van Veen haben vor zwanzig Jahren für das Zingiberen die Formel I aufgestellt²). Diese stützte sich einerseits auf die Dehydrierung des Zingiberens zu Cadalin und des Hexahydrozingiberens zu 2-Methyl-6-(p-tolyl)-heptan, andererseits auf den stufenweisen oxydativen Abbau des Dihydrozingiberens II über die Ketodicarbonsäure III zur Tricarbonsäure IV³). Durch die Bildung von

Abb. 7

solcher Hinterfragung hervorgegangenen Zingiberen-Struktur zu erbringen (Abb. 8). Natürlich war dies für den jungen Forschungsnovizen ein prägendes Erlebnis. Es ist wichtig, dass Lehrende ab und zu (kleine) Fehler machen, denn die psychologische Wirkung auf Lernende, die damit Gelegenheit bekommen, solche Fehler zu erkennen und zu korrigieren, ist für Schüler und junge Wissenschaftler von unschätzbbarer Bedeutung.

In der organischen Naturstoffchemie auf dem europäischen Kontinent waren die Jahre unmittelbar nach dem zweiten Weltkrieg eine Zeit des Umbruchs. Dieser bestand im Aufkommen eines neuen reaktionsmechanistischen Denkens, das unmittelbar nach dem Krieg aus England und Amerika sukzessive in die organische Naturstoffchemie an den Hochschulen des Kontinents einzusickern begann. Das klassische Prinzip des Argumentierens und Analogieschliessens auf Grund rein konstitutioneller Kriterien wurde durch das neue Paradigma des mechanistischen Analogieschlusses erweitert, d.h. einer Art qualitativ-chemischen Argumentierens, das nicht mehr nur auf rein konstitutionellen Kriterien beruhen durfte, sondern auch reaktionsmechanistisch mitzubegründen war. Die wissenschaftliche 'Bibel' dieses Umbruchs war, zumindest für mich selbst, das 1949 erschienene Buch von *M. J. S. Dewar* 'The Electronic Theory of Organic Chemistry', mit einem Vorwort des grossen Naturstoffchemikers und Pioniers mechanistischen Denkens in England, *Robert Robinson*.

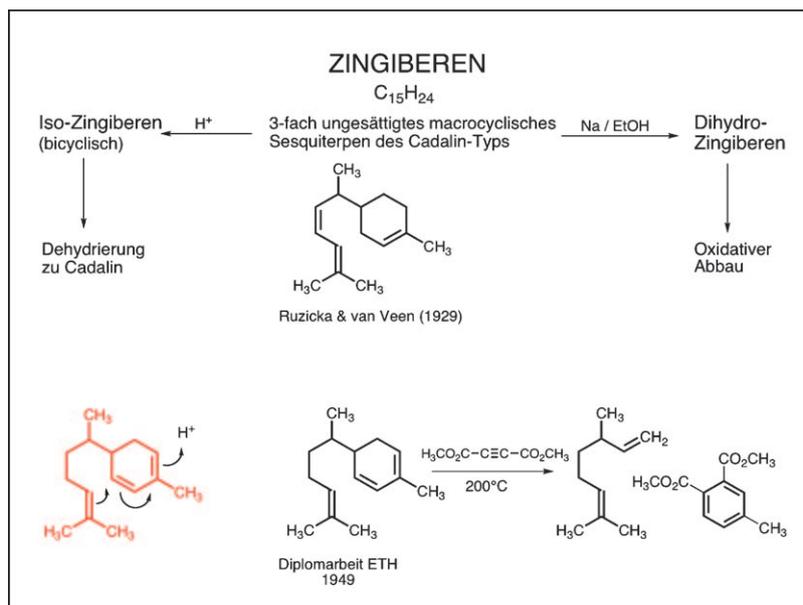


Abb. 8

In der Wissenschaft haben die Jungen in Zeiten eines Umbruchs einen erheblichen Vorteil: unbelastet mit Wissen und Erfahrung, nehmen sie neue Ideen rascher auf als erfolgsverwöhnte und deshalb tendenziell konservativ agierende Professoren. So bot sich damals die aussergewöhnliche Gelegenheit, die klassische Terpen-Literatur systematisch zu durchstreifen und mittels klassischer Kriterien abgeleitete Terpen-Formeln anhand reaktionsmechanistischer Kriterien systematisch zu hinterfragen. Die Ernte, die ich auf diese Weise in die Scheune meiner Dissertation einbringen konnte, erwies sich als überraschend reichhaltig. Von welcher Art sie war und wohin sie schliesslich führte, will ich anhand *Abb. 9* am Beispiel eines weiteren klassischen Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffs, dem Cedren, erläutern.

Versuche zur Konstitutionsermittlung des Cedrens, einem der Inhaltsstoffe des Cedern-Öls, gehen auf den Terpen-Chemiker *F. W. Semmler* zurück, dessen Formel-Vorschlag aus dem Jahre 1914 von *Ružička* im Jahr seiner Ernennung zum Professor für Chemie an der ETH übernommen, jedoch von ihm einige Jahre später durch zwei neue Vorschläge ersetzt wurde. Alle der insgesamt neun vor 1950 gemachten Formelvorschläge für das Cedren (*Abb. 9*) zeigen beispielhaft die Rolle und Bedeutung der von *Otto Wallach* für Monoterpene entworfenen und später insbesondere von *Ružička* auf höhere Terpene erweiterten klassischen Isopren-Regel. Diese hatte den Terpen-Chemikern die Vorschrift auferlegt, dass die Kohlenstoff-Gerüste der Konstitutionsformeln von Verbindungen der Terpen-Reihe in sogenannte 'Isoprenreste' aufteilbar zu sein hätten (*Abb. 9*). Alle neun Vorschläge für die Konstitution des Cedrens, insbesondere auch der Vorschlag aus dem Jahre 1935 des reaktionsmechanistisch sonst beileibe nicht unbeschlagenen *Robert Robinson*, illustrieren den rein empirischen Charakter dieser Forderung nach Aufteilbarkeit der Kohlenstoff-Gerüste

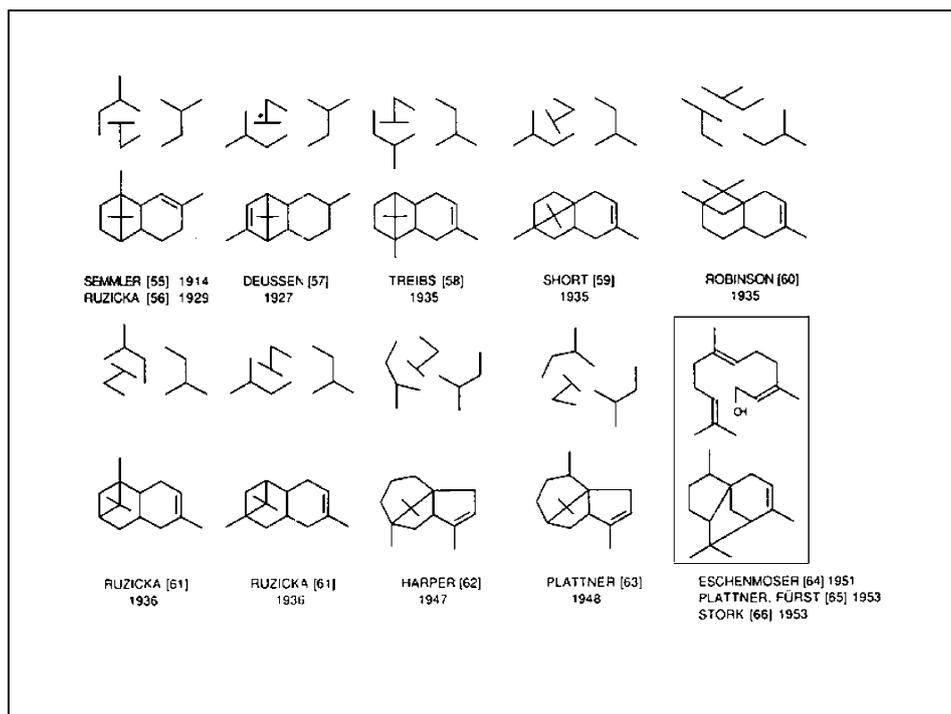


Abb. 9

von Terpen-Formeln in Isopren-Reste; mit ihr waren keinerlei mechanistische Vorstellungen verbunden. Dies änderte sich um das Jahr 1950 mit meinem Vorschlag der endgültigen Konstitutionsformel des Cedrens (Abb. 9), welcher durch Hinterfragung der experimentellen Daten der Literatur zustande kam und vor allem durch die Hypothese ausgelöst wurde, dass die Konstitutionsformel von Cedren nicht einfach in Isopren-Reste aufteilbar, sondern durch säurekatalysierte Cyclisierung des aliphatischen Sesquiterpens Farnesol (Abb. 9) ableitbar sein müsse.

Cedren ist eines der Beispiele aus einer ganzen Gruppe von polycyclischen Sesquiterpenen, für welche die oben erwähnte systematische Hinterfragung in der Literatur vorgeschlagener Konstitutionsformeln zum Vorschlag führte, dass das Kohlenstoff-Gerüst eines Sesquiterpens nicht nur *formal* in Isopren-Reste zerlegbar sein, sondern *mechanistisch* nach dem Schema einer kationischen Polyen-Cyclisierung aus einem gemeinsamen aliphatischen Sesquiterpen-Vorläufer, Farnesol oder Farnesen, ableitbar sein muss. ‘Gewissheit’ über diese Forderung ergab sich aus der Tatsache, dass durch Anwendung dieses Postulats sich für eine ganze Gruppe von Sesquiterpenen erstmals die korrekten Konstitutionsformeln ableiten liessen. Damit war für die Terpen-Chemie jener Paradigma-Wechsel vollzogen, den *Ružička* dann im Rahmen eines Vortrags über die Rolle der Isopren-Regel in seiner Terpen-Forschung am IUPAC-Kongress 1953 als ‘*biogenetische Isoprenregel*’ verkündete, und anschliessend im Rahmen einer umfassenden Übersicht auf die Ergebnisse seiner gesamten Terpen-

EXPERIENTIA

Vol. IX - Fasc. 10

Pag. 357–396

15. X. 1953

The Isoprene Rule and the Biogenesis of Terpenic Compounds¹By L. RŮŽIČKA, Zurich²*Biogenesis of Steroids and Terpenic Compounds*
(together with A. ESCHENMOSER¹ and H. HEUSSEK)

Moreover, the deduction of structures of natural terpenic compounds by accepted reaction mechanisms from the hypothesized simple precursors squalene, geranylgeraniol, farnesol, geraniol ("biogenetic isoprene rule") not only serves to outline possible biogenetic routes, but also represents a new helpful tool in the structural elucidation of terpenic compounds. This new tool limits the number of carbon skeletons which can be proposed on the basis of the original isoprene rule¹ ("empirical isoprene rule") alone. It is obvious that any formula deduced in accordance with the "biogenetic" as well as with the "empirical" isoprene rule requires experimental proof.

¹ Cf. A. ESCHENMOSER, Ph.-D. Thesis, E.T.H., Zurich, 1952, p. 16–28.

Abb. 10

Forschung als abschliessendes Kapitel publizierte (Abb. 10). In der Zwischenzeit war auch klar geworden, wie das für Sesquiterpene erkannte Prinzip der mechanistischen Ableitbarkeit der Konstitution von cyclischen Terpenen aus entsprechenden aliphatischen Vorläufern auf alle der bis dahin bekannt gewordenen Konstitutionsformeln tetra- und pentacyclischer Triterpene anwendbar ist. Entscheidende Voraussetzung hierzu war das Postulat der *oxidativen* Auslösung der Cyclisierung des aliphatischen Triterpen-Kohlenwasserstoffs Squalen. Zwei in der Zwischenzeit erfolgte experimentelle Entwicklungen hatten mächtigen Ansporn geliefert: vor allem die erfolgreich abgeschlossene Strukturaufklärung des Lanosterins im *Ružička–Jegerschen* Laboratorium an der ETH, aber auch wichtige neue Beobachtungen zur Biosynthese des Cholesterins aus Squalen an der Harvard im Laboratorium von *K. Bloch*.

Die biogenetische Isopren-Regel in ihrer Formulierung aus dem Jahre 1953 war noch völlig auf die *Konstitution* von Terpen-Strukturen beschränkt; sie enthielt noch keinerlei Aussagen über deren (relativer) *Konfiguration*, wiewohl bereits damals auf dem Gebiet der Stereochemie der cyclischen Triterpene und der Steroide schon vieles bekannt war. Der Fortschritt ergab sich aus einer glückhaften Koinzidenz von Ergebnissen, die sich aus Untersuchungen an der ETH in zwei ganz unterschiedlichen Richtungen ergaben: zum einen aus Experimenten, welche die Abklärung des bevorzugten stereochemischen Verlaufs säurekatalysierter Polyen-Cyclisierung an speziellen Modell-Terpenen zum Ziel hatten; zum anderen aus der Aufklärung von

Separatum
 HELVETICA CHIMICA ACTA
 Volumen XXXVII, Fasciculus quartus.

119. Über den sterischen Verlauf der säurekatalysierten
 Cyclisation in der Terpenreihe.

Cyclisation der *cis*-7-Methyl-octadien-(2,6)-säure-(1)

von G. Gamboni, H. Schinz und A. Eschenmoser.

(13. III. 54.)

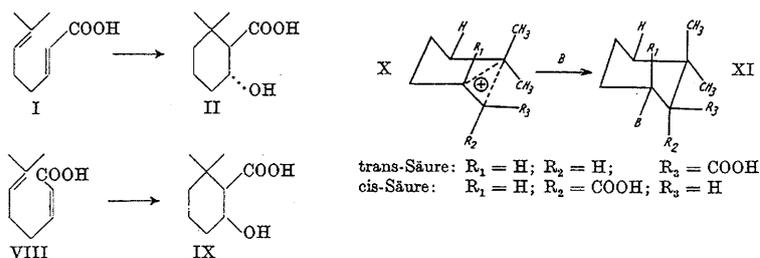


Abb. 11

Konstitution und Konfiguration der tetracyclischen Triperpene Euphol und Tirucallol, die sich beide als Diastereoisomere von Lanosterin erwiesen.

Eine zusammen mit einem Doktoranden im *Schinz*schen Laboratorium durchgeführte Untersuchung zeigte, dass die säurekatalysierte Cyclisierung der beiden diastereoisomeren Norgeraniansäuren (*Abb. 11*) in Ameisensäure hochstereoselektiv gemäss dem Schema einer *trans*-antiperiplanaren Addition an Doppelbindungen verläuft, und es wurde postuliert, dass sie von den zwei konformationellen Möglichkeiten des Reaktionsablaufs, nämlich *via* eine Sessel- oder eine Wannen-Faltung der Kohlenstoff-Kette, den Weg über die als energetisch stabiler angenommene Sesselfaltung bevorzugt. Der Weg über die Wannen-Faltung würde im allgemeinen Fall zu Produkten führen, die zu jenen einer Cyclisierung über die Sesselfaltung diastereoisomer sind (*Abb. 12*). Eine formale Extrapolation der Stereospezifität dieses Reaktionsverlaufs auf höhere aliphatische Isoprenologen mit (*E*)-Konfiguration der Doppelbindungen führte zur Schlussfolgerung, dass in polycyclischen Reaktionsprodukten einer Cyclisierung über Sesselfaltungen das Ringsystem die *trans*-anti-*trans* Konfiguration der Ringe aufweisen müsste, d.h. jene räumliche Ring-Anordnung, von der bekannt war, dass sie für polycyclische Terpene und Steroide charakteristisch ist.

Zwei Jahre nach Ankündigung der biogenetischen Isopren-Regel war die Einsicht in die stereochemischen Aspekte dieser Hypothese, zumindest die polycyclischen

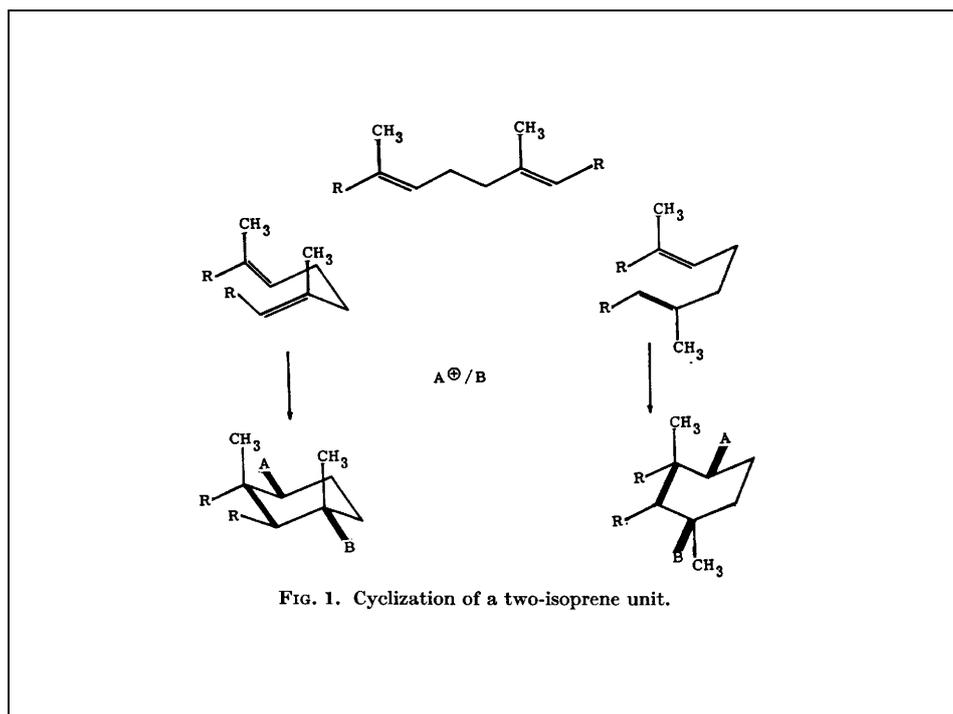


Abb. 12

Triterpene betreffend, so weit gediehen, dass aus der *Ružičkaschen* Schule in den *Helvetica Chimica Acta* eine ausnahmsweise rein theoretische Arbeit erschien, in welcher dargelegt wurde, dass nicht nur die Konstitution, sondern auch die (relative) Konfiguration sämtlicher bis dahin bekannter polycyclischer Triterpene nach reaktionsmechanistisch-stereochemischen Regeln der kationischen Polyen-Cyclisierung und kationischen *Wagner–Meerwein*-Umlagerungen aus der Konstitutionsformel des hypothetischen Vorläufers Squalen abgeleitet werden können (*Abb. 13*). Entscheidende Postulate dieser Theorie waren: die enzymatischen Cyclisierungen des Squalens sind oxidativ initiiert, Reaktionen an Doppelbindungen und 1,2-Umlagerungen verlaufen strikte nach dem Prinzip der antiperiplanaren Addition von Elektrophil und Nukleophil, die enzymatischen Cyclisierungsschritte können nicht nur über Sesselfaltungen sondern auch über Wannen-Faltungen verlaufen, die Umwandlungen des Squalens in Triterpene laufen ohne die Bildung kovalenter Zwischenprodukte ab. *Abb. 14* reproduziert eine Übersicht auf diese Zusammenhänge.

Die Co-Autorschaft von *Duilio Arigoni* in dieser Arbeit hat eine besondere Bewandnis. Er war in jener Zeit noch Doktorand in der *Jegerschen* Forschungsgruppe, hatte dort im Zuge seiner Dissertation u.a. über die Struktur-Aufklärung des tetracyclischen Triterpens Euphol gearbeitet und gefunden, dass dieses Triterpen ein Diastereoisomer des ebenfalls im *Jegerschen* Laboratorium strukturell aufgeklärten Lanosterins ist. In Kenntnis der Konfiguration des Euphols hat *Arigoni* erstmals die

1890

HELVETICA CHIMICA ACTA.

226. Zur Kenntnis der Triterpene.190. Mitteilung¹⁾.**Eine stereochemische Interpretation
der biogenetischen Isoprenregel bei den Triterpenen**

von A. Eschenmoser, L. Ruzicka, O. Jeger und D. Arigoni.

(13. X. 55.)

Für die erstmals von *K. Bloch & D. Rittenberg*²⁾ beschriebene Biosynthese des Cholesterins aus Essigsäure ist ein Schema vorgeschlagen worden, das auf der Annahme des Squalens als hypothetischem Zwischenprodukt dieser biologischen Reaktionsfolge beruht³⁾. Zu diesen Vorstellungen lieferte, neben den von der bio-

¹⁾ 189. Mitt., vgl. *Helv.* **38**, 1857 (1955).

²⁾ *K. Bloch & D. Rittenberg*, *J. biol. Chemistry* **159**, 46 (1946); vgl. auch die zusammenfassende Darstellung über die Biogenese des Cholesterins von *J. W. Cornforth*, *Review of Pure and Applied Chemistry* **4**, 275 (1954).

Abb. 13

Vermutung ausgesprochen, dass die Diastereoisomerie zwischen den beiden Triterpenen biosynthetisch dadurch zustande kommen könnte, dass in der enzymatischen Cyclisierung das eine Isomer über die Sessel-Faltung des Ringes B (Euphol), und das andere über die Wannen-Faltung des Ringes B (Lanosterin) gebildet werde. Dies implizierte ein für die damalige Zeit neuartiges Postulat, wonach Enzyme sich nicht unbedingt an die *in vitro* geltende Regel halten müssen, dass Cyclisierungen über die energetisch stabilere Sessel-Faltung ablaufen.

Die Publikationen aus den Jahren 1953 und 1955 über die biogenetische Isopren-Regel hatten wegweisenden und nachhaltigen Einfluss auf die Entwicklung sowohl der Chemie als auch der Biochemie der höheren Terpen-Verbindungen. Die Anzahl der natürlichen Vertreter der Naturstoff-Klassen Sesqui-, Di- und Triterpene und das chemisch-biochemische Wissen über sie sind in den vergangenen Jahrzehnten gewaltig angestiegen, ohne dass die damals vorgebrachten Postulate einer grundsätzlichen Revision hätten unterzogen werden müssen, vielleicht mit Ausnahme des wichtigen Befunds, dass die oxidative Initiierung der Cyclisierung des Squalens *via* ein isolierbares Zwischenprodukt, das Squalen-oxid, erfolgt. Ungezählte seither neu entdeckte Sesqui-, Di- und Triterpene haben sich in die konstitutionell und mechanistisch sich permanent erweiternde Schematik der biogenetischen Isopren-Regel eingefügt (für einen kleinen Ausschnitt aus einer von *Seiichi Matsuda* zusammengestellten Kollektion heute bekannter Triterpene, vgl. *Abb. 15*), und für

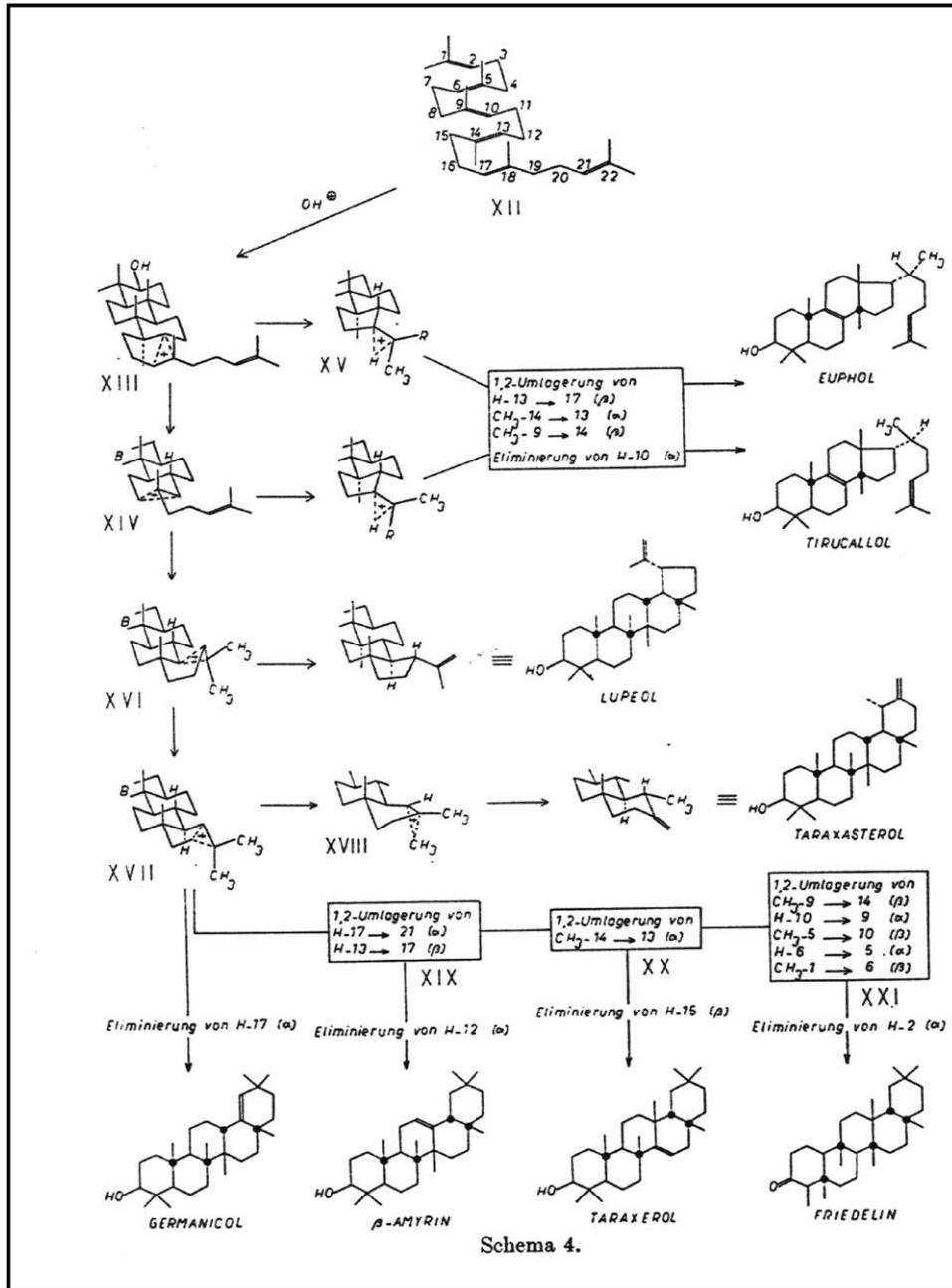
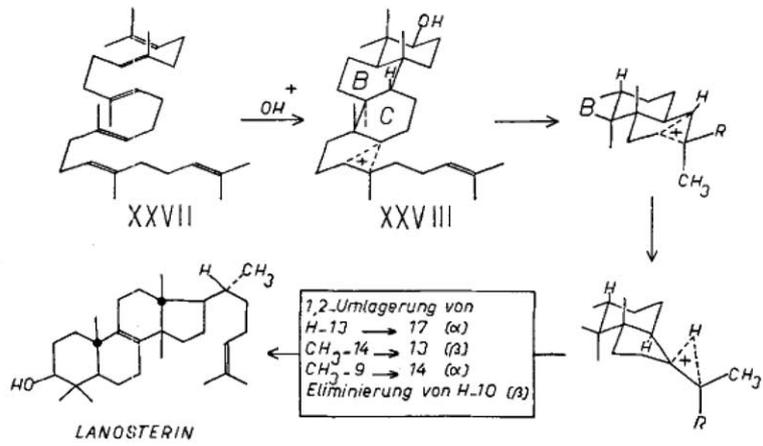
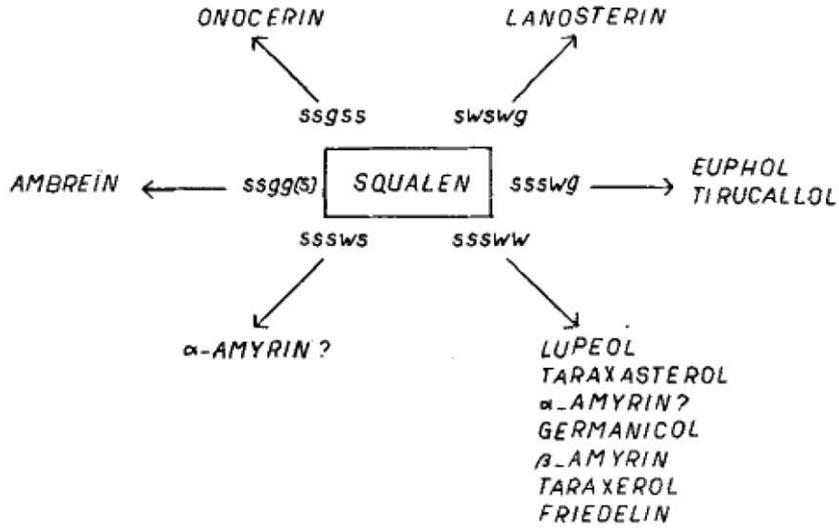


Abb. 14



Schema 6.



Schema 7.

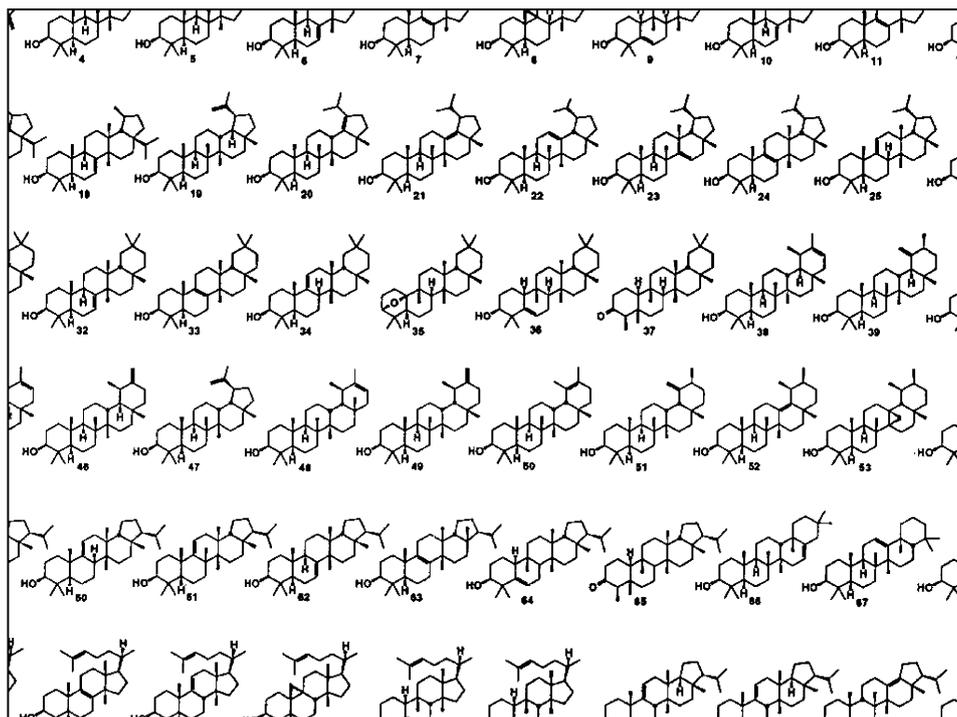


Abb. 15

biologisch so bedeutende Naturstoffe wie das Lanosterin haben Isolierung und röntgenanalytische Strukturermittlung von Cyclase-Enzymen die Richtigkeit des zentralen Postulats der konformationellen Kontrolle der Entstehung einer Triterpen-Struktur bestätigt.

Im Zusammenhang mit einem Übersichtsartikel über säurekatalysierte Polycyclisierungen kam vor einigen Jahren aus den USA die Anfrage, ob denn nicht eine englische Übersetzung der *Helvetica Chimica Acta*-Arbeit aus dem Jahre 1955 existiere. In der Tat gab es eine solche am *Scripps* Institut in La Jolla, wo *Erik Sorensen* seine deutschsprachige Doktorandin *Lucy Stark* ermuntert hatte, just eine solche Übersetzung zu erstellen. Da gerade das Jahr 2005 anstand, und sowohl mein Kollege *Arigoni* wie auch ich über Jahrzehnte hinweg ohnehin immer wieder den Eindruck hatten, dass die 1955-iger Arbeit in ihrer Rezeption anscheinend auch zu Missverständnissen geführt hatte und dass dies wohl mit der stetig höher gewordenen Sprachbarriere zwischen Englisch und Deutsch zu tun habe, entschlossen wir uns zu einem Schritt, der nur dank der Zustimmung und unkonventionell-redaktionellen Beihilfe von *M. Volkan Kısakürek* möglich war, nämlich, die redigierte englische Übersetzung im Rahmen eines aus heutiger Sicht geschriebenen, umfassenden Kommentars in der gleichen Zeitschrift zu publizieren, in der das deutschsprachige Original vor genau 50 Jahren erschienen war (*Abb. 16*). Diese 'Revisitation' der Arbeit

Revisited after 50 Years: The ‘Stereochemical Interpretation of the Biogenetic Isoprene Rule for the Triterpenes’

by Albert Eschenmoser ^{a)b)} and Duilio Arigoni ^{a)}

^{a)} Laboratory of Organic Chemistry, ETH-Hönggerberg HCL, CH-8093 Zurich, Switzerland

^{b)} The Skaggs Institute for Chemical Biology at the Scripps Research Institute, 10550 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA-92037, USA

In memoriam Leopold Ruzicka and Oskar Jeger

1. Introduction. – In the December issue of *Helvetica Chimica Acta*, 1955, we published, together with *Leopold Ruzicka*¹⁾ and *Oskar Jeger*²⁾, a paper entitled ‘*Eine stereochemische Interpretation der biogenetischen Isoprenregel bei den Triterpenen*’ [3], of which *John W. Cornforth* in 1961 wrote that it ‘*might be termed the apotheosis of the isoprene rule*’ [4]. In conjunction with a related publication by *Stork and Burgstahler* [5], which also appeared in 1955, the paper had a decisive influence on research

Abb. 16



Abb. 17

durch die zwei noch lebenden Autoren ist der Erinnerung an ihre beiden Lehrer *Leopold Ružička* und *Oskar Jeger* gewidmet (*Abb. 17*).

Corrine und Corphine

In der organischen Chemie der 50-iger und 60-iger Jahre des vergangenen Jahrhunderts stand ein Chemiker im Rampenlicht, der fast im Alleingang verantwortlich dafür war, dass der Schwerpunkt der Naturstoff-Chemie sich nach dem Krieg von Europa nach den Vereinigten Staaten von Amerika verlagerte: *Robert Burns Woodward*. Seine Meisterschaft beruhte auf einer legendären Beherrschung des neuen mechanistischen Denkens und dessen Anwendung auf die organische Naturstoff-Chemie, der Strukturermittlung nicht weniger als der Totalsynthese, und sie war verbunden mit einer Unbedingtheit in der persönlichen Hingabe an die Wissenschaft, die nicht ihres gleichen hatte. In der für die damalige Zeit neuen Art, in der er die Synthese von komplexen Naturstoffen konzipierte und durchführte, kamen sich organische Naturstoffsynthese und Kunst so nahe wie wohl noch nie zuvor. Seine Synthesen haben die junge Chemiker-Generation von damals begeistert. Mit den besten Postdoktoranden aus aller Welt erklimm er, von Synthese zu Synthese fortschreitend und gleichsam in einem Synthese-Rausch, Naturstoff-Strukturen stetig höherer Komplexität. Es war die Zeit, da es in der organischen Naturstoff-Synthese vor

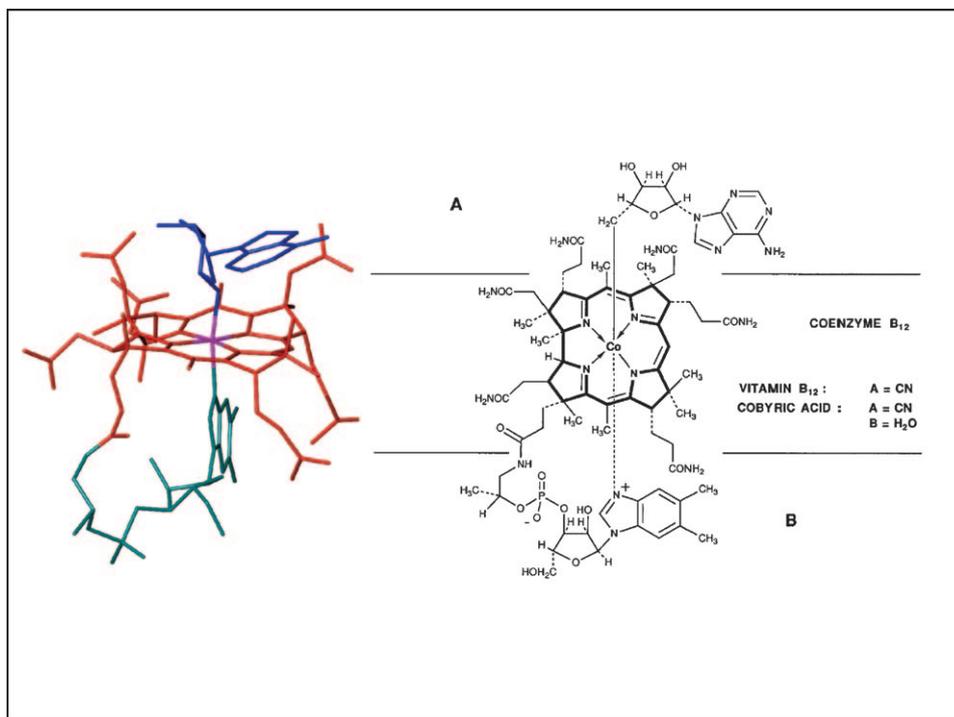


Abb. 18

allem darum ging, die Grenzen synthetisch zu bewältigender Komplexität organischer Moleküle zu sprengen. Wollte damals ein Novize der organischen Chemie sich der Forschung auf dem Gebiete der Naturstoff-Synthese widmen, hatte er seine Forschungsobjekte beziehungsweise Syntheseeziele in jenem Grenzgebiet synthetisch zu bewältigender Komplexität von Naturstoff-Strukturen zu suchen. Und so kam es, dass ich mich 1959 mit meiner jungen Doktorandengruppe nach vollendeter Synthese des Colchicins – einem ‘Gesellenstück’, dessen erfolgreiche Durchführung ich vor allem meinem unvergleichlichen Mitarbeiter und Freund *Jakob Schreiber* verdanke – vor die Herausforderung einer Totalsynthese des Vitamins B₁₂ gestellt sah (*Abb. 18*).

Mit dem Vitamin B₁₂ war erstmals die chemische Struktur eines Naturstoffs durch Röntgen-Strukturanalyse erkannt worden, bevor die klassische Methode der Struktur-aufklärung mittels chemischen Abbaus zum Ziel führte; ob mit den chemischen Methoden jener Zeit dieses Ziel für Vitamin B₁₂ überhaupt hätte erreicht werden können, ist angesichts der Komplexität und Neuartigkeit der Struktur mehr als fraglich. Sich dem Projekt einer Synthese des Vitamins B₁₂ zu verschreiben, konnte nur heissen, sich der Herausforderung der Entwicklung neuer synthetischer Methoden zu stellen und, darüber hinaus, sich auf Gedeih und Verderb auf einen Wettlauf mit *Woodward* einzulassen, denn dieser hatte gerade die Totalsynthese des Chlorophylls a vollendet und deshalb im Grunde gar keine andere Wahl, als Vitamin B₁₂ zu seinem nächsten Syntheseeziel zu machen.

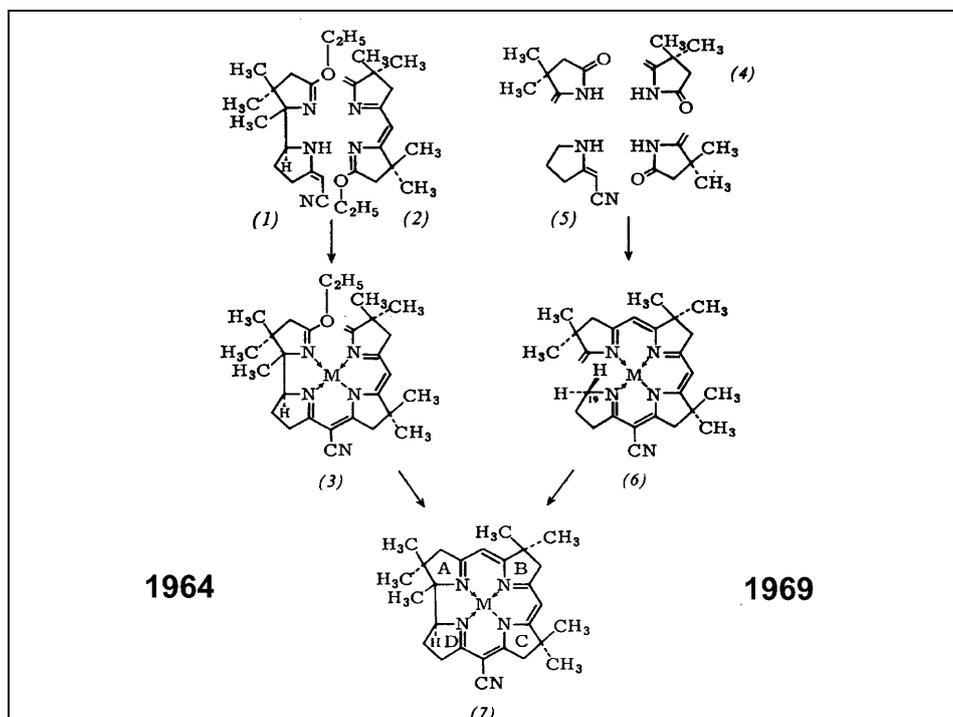


Abb. 19

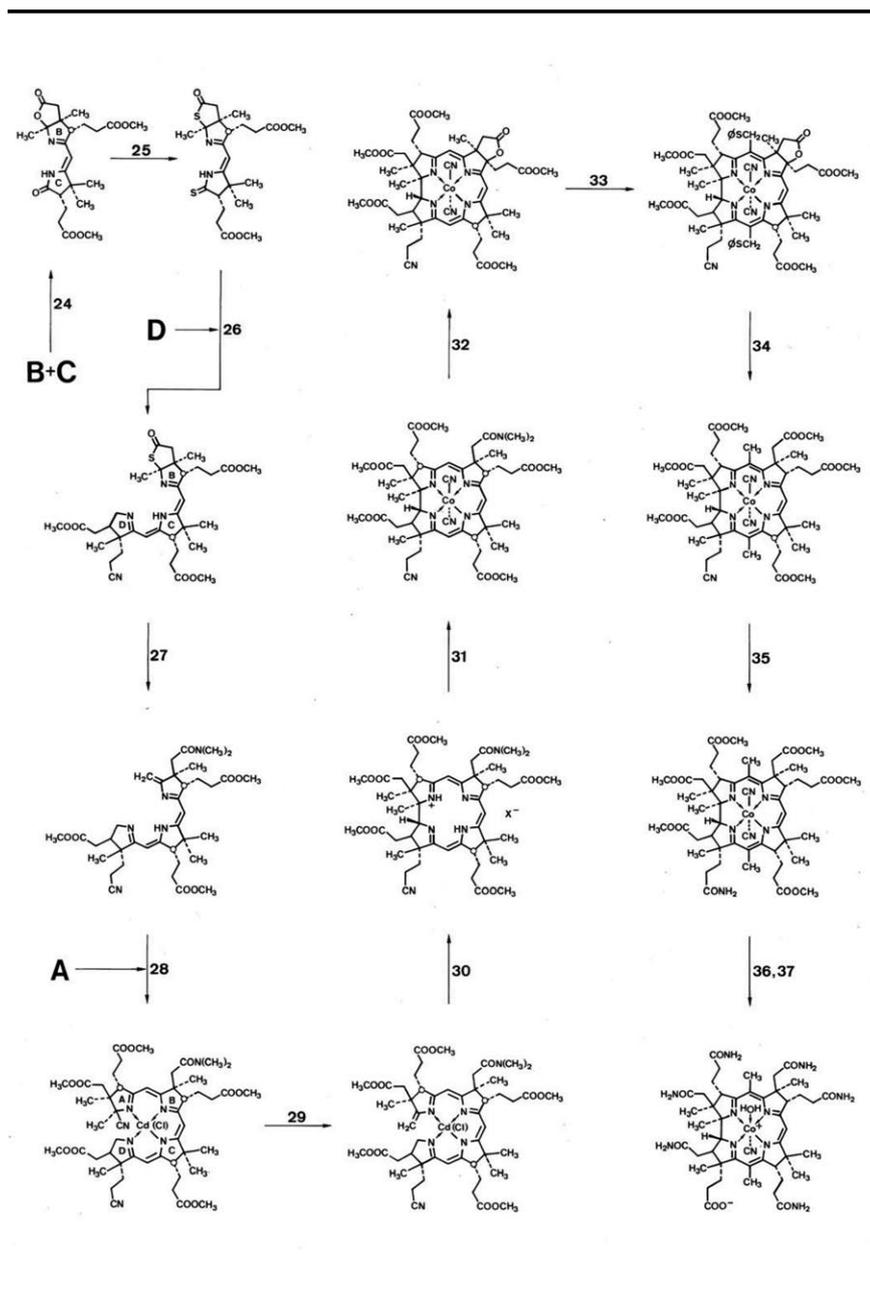


Abb. 20 (Forts.)

Neuartig an der Vitamin B₁₂-Struktur war vor allem der durch Cobalt komplexierte Corrin-Chromophor. An der ETH war deshalb die Entwicklung eines synthetischen Zugangs zum Struktur-Typ der Corrine erstes Etappenziel. Innerhalb von rund vier Jahren gelang uns die erste Synthese eines Corrin-Komplexes und fünf Jahre später, mitten im Ansturm auf den Gipfel des Vitamins B₁₂, eine neue, die photochemische (*Abb. 19*). Diese war aus methodischen Entwicklungen hervorgegangen, die wir bis dahin auf dem Wege zum Vitamin B₁₂ gemacht hatten; vor allem aber hatte die Konzeption der Kernstufe dieser neuen Strategie einer Corrin-Synthese das inzwischen verkündete *Woodward–Hoffmannsche* Prinzip der Reaktionskontrolle durch Orbital-Symmetrie zur Voraussetzung.

In der klassischen Zeit der organischen Chemie war Synthese ein Weg, die Richtigkeit mit Hilfe chemischer Methoden abgeleiteter Naturstoff-Strukturen zu beweisen. Bei unseren ersten Corrin-Synthesen war es umgekehrt: wenn man Moleküle bislang unbekannter chemischer Eigenschaften unter Anwendung bislang zum Teil unbekannter Methoden synthetisiert, ist es ratsam, auf unabhängigem Wege nachzuweisen, was man am Schluss tatsächlich in Händen hält. Dies denn ist die Gelegenheit, die wertvolle Hilfe meines Kollegen *Jack D. Dunitz* zu erwähnen, der durch die in seiner Arbeitsgruppe durchgeführten *Röntgen*-Strukturanalysen mehrerer synthetischer Präcorrin- und Corrin-Komplexe gezeigt hat, dass die synthetisierten Moleküle tatsächlich die ihnen zugeschriebene Struktur aufweisen. Durch die auf diese Weise erlangte Kenntnis der exakten Molekülstruktur von Edukten und Produkten jener neuartigen Photoreaktion, auf welcher die zweite Corrin-Synthese-strategie ruhte, hat zudem zum Verständnis eines Reaktionstyps beigetragen, der schliesslich alle unsere späteren Arbeiten über Vitamin B₁₂ und weit darüber hinaus dominieren sollte.

Die beiden in Zürich an Modellsystemen entwickelten Strategien zur Synthese von Corrin-Komplexen waren die Vorbilder der beiden anschliessend realisierten Synthesen der Cobyrssäure, der natürlichen Relais-Verbindung auf dem Wege zum synthetischen Vitamin B₁₂. Beide Synthesen wurden nicht im Wettstreit, sondern in offener Zusammenarbeit der Arbeitsgruppen an der ETH und der Harvard durchgeführt; der ursprünglich an der Harvard und an der ETH gemeinsam begangene und an der Harvard bis zum Schluss fortgesetzte Weg entspricht der Modell-Strategie aus dem Jahre 1964. An der ETH haben wir uns nach dem erfolgreichem Abschluss der zweiten Corrinsynthese-Modellstudie im Jahre 1969 auf den zweiten, den 'photochemischen Weg' zur synthetischen Cobyrssäure konzentriert und das Ziel, gemeinsam mit der Harvard-Gruppe, 1972 erstmals erreicht (*Abb. 20*); es ist dies der Weg, der uns schliesslich weit über die reine Synthetik hinaus zur eigentlichen Hinterfragung des Vitamin B₁₂-Moleküls im eigentlichen Sinne des Titels meines Vortrags geführt hat.

Der Höhepunkt des photochemischen Weges zur Cobyrssäure (*Abb. 20*) war die Reaktionsstufe 30, in welcher ein präcorrinoider Cadmium(II)-Komplex unter dem Einfluss von sichtbarem Licht bei Raumtemperatur einen auf Grund der Modellstudie aus dem Jahre 1969 zwar erwarteten, aber in der natürlichen Reihe doch überraschend effizienten und zudem hoch diastereoselektiven Makro-Ringschluss zwischen den Ligand-Ringen A und D dadurch eingeht, dass in ihm – initiiert durch die Lichtanregung des Ligand-Systems – die Wanderung eines H-Atoms der Methylen-Gruppe des Ringes D an die Methylen-Gruppe des Ringes A voran- oder einhergeht. Der als primär gebildetes Cyclisierungsprodukt anzunehmende Cadmium(II)-Corrin-

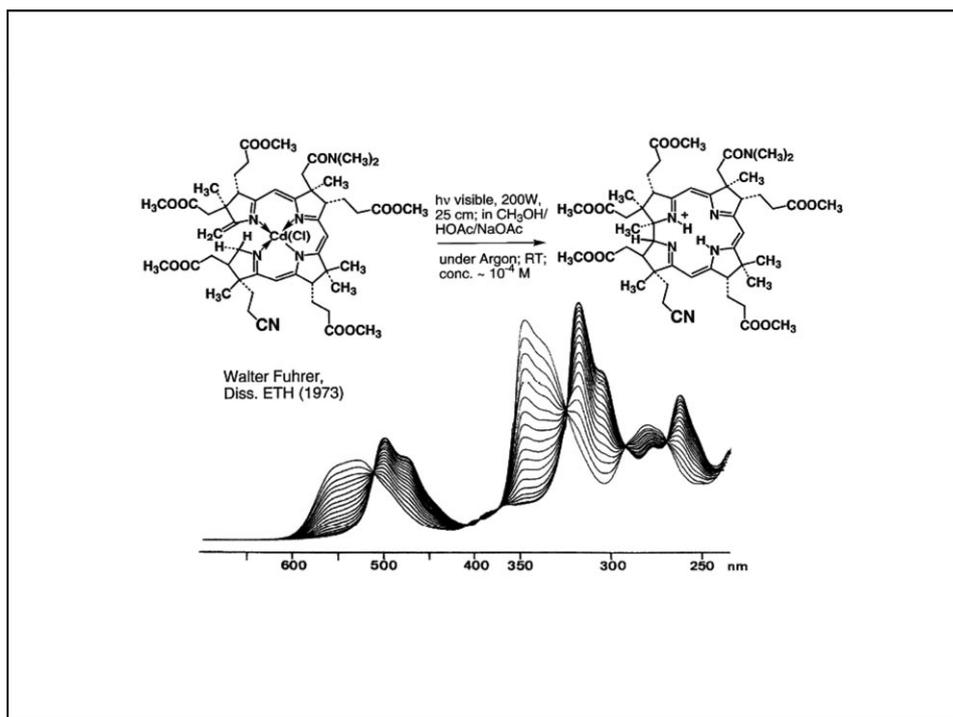


Abb. 21

Komplex wird unter den Reaktionsbedingungen solvolytisch entmetalliert, da der makrocyclische Corrin-Ligand das Cd^{II} -Ion schwächer koordiniert als der präcorrinoider Ligand (Abb. 21).

Nach Abschluss der Synthese des Vitamins B_{12} haben wir den in vielen Beziehungen aussergewöhnlichen photochemischen Ringschluss-Prozess an konstitutionell einfacheren Modellen eingehend untersucht (Abb. 22). Die Reaktion erfolgt nur in Metall-Komplexen präcorrinoider Liganden, und zwar nur in solchen, deren Metall-Ion sich als photochemisch 'harmlos' erweist, d. h. die Photoaktivierung des Ligand-Chromophor-Systems nicht (oder genügend langsam) intramolekular löscht. Versuche mit der an der CH_2 -Gruppe des Ringes D deuterierten Verbindung zeigten, dass ein H-Atom tatsächlich von der CH_2 -Gruppe des Ringes D zum endständigen C-Atom der Methyliden-Gruppe des Ringes A wandert. Die Reaktion des Zn^{II} - und Cd^{II} -Komplexes wird durch Luftsauerstoff sowie durch typische Triplet-Quencher unterbunden, offenbar ist die Cyclisierung eine Eigenschaft eines angeregten Triplet-Zustandes des Präcorrin-Liganden. Die Cyclisierung in diesen beiden Metall-Komplexen verläuft unübersehbar autokatalytisch: Licht-angeregter Produkt-Komplex sensibilisiert den Edukt-Komplex dadurch, dass er dessen Liganden in den Triplet-Zustand zu heben vermag, und zwar rascher, als er selbst sich elektronisch entregt. Die freie Methyliden-Gruppe am Ring A des Präcorrin-Komplexes scheint die Rolle eines 'Blitzableiters' zu spielen, indem sie eine rasche strahlungslose Deaktivierung der direkten Lichtanregung ermöglicht. Der

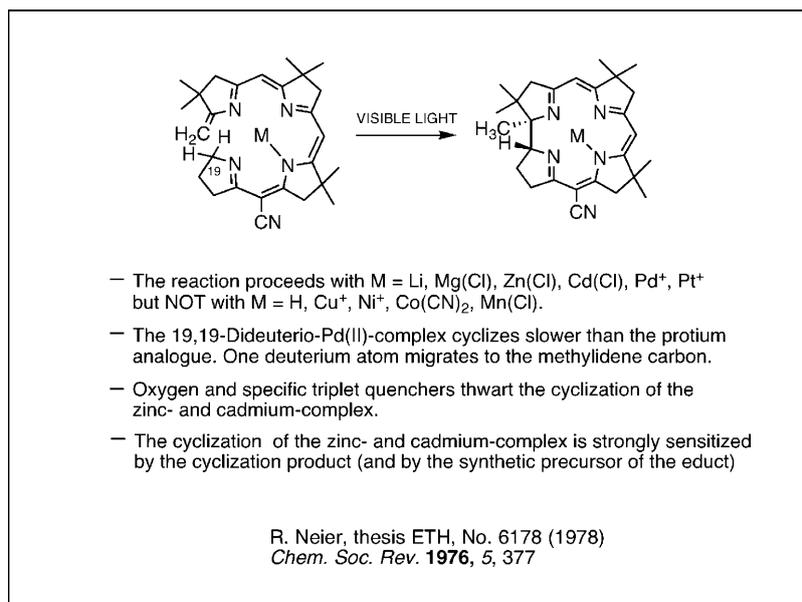


Abb. 22

ringschluss-aktive Triplet-Zustand des Edukts ist nur *via* Sensibilisierung durch Chromophor-Systeme zugänglich, die keine solche Methyliden-Gruppe aufweisen.

Die Entdeckung der photoinduzierten A/D-Präcorrin-Corrin-Cycloisomerisierung hatte die chemische Synthese des Vitamins B₁₂ derart radikal vereinfacht, dass die Frage aufkommen musste, ob nicht auch die Natur diese Art Ringschluss-Strategie zum Aufbau der Vitamin B₁₂-Struktur benutzt (Abb. 23). Über die Biosynthese des Vitamins war zu jener Zeit, was den detaillierten chemischen Mechanismus anbetrifft, noch kaum etwas bekannt. Dass die B₁₂-Biosynthese indessen etwas mit einer Photoreaktion zu tun haben könnte, war von vornherein ausgeschlossen, denn man wusste, dass die mikrobiologische Produktion des Vitamins in riesigen Reaktoren der Industrie in völligem Dunkel erfolgt. Doch gibt es vielleicht 'Dunkelvarianten' der A/D-Präcorrin-Corrin-Cycloisomerisierung? Es war dies die Frage, der wir in der Folge auf experimentellem Wege systematisch nachgegangen sind, und die uns in unseren Arbeiten über Vitamin B₁₂ ein ganz neues Kapitel beschert hat (Abb. 24).

Am Ausgangspunkt hatte die etwas abenteuerliche Frage gestanden, ob man vielleicht die Lichtanregung des präcorrinoiden Chromophors dadurch 'simulieren' könnte, dass man in einem elektrochemischen Zyklus dem System zuerst oxidativ ein Elektron entnimmt, und anschliessend dem dadurch gebildeten Radikal-Kation ein (hochenergetisches) Elektron reduktiv zurückgibt, um damit im Dunkeln zu dem im Zentrum der Abb. 24 formulierten, als Zwischenprodukt der photoinduzierten Cycloisomerisierung gedachten Systems zu gelangen, das formal ja nichts anderes als ein ylidisches Valenz-Isomer des Corrin-Systems vorstellt. *Bernhard Kräutler* konnte in seiner Doktorarbeit zeigen, dass man zu diesem Ergebnis zwar tatsächlich gelangen kann, doch erwies sich die Redox-Chemie von Präcorrinen weitaus komplexer als jene

The biosynthesis of vitamin B12 in microorganisms was known to proceed in the dark.
Are there “**dark variants**” of the photochemical A/D-secocorrin-corrin cyclo-isomerization?

Abb. 23

‘romantische’ Ausgangsidee verheissen hatte. Unter den in *Abb. 24* in abstrahierter Form aufgeführten, im Laufe von Jahren an Modellsystemen aufgefundenen A/D-Präcorrin-Corrin-Cyclisierungen erwies sich auch die von einem im Ring D dehydrierten Präcorrin-Komplex ausgehende, (elektrochemisch) reduktive Variante als mechanistisch komplizierter, während sich die decarboxylative Variante und die damit verwandte Cyclisierung eines entsprechenden 19-Formyl-präcorrin-Komplexes als sozusagen ‘einfache Aldolisierungen’ herausstellten. Den Höhepunkt der Exkursion ins mechanistische Plateau der A/D-Corrin-Ringschlüsse bildete schliesslich die mit der natürlichen Bildung des Corrins-Chromophors am engsten verwandte Ring-Kontraktion von Co^{II} - und Ni^{II} -Komplexen des 20-Hydroxy-20-methyl-1,20-dihydro-corphins zu entsprechenden 19-Acetylcorrin Komplexen.

Diese Entdeckung eines ganzen Spektrums an sich mechanistisch verwandter, jedoch konstitutionell recht unterschiedlicher Ringschluss-Varianten, in denen der makrocyclische Ring des Corrins-Chromophors zwischen den peripheren Ringen A und D geschlossen wird, hatte unsere Sicht auf die Vitamin B_{12} -Struktur und deren Synthese drastisch und nachhaltig verändert. Hatte zu Beginn der Arbeiten über die Synthese des Vitamins B_{12} der Strukturbereich rund um die A/D-Ringverknüpfung als das nicht nur konstitutionell, sondern vor allem auch stereochemisch schwierigste Problem einer solchen Synthese erschienen, so hat uns die Existenz einer ganzen Palette von solchen A/D-Präcorrin-Corrin-Ringschlüssen nahe gelegt, dass eigentlich das Gegenteil zutrifft, dass dieser Strukturbereich – dessen Synthese das Äusserste an *Woodwardscher* Synthesekunst erfordert hatte und tatsächlich auch zum Paradestück des Harvard-Beitrags zum B_{12} -Projekt wurde – sich als ein synthetisch einfacher Molekülteil des Naturstoffs offenbart, vorausgesetzt, man geht seine Synthese von der richtigen,

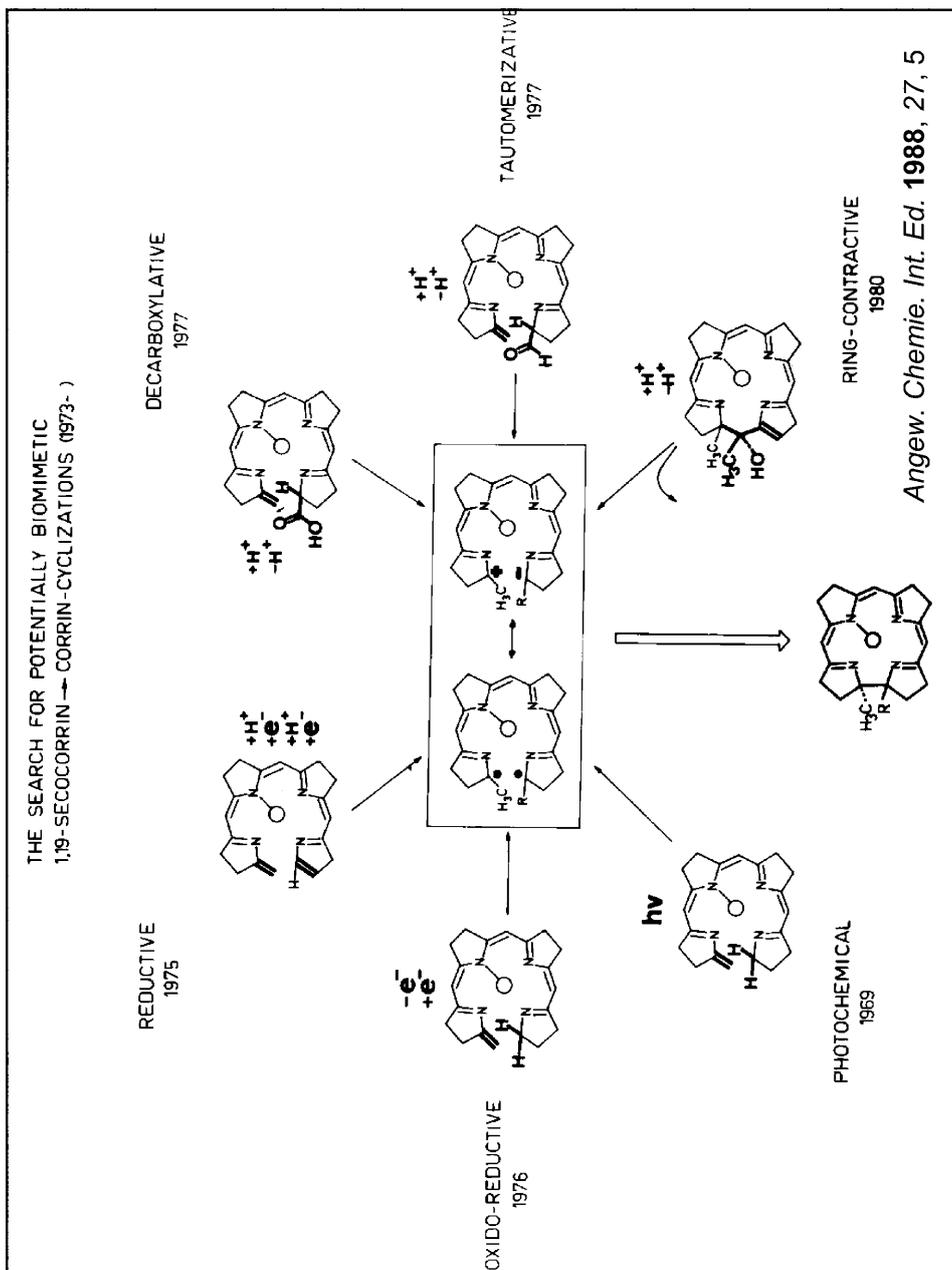


Abb. 24

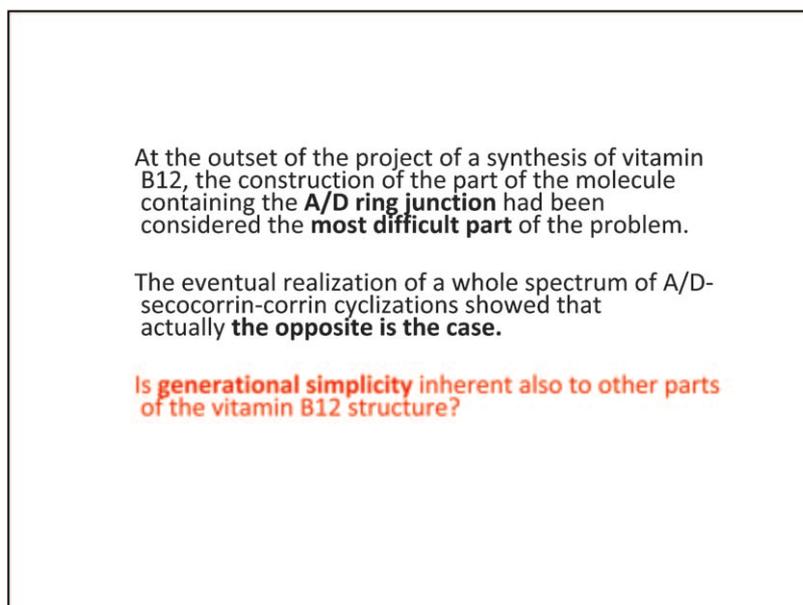


Abb. 25

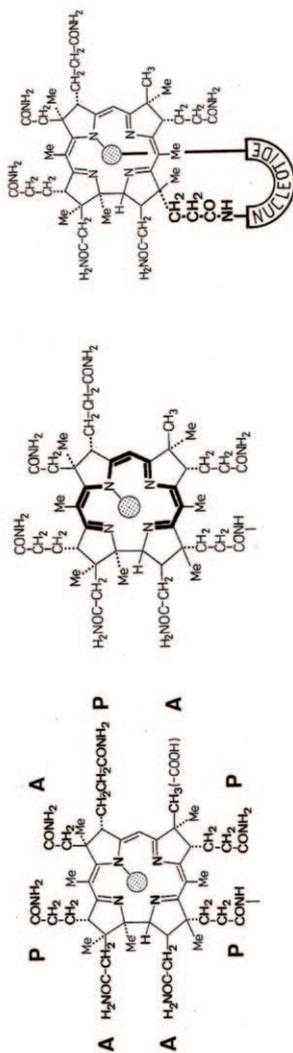
d.h. der offenbar von der Natur in der B₁₂-Biosynthese beschrifteten Seite an (Abb. 25). Diese Einsicht führte unmittelbar zur Frage: gilt die Vermutung, wonach die Komplexität eines Strukturteils des Vitamin B₁₂-Moleküls eine nur scheinbare ist, auch für andere Strukturbereiche des Biomoleküls? Dies war das Startsignal zum Versuch einer umfassenden experimentellen Hinterfragung der Vitamin B₁₂-Struktur durch eine systematische Offenlegung ihrer intrinsischen Einfachheit und damit des Gegenteils dessen, was sie äusserlich zu sein vorgibt.

Nebst der A/D-Ring-Verknüpfung waren es vor allem drei zusätzliche Strukturelemente, die uns vorab einer solchen experimentellen Hinterfragung zugänglich schienen: die konstitutionelle Anordnung der Essigsäure- und Propionsäure-Ketten an der Peripherie des Moleküls, die Chromophor-Struktur des Corrin-Liganden, und schliesslich die Anknüpfung der Nukleotid-Kette an der Propionsäure-Seitenkette des Ringes D (Abb. 26).

Die Frage nach der besondern Anordnung der peripheren Seitenketten war die einfachste und zudem – da der generelle Vorläufer der natürlichen Porphyrine, Uroporphyrinogen (Typ III), als Zwischenprodukt der Biosynthese von Vitamin B₁₂ seinerzeit bereits bekannt war – eine Frage, deren Beantwortung bereits feststand. Nichtsdestoweniger ist diese Anordnung für eine Ätiologie der Vitamin B₁₂-Struktur von exemplarischer Bedeutung. Unter den vier möglichen konstitutionsisomeren uroporphyrinogenen Typen I, II, III und IV (vgl. Abb. 27) ist das symmetrieärmste Isomere, Typ III, das statistisch zu erwartende Hauptprodukt einer thermodynamischen Reaktionskontrolle der Tetramer-Bildung des monopyrrolischen Porphobilinogens. Dass dem tatsächlich so ist, war von *David Mauzerall* experimentell nachgewie-

Vitamin B₁₂: Experiments Concerning the Origin of Its Molecular Structure

Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 27 (1988) 5–39



Type-III pattern of
Acetic and Propionic acid
side chains

Chromophore

Site of attachment of
nucleotide chain

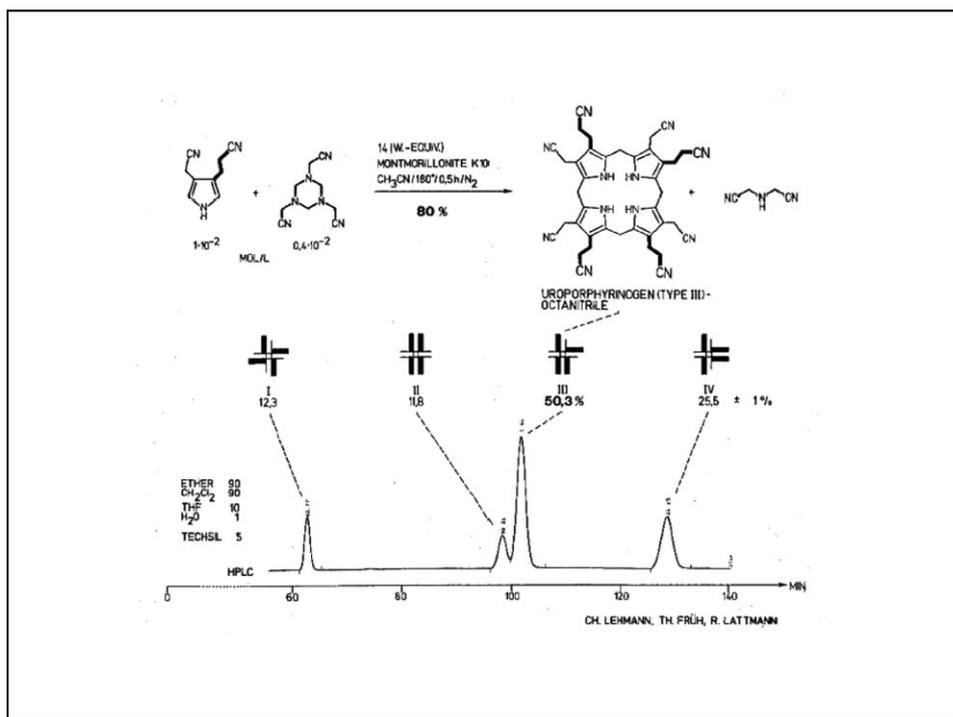


Abb. 27

sen worden; wie exakt theoretische Erwartung und Experiment übereinstimmen können, zeigt das Ergebnis des in unserer Gruppe durchgeführten und in *Abb. 27* wiedergegebenen Experiments. Das Phänomen kann die Rationalisierung der Tatsache bedeuten, warum in den natürlichen Porphyrinen die Verteilung der Essigsäure- und Propionsäure-Seitenketten jener des Typs III des Uroporphyrinogens entspricht, ein Vorschlag, der die Hypothese eines prä-enzymatischen Ursprungs der natürlichen Porphyrin-Struktur nahelegt. Die auf der Ebene des Uroporphyrinogens unter thermodynamischen Bedingungen stabilste Typ-III-Anordnung der Seitenketten kann als konstitutionelles Fossil des Ursprungs der natürlichen Porphinoide betrachtet werden. In diesem Sinne birgt das Vitamin B_{12} -Molekül auch in der speziellen Anordnung seiner peripheren Seitenketten eine innere Einfachheit (*Abb. 28*).

Das für die biologische Funktion des Vitamin B_{12} -Moleküls wohl wichtigste Struktur-Element ist das durch Cobalt komplexierte, corrinoide Ligand-System. Durch seinen charakteristischen hydrophorinoiden Chromophor unterscheidet es sich markant von anderen porphinoiden Ligand-Systemen. In wie weit nun auch dieses Struktur-Element dem Postulat von der inneren Einfachheit der Vitamin B_{12} -Struktur entspricht, zeigen die Ergebnisse einer Reihe von Experimenten, die im Zuge einer systematischen Untersuchung der Chemie der *Corphine*, einer in diesem Zusammenhang entdeckten neuen Klasse von porphinoiden Chromophor-Systemen, durchgeführt wurden.

The particular **type-III pattern** of the acetic and propionic acid side chains at the periphery of vitamin B₁₂ (and in other natural porphyrinoids) corresponds to the **statistically preferred pattern** among the four possible types of uroporphyrinogen structures

Abb. 28

Zwingt man in apolarem Medium den vier voneinander isolierten Pyrrol-Ringen eines Porphyrinogens (z.B. dem leicht zugänglichen Typ-I-Uroporphyrinogen, vgl. *Abb. 27*) ein Metall-Ion wie Mg^{II} oder Zn^{II} auf, so bilden sich unter tief greifender Tautomerisierung des gesamten Doppelbindungssystems entweder neutrale Metall-Komplexe des Pyrrocorphins (*Abb. 29*), oder entsprechende mono-kationische Komplexe des Corphins. Vor allem das Chromophor-System des Corphins (vgl. *Abb. 31*) entspricht im Bereiche der Ringe A, B und C völlig jenem des Corrins, unterscheidet sich aber von diesem in der Ring-Grösse und im Oxidationszustand. Demetalliert man einen Pyrrocorphin- oder Corphin-Komplex und unterwirft man den frei gewordenen Liganden milden isomerisierenden Bedingungen, so tautomerisiert dieser vollständig zurück zum Porphyrinogen. In der Reihe der hexahydro-porphinoiden Ligand-Systeme unter komplexierenden, jedoch nicht-oxidierenden Bedingungen erweist sich somit das Corphin-System mit seiner corrinoiden Anordnung der Doppelbindungen als thermodynamische Mulde (*Abb. 30*).

Diese experimentellen Beobachtungen waren es, die unsere Aufmerksamkeit darauf lenkten, wie ausgesprochen 'chemomimetisch' doch der Biosynthese-Weg zur Familie der porphinoiden Biomolekülen sich uns präsentiert, angefangen von der Selbstkondensation der Aminolävulinsäure zum Porphobilinogen, dessen Tetramerisierung zum thermodynamisch stabilsten Typ III des Uroporphyrinogens, und nun die tautomerisierende Komplexierung dieses Strukturtyps zu Metall-Komplexen des Corphins, welches ein Chromophor-System aufweist, das *fast* mit jenem des Vitamins B₁₂ übereinstimmt. Und so ergaben sich ganz natürlich die nächsten Fragen: Warum ist Vitamin B₁₂ ein Derivat des Corrins, und nicht des Corphins? (*Abb. 31*). Hat dies Gründe, die mit der biochemischen Funktion des Cofaktors zusammenhängen? Worin

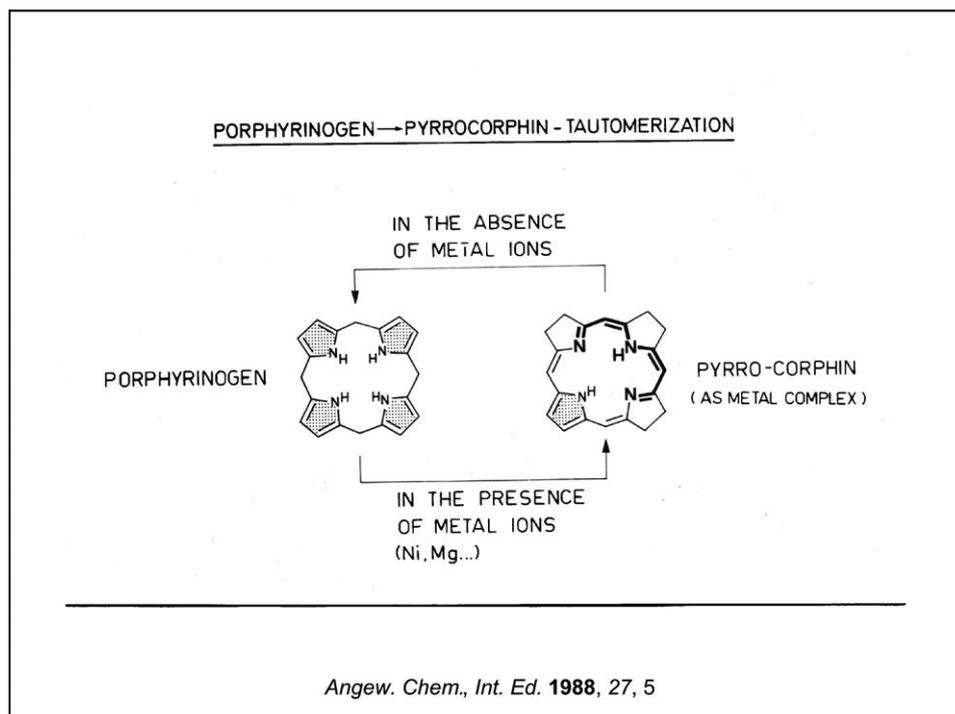


Abb. 29

The corrinoid (corphinoid) type of chromophore
corresponds to a **thermodynamically favored
arrangement** of the **double bonds** in hexahydro-
porphinoid metal complexes
(but not in free ligands)

Abb. 30

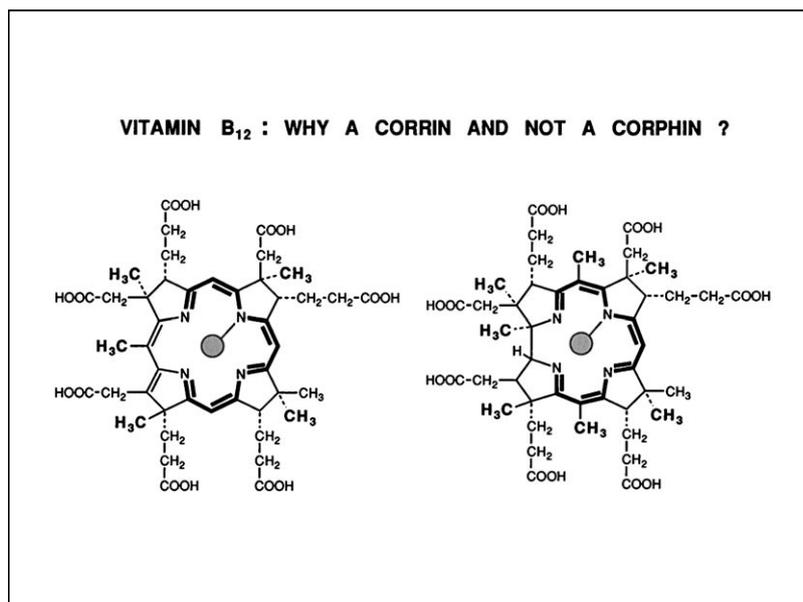
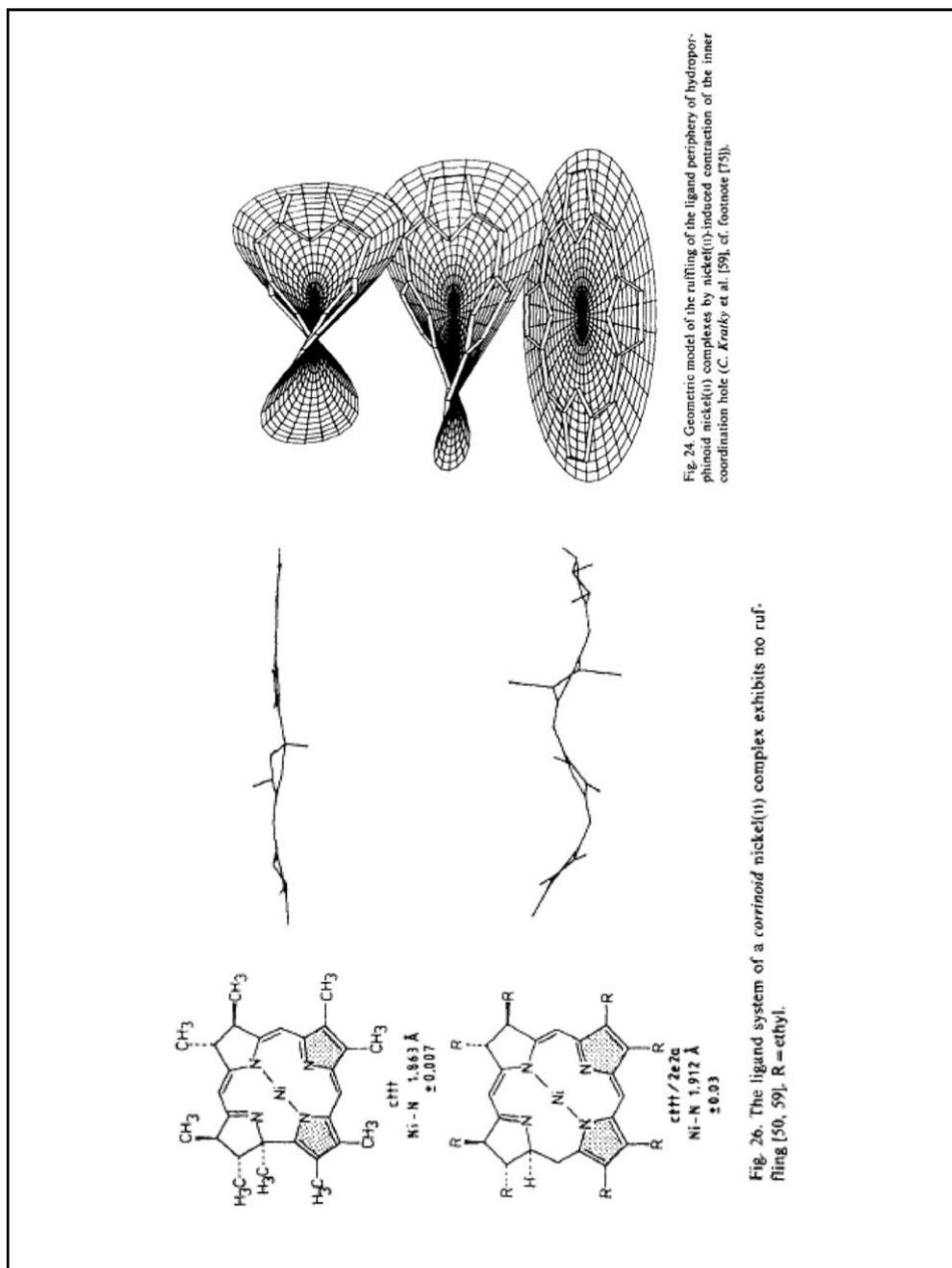


Abb. 31

unterscheiden sich die chemischen Eigenschaften von Corphin-Cobalt-Komplexen von jenen entsprechender Corrin-Komplexe? Und somit war einmal mehr eine im Grunde ominöse Frage nach dem ‘Warum’ auf chemischer Ebene in eine experimentell zugängliche Frage umgewandelt.

Abb. 32 zeigt das Ergebnis von zwei *Röntgen*-Strukturanalysen aus dem Laboratorium von *Christoph Kratky* (aus der Schule von *J. D. Dunitz* stammend) von zwei in unserem Laboratorium synthetisierten Ni^{II}-Komplexen. Diese unterscheiden sich vor allem in der inneren Ring-Grösse des Ligand-Systems; im oberen Komplex entspricht sie einem 15-gliedrigen Corrin-Ring, im unteren einem 16-gliedrigen Corphin-Ring. Die Seitenansichten der beiden Strukturen zeigen einen ausgeprägten Unterschied in der Geometrie des Ligand-Systems im Bereiche der ansonsten elektronisch identischen Koordination des Ni^{II}-Ions: Im Gegensatz zur flachen Geometrie des corrinoiden Komplexes weist das corphinoide Ligand-System eine ausgeprägte Wellung seines peripheren Bezirks auf. Was dies bedeutet, zeigt eine *Kratkysche* geometrische Analyse, deren Ergebnis aus den abstrakten Figuren rechts im Bild zu entnehmen ist: Ein auf die Essenz abstrahierte geometrische Modellfigur eines Ni^{II}-Komplexes, welche bei Vorgabe von natürlich-optimalen (Ni–N)-Bindungslängen planar ist, deformiert sich bei Einhaltung dieser Bindungslänge zunehmend, je mehr die Distanz zwischen virtuellem Metall-Zentrum und den vier Koordinationszentren im Vergleich zu dieser optimalen Bindungslänge zunimmt. Die für die beiden Komplexe beobachteten *Röntgen*-Strukturen legen die Auffassung nahe, dass die vom Corrin-Liganden für die (Ni–N)-Koordination angebotene Distanz anscheinend optimal, im Corphin-Liganden jedoch zu gross ist. In der Tat weisen in diesem Zusammenhang angestellte, vergleichende Untersuchungen an Co^{II}-Komplexen von synthetisch



The (ring-contracted) corrin ligand provides a **better spatial coordination fit** to nickel-(II) and cobalt-(III) ions than corresponding hexahydro-porphinoid (corphinoid) ligand systems

Abb. 33

hergestellten Corrin- und Corphin-Komplexen darauf hin, dass sich die Bereitschaft zu Koordination axialer Liganden in den beiden Reihen in erwarteter Weise deutlich unterscheidet.

Dass ein Corrin-Ligand einem Ni^{II}- und einem Co^{III}-Ion einen thermodynamisch besseren ‘Koordinationsfit’ (Abb. 33) anzubieten vermag als ein Corphin-Ligand, geht besonders überzeugend aus dem in Abb. 34 wiedergebenden Experiment hervor. Sowohl der Ni^{II}- wie auch der Dicyano-Co^{III}-Komplex des 20-Hydroxy-20-methylcorphin-Liganden gehen bei kurzem Erhitzen auf ihre Schmelztemperaturen (über 250°) in hoher Ausbeute in die entsprechenden 19-Acetyl-corrin-Komplexe über; durch eine verkappte Benzoin-Umlagerung erfolgt dabei die ‘Ausstülpung’ einer C-Acyl-Gruppe, was sowohl die Änderung der Ringgliederzahl, als auch die des Oxidationszustands des Ligand-Systems mit sich bringt. Die am Ni-Komplex demonstrierte, hydrolytische Ablösung der C-Acyl-Gruppe als Essigsäure simuliert einen Reaktionstyp, der – wie man heute weiss – in der Biosynthese von Vitamin B₁₂ eine zentrale Rolle spielt.

Für die Synthese der beiden Corphin-Komplexe (Abb. 35), die wir für die letztgenannten Experimente benötigten, verspüre ich immer noch eine gewisse ‘Nostalgie’, vereinigt sie doch in sich eine ganze Palette von ‘nicht-ganz-trivialen Reaktionen’, die alle ihren Ursprung in Arbeiten aus unserem Laboratorium jener Zeit hatten.

Nun komme ich zum letzten Vitamin B₁₂-Strukturelement, dessen innere Einfachheit blosszulegen wir uns herausgefordert fühlten: die Anknüpfung des Nukleotid-Molekülteils an der Propionsäure-Seitenkette des Ringes D. Von den insgesamt sieben peripheren Carboxyl-Funktionen befinden sich vier Propionsäureketten auf derselben Seite der Chromophor-Ebene, und eigentlich kämen doch alle vier gleicherweise für

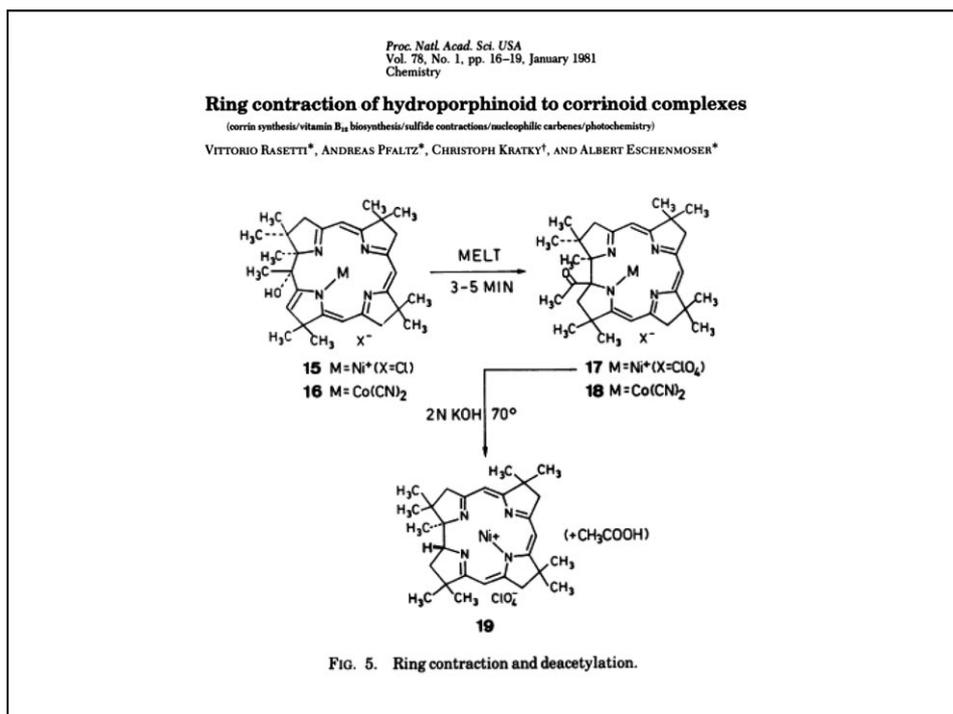


Abb. 34

eine Anknüpfung der Nukleotid-Kette in Frage. Rund ein Jahrzehnt nach Abschluss der Cobyrinsäure-Syntheseprojekts schienen uns die bis dahin gemachten experimentellen Beobachtungen zur Ätiologie der Vitamin B₁₂-Struktur derart konsistent in immer dieselbe Richtung zu weisen, dass wir schliesslich fast sicher waren, dass die natürliche Nukleotid-Anknüpfung an die Propionsäure-Seitenkette des Ringes D unter allen vier Möglichkeiten sich als die thermodynamisch günstigste herausstellen würde. Diese Erwartung hat sich im Ergebnis des in *Abb. 36* dargestellten Experiments in einer Deutlichkeit bewahrheitet, die uns überrascht hat.

In der chemischen Forschung auch dann überrascht zu sein, wenn ein Ergebnis sich einstellt, das eigentlich erwartet wurde, muss nicht unbedingt ein Widerspruch bedeuten; dies lehrt uns die Erfahrung und die Einsicht in die Bedingtheit chemischer Hypothesen. Jeder Planungsschritt in einem Syntheseprojekt ist eine Hypothese, und je gewagter diese ist, umso überraschter darf und muss man im Grunde sein, wenn sie sich als zutreffend erweist.

In jenem Experiment wurde Cobyrrinsäure-heptakis(cyanomethyl)ester mit dem inneren Ammonium-Salz des freien Nukleotid-Teils unter den aus *Abb. 36* ersichtlichen Bedingungen (hohe Verdünnung) umgesetzt und nach langer Reaktionszeit nebst Ausgangsmaterial als Reaktionsprodukt im wesentlichen nur Vitamin B₁₂ und keines der möglichen Isomere beobachtet. Hintergrund dieses Experiments war die Vorstellung, dass auf der Chromophor-Unterseite der Dimethylbenzimidazol-Teil der

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 78, No. 1, pp. 16–19, January 1981
Chemistry

Ring contraction of hydroporphinoid to corrinoid complexes

(corrin synthesis/vitamin B₁₂ biosynthesis/sulfide contractions/nucleophilic carbenes/photochemistry)

VITTORIO RASETTI*, ANDREAS PFALTZ*, CHRISTOPH KRATKY†, AND ALBERT ESCHENMOSER*

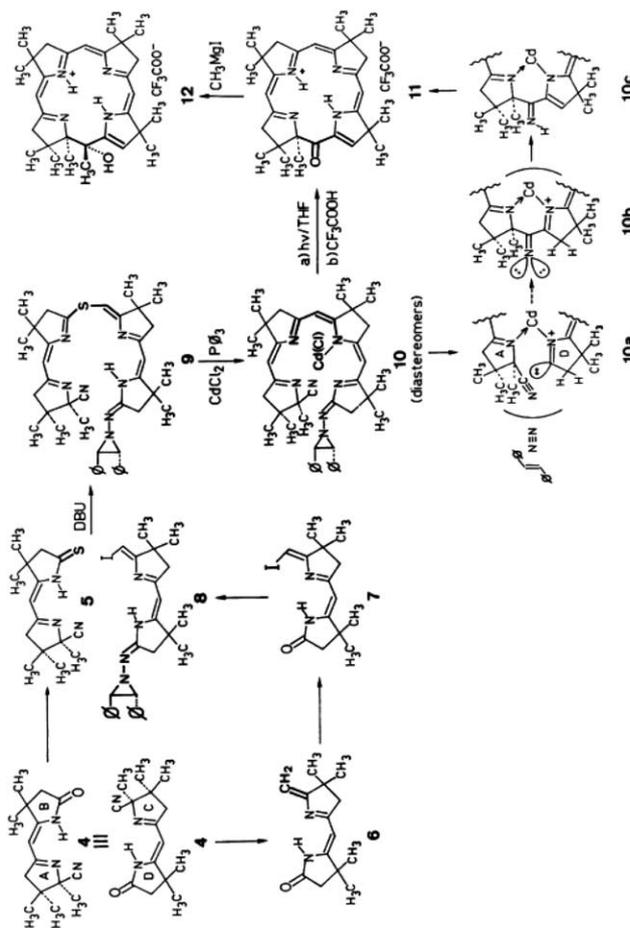


Fig. 3. Synthesis of 12, THF, tetrahydrofuran; DBU, 1,5-diazabicyclo[5.4.0]undec-5-ene.

Abb. 35

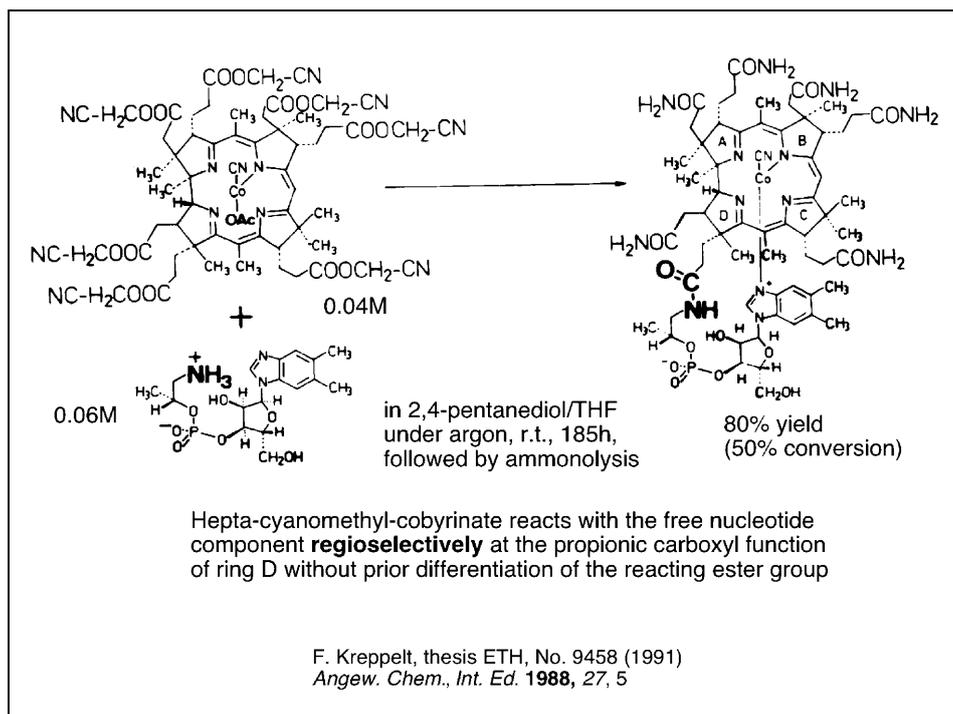


Abb. 36

Nukleotid-Kette *reversibel* mit dem Co^{III} -Ion komplexiert, und die NH_2 -Gruppe am anderen Ende der Kette selektiv mit jener der vier aktivierten Carboxy-Funktionen *intramolekular* reagiert, welche statistisch ihr räumlich am nächsten kommt. Dies ist bei jener Carboxy-Funktion der Fall, bei welcher die von der 19-gliedrigen Ringstruktur der Nukleotid-Kette *nach* erfolgter Amidierung auferlegte Konformation möglichst weitgehend der bevorzugten Konformation der am Co-Atom komplexierten, jedoch sonst noch freien Nukleotid-Kette *vor* der Amidierung entspricht. Entscheidend für das Gelingen des Experiments ist die besondere Art der Aktivierung der insgesamt sieben Carboxy-Funktionen: das Ausmass der Aktivierung muss gerade ausreichen, um die konformationell günstigste der möglichen *intramolekularen* Amidierungen zu ermöglichen, doch keiner weiteren, von intermolekularen Amidierungen ganz abgesehen. Vom Reaktionsergebnis einer kinetischen Kontrolle auf relative thermodynamische Produktstabilität zu schliessen (*Abb. 37*) ist an sich 'illegal', hier aber doch wohl zwingend.

Thermodynamische Bevorzugung des Strukturtyps III auf der Konstitutionsebene des Uroporphyrinogens (und damit auch die Typ III-Anordnung im Molekül des Vitamins B_{12}), thermodynamische Bevorzugung des Corphin-Ligand-Systems im Gleichgewicht zwischen hexahydroporphinoiden Metall-Komplexen, thermodynamisch getriebene Ring-Kontraktionen von Corphin- zu Corrin-Komplexen, sowie schliesslich die unter vier Möglichkeiten thermodynamisch günstigste Ring-D-Ver-

The specific attachment of the nucleotide chain to the propionic acid side chain of ring D is the **conformationally preferred attachment** among the (seven) possible isomeric attachments

Abb. 37

The structural complexity of coenzyme B12 is an **“apparent” complexity**.
When approached from the “right” (= the natural) direction, the coenzyme’s corrinoid ligand structure reveals itself as having an intrinsic **generational simplicity**

Are **all** fundamental molecular constituents of Life generationally intrinsically simple?

Abb. 38

knüpfung der Nukleotid-Kette im Vitamin B₁₂-Molekül: es sind dies – zusammen mit der experimentell erwiesenen Existenz einer ganzen Palette von A/D-Präcorrin-Corrin Ringschluss-Prozessen – alles Einblicke sozusagen *hinter* die Vitamin B₁₂-Struktur, sie

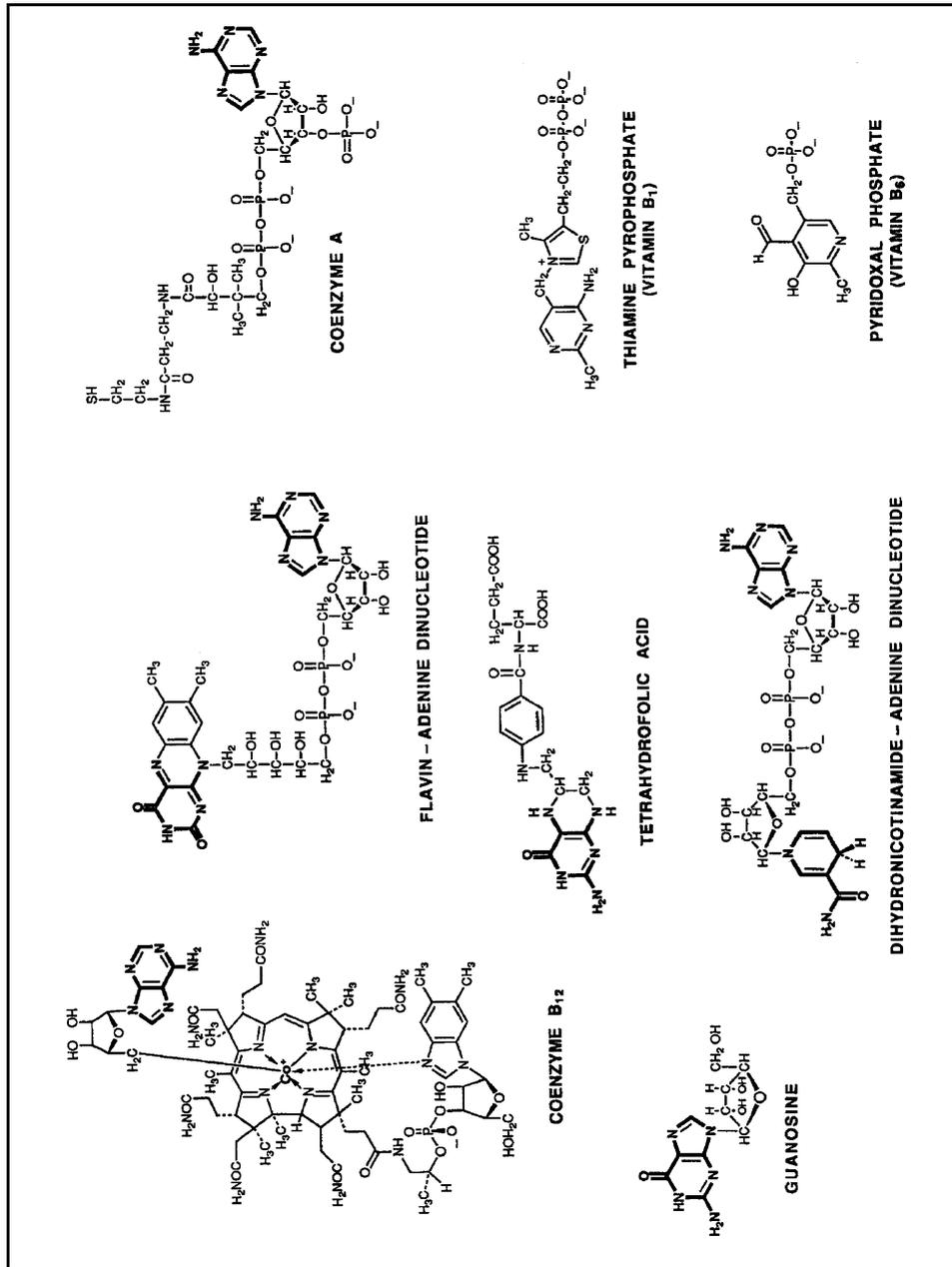


Abb. 39

alle weisen in die gleiche Richtung, auch wenn sie experimentell und argumentativ aus bruchstückhaften Quellen stammen: die auf chemischer Ebene äusserlich wahrzunehmende Komplexität der Vitamin B₁₂-Struktur ist eine scheinbare Komplexität; dahinter versteckt sich eine innere generative Einfachheit, die sich dann offenbart, wenn man sich der Struktur von der ‘richtigen’, d.h. der von der Natur benutzten Seite her annähert (*Abb. 38*). Mit diesem Bezug auf die Natur ist nicht nur der Gang der contemporären Biosynthese(n) des Vitamins B₁₂ gemeint, sondern vor allem auch der im Dunkel liegende Ursprung dieser Biosynthese(n). Dieser Ursprung ist eine der Determinanten der Vitamin B₁₂-Struktur.

Wenn es wahr ist, dass der äusserlich komplexeste der heute uns bekannten biochemischen Cofaktoren, das Coenzym B₁₂, in seiner Struktur eine innere generative Einfachheit verbirgt, trifft dann Gleiches auch für andere Cofaktoren zu? Zwar sind sie alle einfacher gebaut als Coenzym B₁₂ (*Abb. 39*), doch durch ihren Gehalt eines ‘exotisch anmutenden’, für die biochemische Funktion des Cofaktors chemisch verantwortlichen Heterocyclus und von immer wiederkehrenden, an Nukleinsäuren erinnernden Struktur-Elementen, scheinen sie alle miteinander verwandt zu sein. Die Vorstellung, dass Cofaktoren, diese essentiellen Bestandteile heutiger Biokatalysatoren, molekulare Fossilien einer frühen Periode der chemisch-biochemischen Evolution sein könnten, ist keineswegs neu; sie entspricht indessen der hier zur Diskussion stehenden Zielsetzung, Cofaktor-Strukturen nach einer inneren generativen Einfachheit zu hinterfragen. Darüber hinaus wirft die auffallende strukturelle Nähe nukleotidhaltiger Cofaktoren zu den natürlichen Nukleinsäuren vor allem die Frage auf, ob nicht der Struktur-Typ der Nukleinsäuren selbst das wichtigste molekulare Fossil jener unbekanntenen frühen Periode der chemisch-biologischen Evolution darstellt (*Abb. 40*).

Contemporary **cofactor** molecules resembling constituents of nucleic acids may represent “**molecular fossils**” throwing a glimpse of chemical light on an early period of evolving life.

The most important “molecular fossils” of that period are the **nucleic acids** themselves.

Abb. 40

Mit dieser Frage sind wir im dritten und letzten Teil meines Überblicks angelangt, bei unseren Arbeiten zur chemischen Ätiologie des Struktur-Typs der natürlichen Nucleinsäuren.

Nucleinsäuren

‘Ätiologie ist die Wissenschaft von Ursprüngen und Ursachen’ (Webster). Die Ätiologie einer biomolekularen Struktur beschäftigt sich mit der Frage nach deren Herkunft im Sinne des chemischen und biologischen Ursprungs ihrer Biosynthese. Auf chemischer Ebene experimentell dieser Frage nachzugehen, kann im wesentlichen auf zwei unterschiedlichen, letztlich aber doch ineinander laufenden Wegen geschehen: entweder man versucht, das Entstehungspotential einer Biomolekül-Struktur mittels chemischer Kriterien aus deren chemischer Konstitution herauszulesen und potentiell relevante Bildungswege experimentell zu belegen – die im Anschluss an die Synthese des Vitamins B₁₂ durchgeführten Untersuchungen folgten zu einem gewissen Grade dieser Strategie – oder man konzentriert sich auf die biologisch-chemische Funktion der Biomolekül-Struktur, d.h. man versucht zu erkennen, wie Funktion und Struktur auf chemischer Ebene zusammenhängen (Abb. 41). Die beiden Wege werden deshalb letztlich ineinander laufen, weil alle Molekül-Strukturen mit essentieller biologischer Funktion ihre Existenz letztlich einer biologischen Selektion verdanken; diese hatte sowohl die *Entstehung*, als auch die *Funktion* zur Voraussetzung. Ein wichtiger Unterschied zwischen den beiden Wegen liegt darin, dass die Suche nach der Entstehung einer Biomolekül-Struktur sich auf ein Ereignis in ferner Vergangenheit bezieht, über welches man keine Gewissheit wird erlangen können, während Zu-

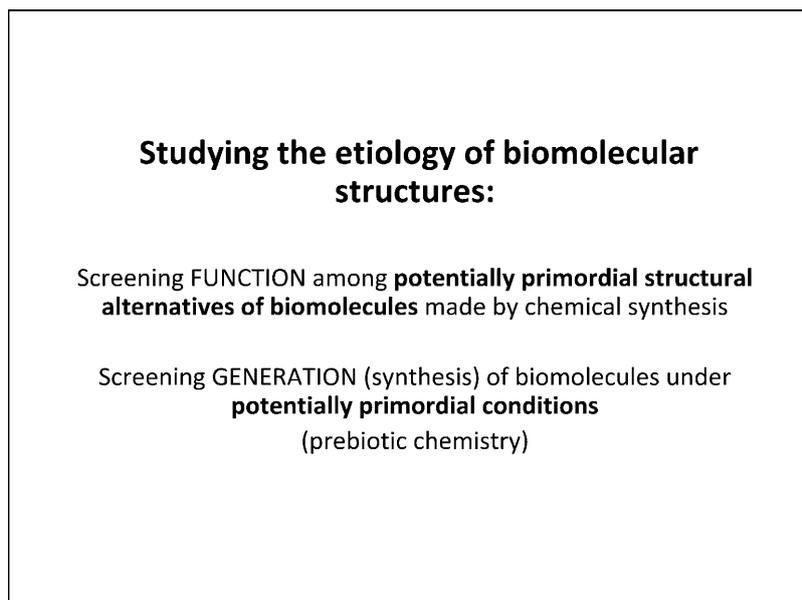


Abb. 41

sammenhänge zwischen biologischer Funktion und chemischer Struktur unter Umständen sich aus einer rein chemischen, und damit in ihren Ergebnissen zeitunabhängigen, vergleichenden Analyse der Biomolekül-Struktur ergeben können.

Der Forschungszweig innerhalb der organischen Chemie, der sich seit *Stanley Millers* klassischem Experiment aus dem Jahre 1953 (übrigens auch das Jahr der biogenetischen Isopren-Regel, oder auch das Jahr der *Watson–Crickschen* DNA-Helix) systematisch dem Problem der ursprünglichen Entstehung von Biomolekülen widmet, ist die sogenannte ‘*präbiotische Chemie*’. In ihr wurde und wird nach wie vor versucht, durch Experimente synthetischer Art Reaktionswege zu erkennen, auf denen unter primordialen geochemischen Bedingungen die für das Leben grundlegenden Moleküle entstehen konnten.

Die Crux jeglicher Suche nach primordialen Entstehungswegen lässt sich anschaulich am Beispiel eines Experiments aus einem anderen Gebiet historischer Forschung illustrieren, nämlich am Ausgang des seinerzeit berühmten ‘*Kon-Tiki-Experiments*’ des norwegischen Anthropologen *Thor Heyerdahl*. Dieser hatte sich 1946 vorgenommen, die Theorie zu untermauern, wonach die polynesischen Inseln ursprünglich von Südamerika und nicht ausgehend von Asien bevölkert wurden, indem er experimentell zeigen würde, dass diese Inselgruppe mitten im pazifischen Ozean unter natürlichen Bedingungen und mit elementarsten Mitteln von Südamerika aus erreichbar ist. Genau dies ist ihm mit einer kleinen Crew auf dem legendären *Kon-Tiki-Floss* (*Abb. 42*) in

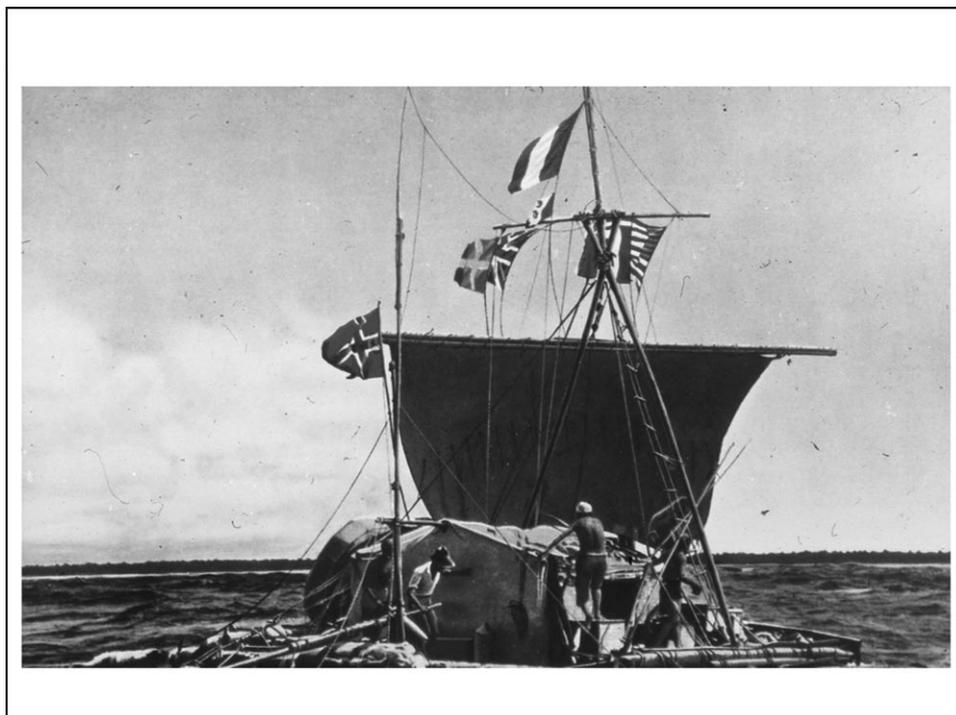


Abb. 42

einer spektakulären Expedition gelungen. Damit hat er nachgewiesen, dass das Szenario der genannten Theorie im Bereich des technisch und geographisch Möglichen liegt. Die Ironie liegt jedoch darin, dass später aufgekommene Kriterien u. a. anthropologischer Natur der Überzeugung zum Durchbruch verhelfen, dass die Polynesier aus Asien und nicht aus Südamerika stammen.

Genau dies ist es, was jedem erfolgreichen Experiment der präbiotischen Chemie auch passieren kann. Nicht zuletzt deshalb haben wir das Projekt einer experimentellen Hinterfragung der Nukleinsäure-Struktur gleich von Beginn an nicht auf das Problem der ursprünglichen Entstehung des Struktur-Typs ausgerichtet, sondern auf die Frage nach den strukturellen und funktionellen Kriterien von dessen biologischer Selektion, d. h. auf Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen chemischer Struktur und biologischer Funktion der uns heute bekannten Nukleinsäuren mit den Mitteln der synthetischen organischen Chemie. Glücklicherweise ist bei Nukleinsäuren von vornherein klar, welche der Eigenschaften auf chemischer Ebene das Kriterium 'biologische Funktion' zu vertreten hat: es ist die Fähigkeit zur informationellen *Watson–Crick*-Basenpaarung.

Wenn es um die Ätiologie des Struktur-Typs der natürlichen Nukleinsäuren geht, steht die RNA, und nicht die DNA, im Vordergrund; sowohl chemische als auch biologische Kriterien sprechen nachdrücklich für die Auffassung, dass RNA der ätiologisch ältere Biomolekül-Typ ist, und DNA ein evolutionärer Abkömmling der RNA. Aus der Sicht des präbiotischen Bildungspotentials ist die Desoxyribose ein komplexeres Molekül als die Ribose, wiewohl äusserlich das Gegenteil der Fall zu sein scheint.

Am Ausgangspunkt unserer Arbeiten zur Ätiologie der RNA-Struktur stand die Frage nach dem Zucker-Baustein: warum ist die RNA aus einer Pentose und nicht einer Hexose aufgebaut, und wenn schon aus einer Pentose, warum aus Ribose, und wenn schon aus dieser, warum der Ribofuranose und nicht der Ribopyranose? Fragen dieser Art definierten unser gesamtes Forschungsprogramm (*Abb. 43*): Man synthetisiere mit modernen chemischen Methoden Nukleinsäure-Systeme, die solche alternativen Zucker-Bausteine enthalten und stelle fest, ob auch sie die Fähigkeit zur *Watson–Crick*-Basenpaarung besitzen. Dieser Strategie liegt folgende Auffassung zugrunde: wiewohl die Umstände der ursprünglichen Entstehung der RNA im Dunkeln der Vergangenheit sind und bleiben, kann der organische Chemiker zumindest den generellen *Typus* der chemischen Prozesse, die unter unbekanntem (geo)chemischen oder biogenen Bedingungen erstmals zur RNA-Struktur geführt haben mussten, aus der Konstitutionsformel der RNA herauslesen. Solche Prozesse sollten aus chemischer Sicht nicht nur das Potential der Bildung der RNA, sondern auch der Bildung von Nukleinsäure-Strukturen mit alternativen Zucker-Bausteinen gehabt haben, und zwar allen voran von solchen Strukturen, die aus dem alternativen Zucker-Baustein sich konzeptuell auf analoge Weise ableiten lassen, wie die RNA mittels chemischer Kriterien aus Ribofuranose ableitbar ist. Solche Alternativen würde man als '*potentiell natürliche*' Nukleinsäure-Alternativen einstufen und auf Grund eben dieses Kriteriums bevorzugt in das Untersuchungsprogramm einbeziehen. Dadurch, dass man sich in der Wahl von Nukleinsäure-Alternativen möglichst an die 'strukturelle Nachbarschaft' der RNA hält, erhöht man die Chance, mit einer solch problematischen Einstufung wie '*potentiell natürlich*' nicht fehlzugehen. Ein weiteres Auswahlkriterium ist die Funktionsprognose: mit Hilfe qualitativ-konformationeller

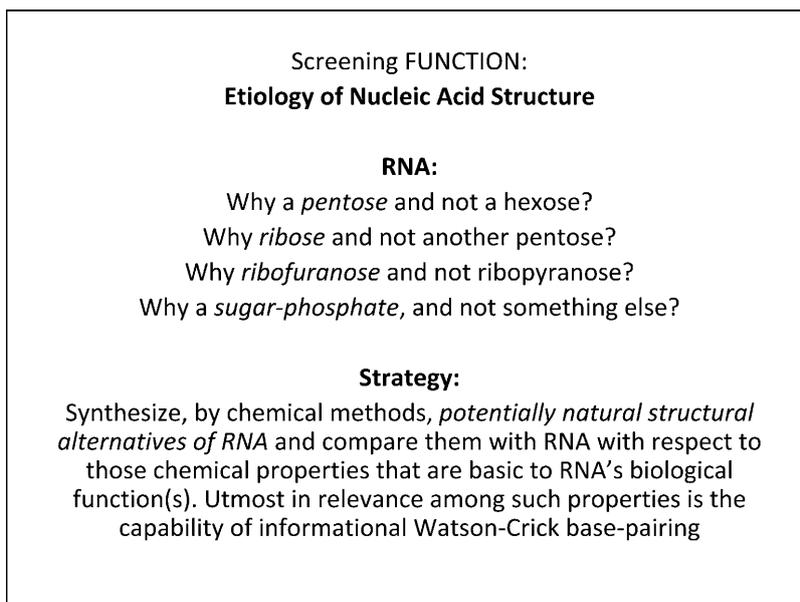


Abb. 43

Kriterien soll, wenn immer möglich, vorausgesagt werden, welche der ‘potentiell natürlichen’ Alternativ-Strukturen die besten Chancen besitzen, zu *Watson–Crick*-Basenpaarung fähig zu sein.

Die Strategie kommt im Grunde einem Versuch gleich, auf chemischer Ebene einen Prozess der Variation und Selektion zu simulieren, welcher in einer unbekannt Phase chemisch-biologischer Evolution zur RNA geführt hat. Dabei ist wesentlich, dass die Untersuchung in ihrer Relevanz *unabhängig* ist von der Frage, ob die RNA-Struktur präbiotischen oder biotischen Ursprungs ist (Abb. 44).

Abb. 45 zeigt – nebst entsprechender Information über RNA und DNA – die Konstitution, relative und absolute Konfiguration, sowie (idealisierte) Konformation der Zucker-Bausteine all jener Nukleinsäure-Alternativen, die wir im obigen Sinne experimentell untersucht haben. Die Liste enthält auch den Baustein der homo-DNA, die dem Kriterium ‘potentiell natürlich’ nicht entspricht, aber zu Beginn der Untersuchungen Gegenstand einer Modellstudie zur Abklärung des Einflusses der Ring-Grösse auf die *Watson–Crick*-Basenpaarung gedient hatte. Von da aus führten die Untersuchungen über drei (von insgesamt acht möglichen) als ‘potentiell natürlich’ eingestuft Hexopyranosyl-Nukleinsäuren (vgl. Abb. 46) zur Familie der vier Pentopyranosyl-Nukleinsäuren, darunter die aus den gleichen Bausteinen wie RNA aufgebauten Pyranosyl-RNA (‘p-RNA’), und von dort schliesslich zum Threofuranosyl-Analogon der natürlichen RNA, der sog. ‘TNA’. Der Gang der Untersuchungen ergab sich aus den in den einzelnen Untersuchungsphasen gemachten Beobachtungen über das jeweilige Paarungsvermögen. Darüber orientiert vorab der in Abb. 45 verwendete Farbcode: alternative Oligomer-Systeme, deren Baustein-Formeln Farbe tragen, besitzen die Fähigkeit zur *Watson–Crick*-Basenpaarung, alle anderen nicht.

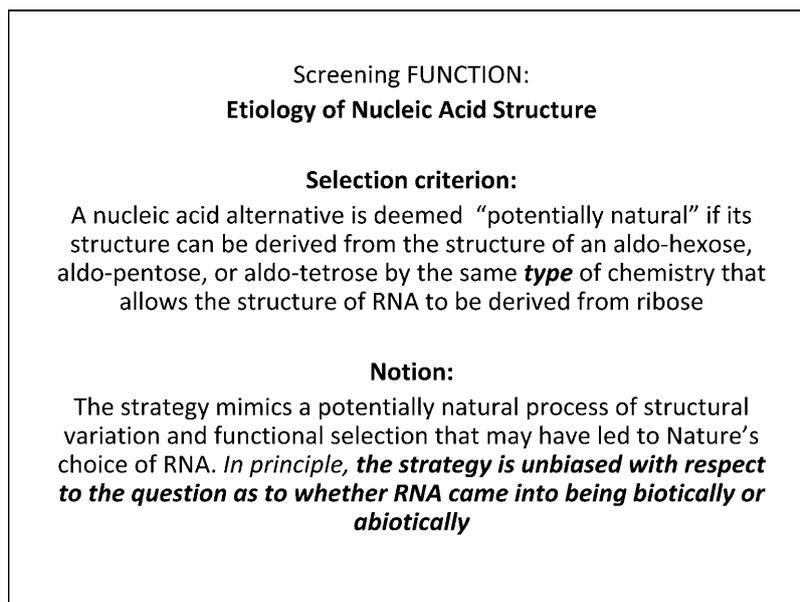


Abb. 44

Dabei vermögen komplementäre Basensequenzen mit ‘gleichfarbenen’ Rückgrat-Systemen untereinander zu paaren, nicht aber Sequenzen mit Rückgraten unterschiedlicher (oder keiner) Farbe.

Abb. 47 illustriert das bisher Besprochene nochmals, aber aus anderer Perspektive; die Daten beziehen sich auf das Paarungsverhalten der im Titel bezeichneten, selbstkomplementären Basensequenz in den einzelnen Nukleinsäure-Systemen. Die Basis-Quadrate stehen für alle denkbaren konstitutiven und konfigurativen Möglichkeiten, die man für den Bereich der Tetrosen, Pentosen und Hexosen in einer Total-Untersuchung in Betracht zu ziehen hätte; jedoch nur die mit Kolonnen besetzten, bzw. schwarz oder grau markierten Positionen sind bislang untersucht worden. Die relativen Höhen der Kolonnen erlauben den Vergleich der Stärke der Selbst-Paarung der Basensequenz in den einzelnen Systemen (Schmelztemperaturen der Duplexe). Die homo-DNA erscheint sozusagen *hors-concour*, sie gilt nicht als ‘potentiell natürliche’ Nukleinsäure-Alternative. Der *Watson–Crick*-Paarungsmodus vermag Selbst- und Kreuz-Paarung in sozusagen verschiedenen ‘Sprachen’ zu vermitteln. Die Färbung der Kolonnen entspricht der jeweiligen Paarungssprache. Für diese entscheidend sind die räumlichen Eigenschaften der entsprechenden Rückgrate, vor allem die Orientierung und Neigung von (approximativen) Rückgrat-Achsen relativ zu (approximativen) Basenpaar-Achsen (Abb. 48). Unter allen aufgeführten Nukleinsäure-Alternativen ist die TNA das einzige Oligomer-System, das effizient und mit hoher Selektivität die ‘natürliche Sprache’ der RNA und DNA spricht.

Es besteht kaum ein Zweifel, dass eine in struktureller Hinsicht uneingeschränkt gezielte Suche nach *Watson–Crick*-Systemen mehr als die hier beobachteten Paa-

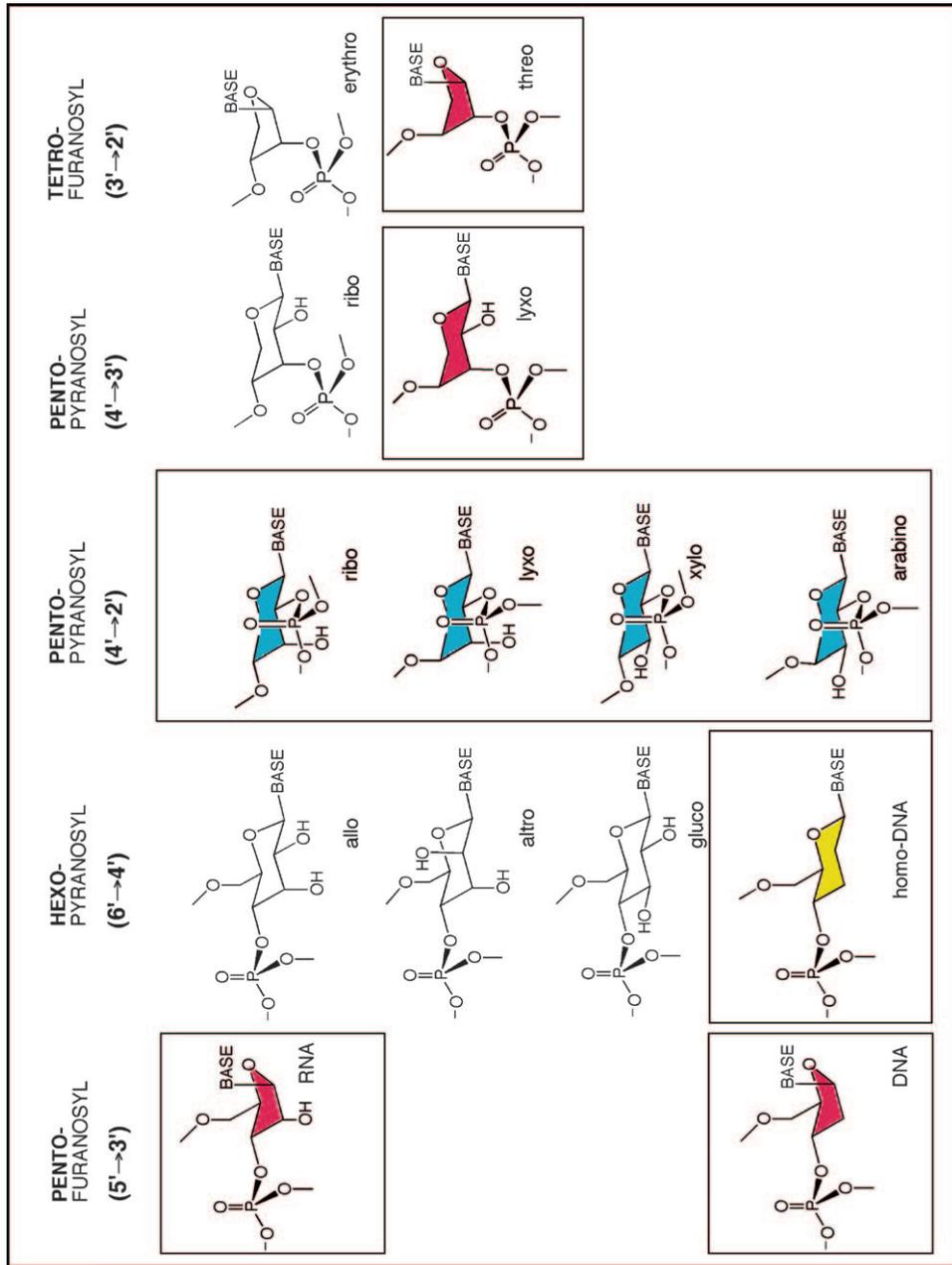


Abb. 45

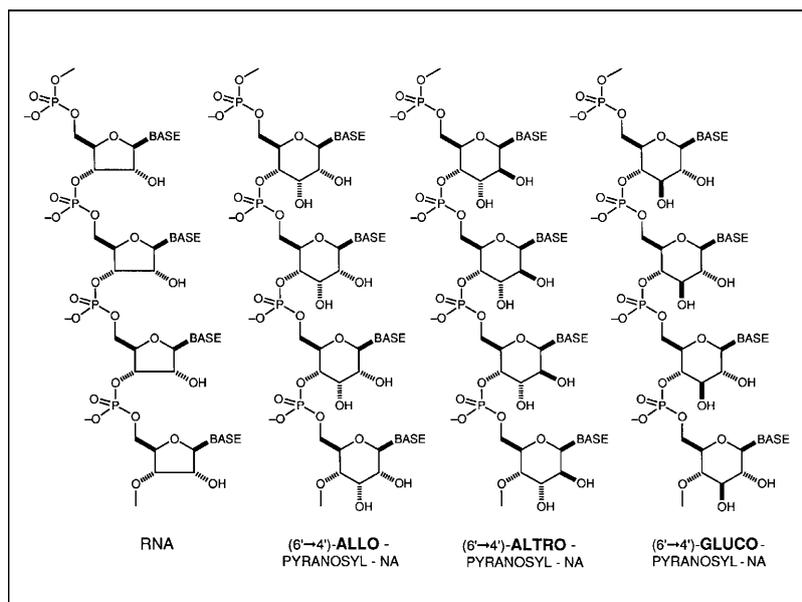


Abb. 46

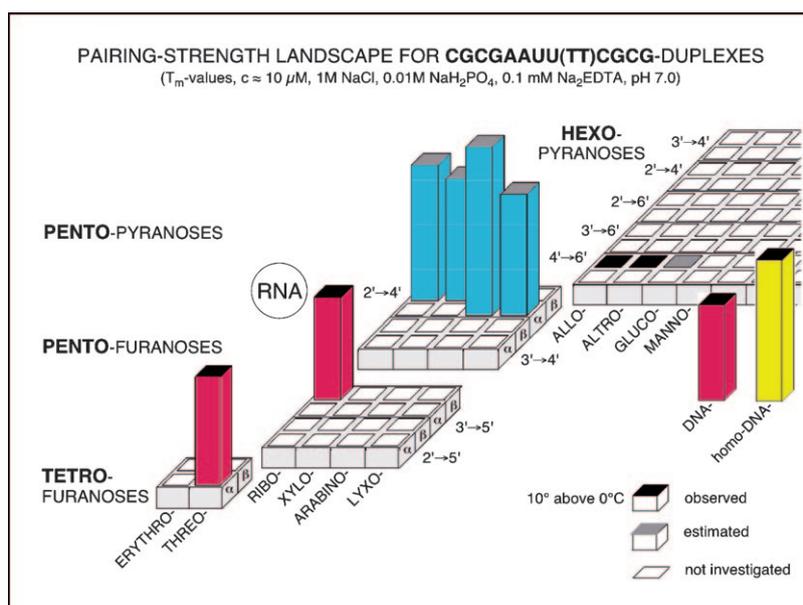
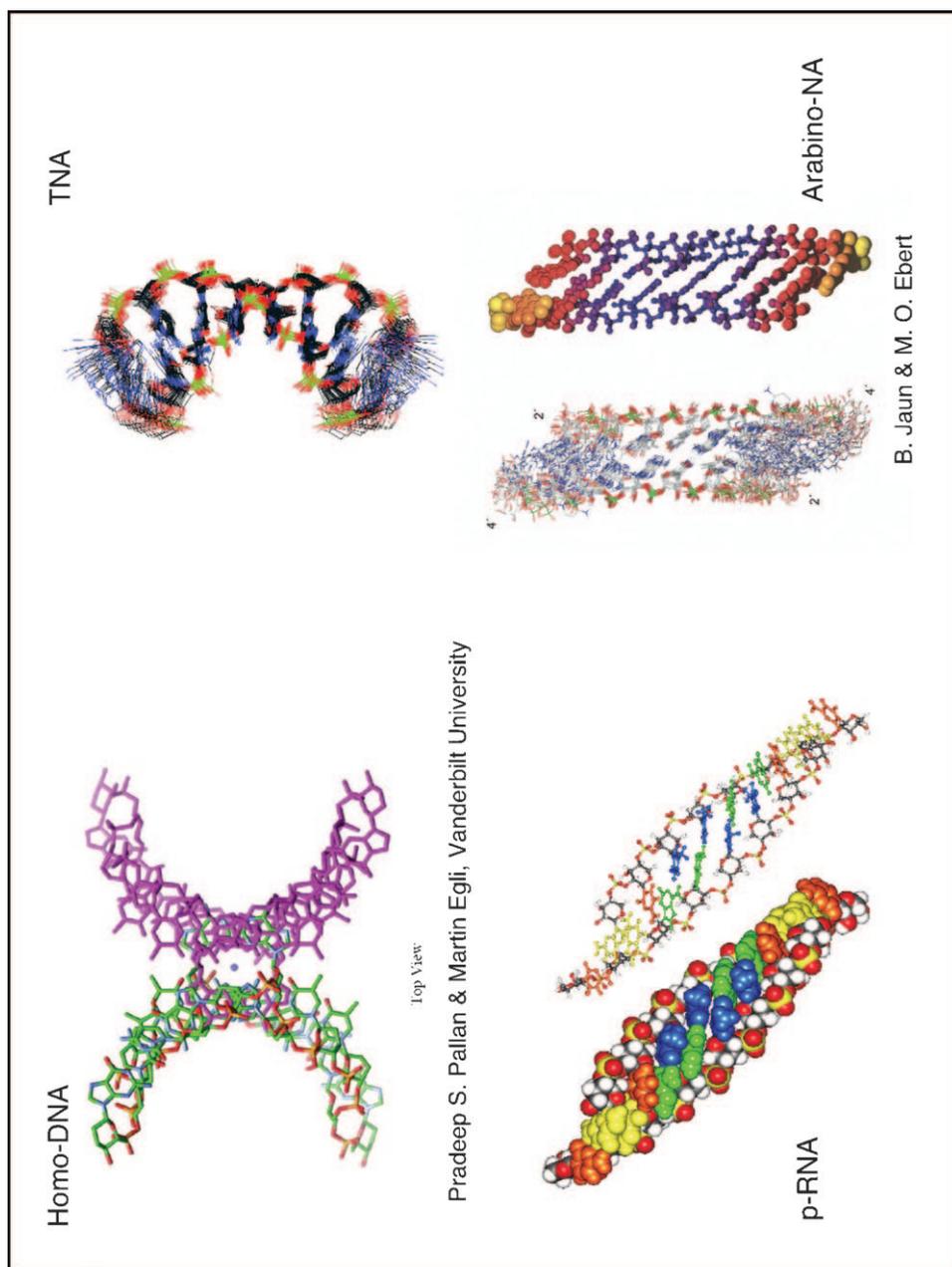


Abb. 47



rungssprachen rot, blau und gelb entdecken würde. Ein solches Unternehmen wäre vermutlich auch für andere Problemstellungen als für die hier besprochene von Belang. Auf weite Sicht könnte die Verfügbarkeit einer Mehrzahl von Paarungssprachen informationeller Oligomer-Systeme sehr wohl für die synthetische Chemie im Bereich der Nanodimensionen von Interesse sein.

Vorab haben unsere Arbeiten über ‘potentiell natürliche’ Nukleinsäure-Alternativen gezeigt, dass die Fähigkeit zu informationeller *Watson–Crick*-Basenpaarung keineswegs das Privileg der legendären Doppelhelix-Struktur der natürlichen Nukleinsäuren darstellt (*Abb. 49*), wie dies zu Beginn unserer Arbeiten (1987) eine weit verbreitete Meinung gewesen war. Die ‘Promiskuität’ *Watson–Crick*scher Basenpaarung bezüglich der Oligomer-Rückgratstruktur ist heute übrigens zusätzlich mehrfach belegt durch experimentelle Ergebnisse auf dem Gebiete der medizinisch-chemisch ausgerichteten Forschung über ‘anti-sense’-Oligomer-Systeme; unter solchen Ergebnissen ragen heraus insbesondere *Peter Nielsens* peptid-ähnliche ‘PNA’ und *Piet Herdewijns* hexose-ähnliche HNA. Erstere hat auch in ätiologischer Hinsicht Interesse erweckt. Die drei aus der Familie der Hexopyranosyl-Analoga der RNA untersuchten ‘potentiell natürlichen’ Oligomer-Systeme der Hexopyranose-Bausteine Allose, Altrose und Glucose (vgl. *Abb. 46*) sind im krassen Gegensatz zur homo-DNA keine *Watson–Crick*-Paarungssysteme. Dieser Unterschied zur homo-DNA, die völlig analog gebaut ist, aber aus 2',3'-Dideoxyhexopyranose-Bausteinen besteht, ist auf sterische Behinderung entsprechender Duplex-Strukturen durch die zwei zusätzlichen OH-Gruppen zurückzuführen. Die drei der RNA konstitutionell eigentlich sehr nahe stehenden Hexopyranosyl-Nukleinsäuren waren offenbar keine evolutionären Konkurrenten der RNA, denn ihnen fehlt die wichtigste der Eigenschaften, die hierzu nötig

The capability of **Watson-Crick base-pairing** is **widespread** among potentially natural nucleic acid alternatives taken from RNA's close structural neighborhood.

Watson-Crick base-pairing can mediate a variety of “**base-pairing languages**” orthogonal to each other and correlating with differing duplex geometries

Abb. 49

gewesen wäre (*Abb. 50*). Ganz anders verhält es sich mit der Pyranosyl-RNA (*Abb. 51* und *52*); diese steht konstitutionell der RNA zwar weniger nahe, ist jedoch analog und vor allem aus den gleichen chemischen Bausteinen aufgebaut wie diese und ist sowohl was Paarungsstärke, als auch Paarungselektivität anbetrifft, ein hervorragendes informationelles Paarungssystem (*Abb. 48*). Zumindest aus chemischer Sicht würde die Pyranosyl-RNA alle funktionellen Voraussetzungen eines genetischen Oligomers erfüllen. Die mit ihrer Herstellung und Kenntnis nunmehr gegebene Möglichkeit, die beiden baustein-identischen, jedoch konstitutionsisomeren Oligomer-Systeme RNA und Pyranosyl-RNA auf chemischer Ebene miteinander zu vergleichen, bietet eine geradezu optimale Plattform für die Suche nach Antworten auf die Frage, warum die Natur die RNA als genetisches System gewählt hat.

Die Paarungsstärke von Basensequenzen der Pyranosyl-RNA ist deutlich höher als jene entsprechender Sequenzen der RNA (*Abb. 47*), doch wurden in der Familie der vier diastereoisomeren Pentopyranosyl-Nukleinsäuren, wie *Abb. 53* und *54* zeigen, noch höhere Paarungsstärken angetroffen. Alle vier Systeme sprechen die gleiche (blaue) Sprache, sie alle sind fähig, untereinander zu paaren, wobei das Arabinopyranosyl-System (vgl. dessen lineare Duplex-Struktur in *Abb. 48*) bezüglich Paarungsstärke die ganze Familie dominiert. Abgesehen davon, dass diese Familie eine Fundgrube bietet für den Versuch, die strukturellen Faktoren zu verstehen, welche *Watson–Crick*-Paarungsstärke bestimmen, stehen die Paarungseigenschaften der Familie der Pentopyranosyl-Nukleinsäuren für die ätiologisch relevante Schlussfolgerung, dass die Natur in ihrer Wahl der RNA nicht einfach nach dem Kriterium der Maximierung der Basenpaarungsstärke vorging, sonst hätte sie eines der Pentopyranosyl-Systeme wählen müssen (*Abb. 55*).

Structural RNA-analogs composed of
hexopyranose- **instead** of ribofuranose-
units could not have acted as
evolutionary competitor of RNA, because
they lack the capability of efficient
informational base-pairing

Abb. 50

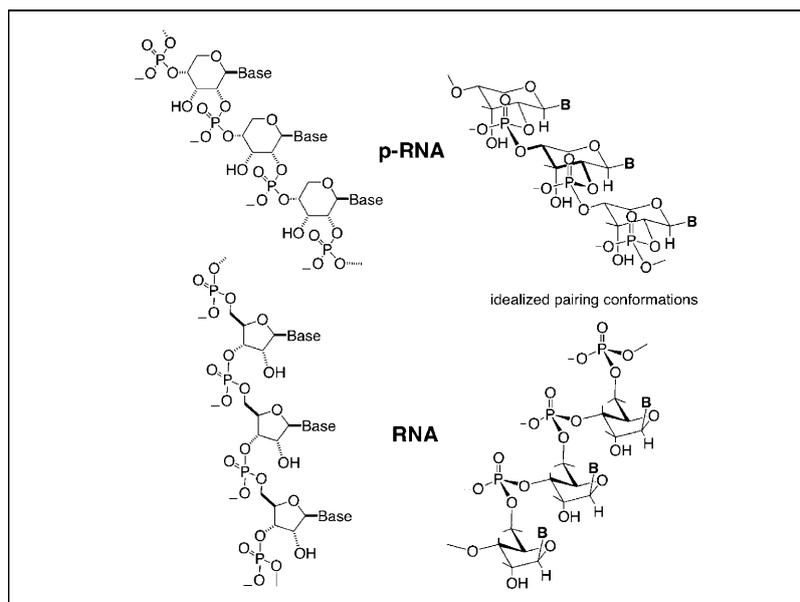


Abb. 51

Pyranosyl-RNA, an isomer of RNA containing **ribose units** in their **pyranose form**, but otherwise being composed of the very **same building blocks as RNA**, is a potentially natural nucleic acid alternative that possesses all chemical attributes of a highly efficient Watson-Crick pairing system

Abb. 52

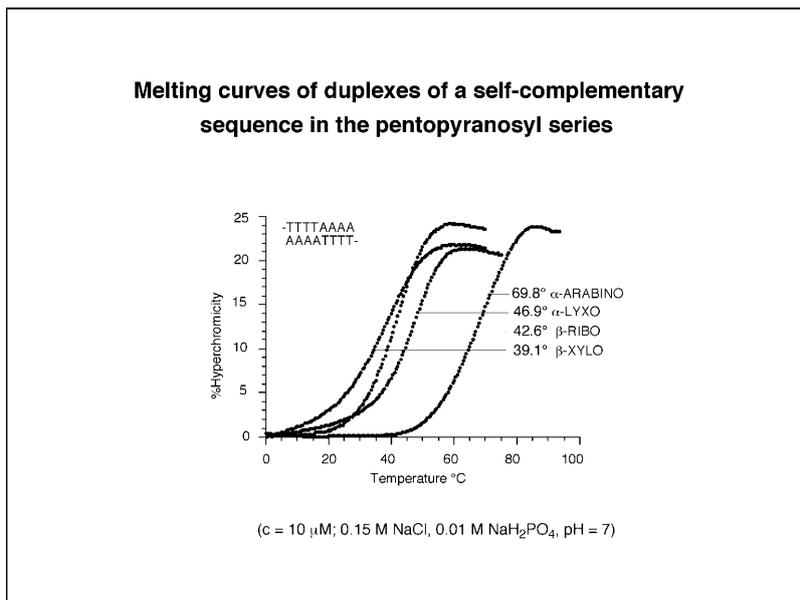


Abb. 53

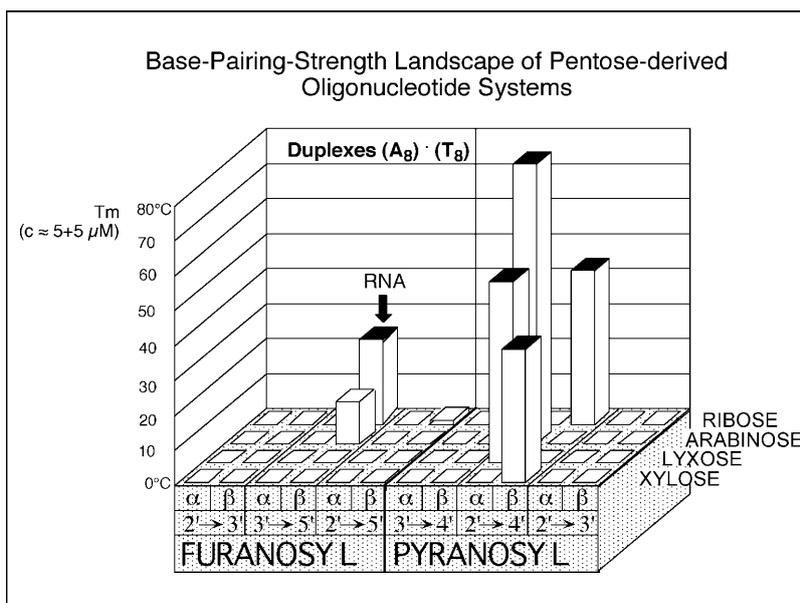
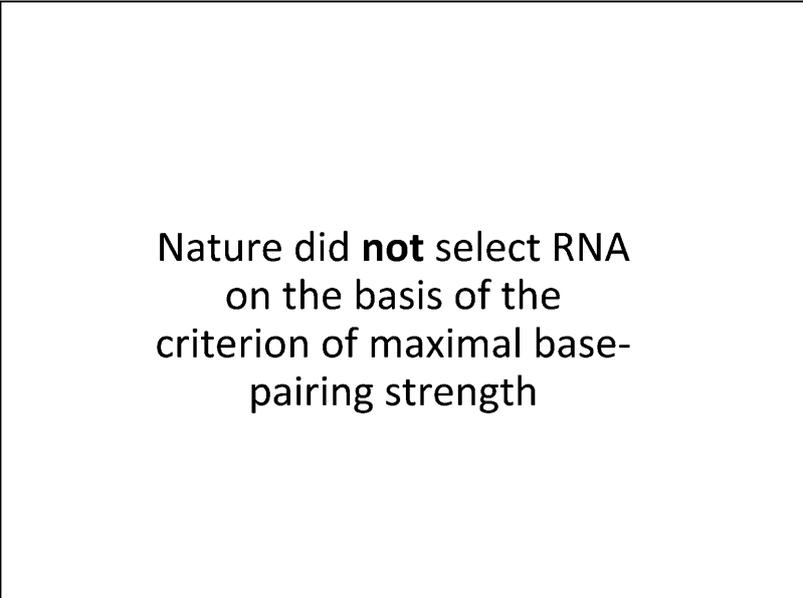


Abb. 54



Nature did **not** select RNA
on the basis of the
criterion of maximal base-
pairing strength

Abb. 55

Unter allen Nukleinsäure-Alternativen die wir studiert haben, hat sich die Threofuranosyl-Nukleinsäure ('TNA'; Abb. 56) als die in der einschlägigen Literatur sozusagen 'populärste' erwiesen, was vor allem mit der Tatsache zu tun haben mag, dass sie im Unterschied zur gesamten Familie der Pentopyranosyl-Varianten zu informationeller Kreuzpaarung mit RNA und DNA fähig ist. Hinsichtlich Paarungsstärke und Paarungselektivität verhält sie sich weitgehend wie die RNA. Die 'sprachliche' Sonderstellung der TNA unter den anderen zur *Watson–Crick*-Basenpaarung fähigen Nukleinsäure-Alternativen widerspiegelt sich besonders eindrücklich in den Duplex-Strukturen der selbstkomplementären Basen-Sequenz 4'(bzw. 3')-CGAATTCG der Ribopyranosyl- und Arabinopyranosyl- und Threofuranosyl-Reihe (Abb. 48), unter welchen der TNA-Duplex als einziger eine eindeutig helikale, den natürlichen RNA-Duplexen ähnliche Struktur aufweist. Alle drei Duplex-Strukturen sind an der ETH in der Arbeitsgruppe von *Bernhard Jaun* durch NMR-Spektroskopie bestimmt worden. In verschiedenen Phasen unserer Arbeiten über alternative Nukleinsäuren haben Struktur-Bestimmungen der *Jaunschen* Arbeitsgruppe immer wieder Gewissheit über die Duplex-Strukturen der wichtigsten von uns hergestellten Nukleinsäure-Alternativen verschafft und damit das Verständnis der Zusammenhänge zwischen Rückgrat-Struktur und *Watson–Crick*-Basenpaarung entscheidend bereichert.

Nebst der Eigenschaft der TNA, mit RNA und DNA nach dem *Watson–Crick*-Paarungsmodus mit sowohl RNA als auch DNA zu kommunizieren, hat die TNA u. a. auch durch die Tatsache Interesse erregt, dass sie aus einem kleineren und damit auch einfacheren Zucker-Baustein aufgebaut ist (Abb. 57), dies vorab unter Wissenschaftlern, die sich mit der Frage nach dem Ursprung der RNA befassen und es als wahrscheinlich

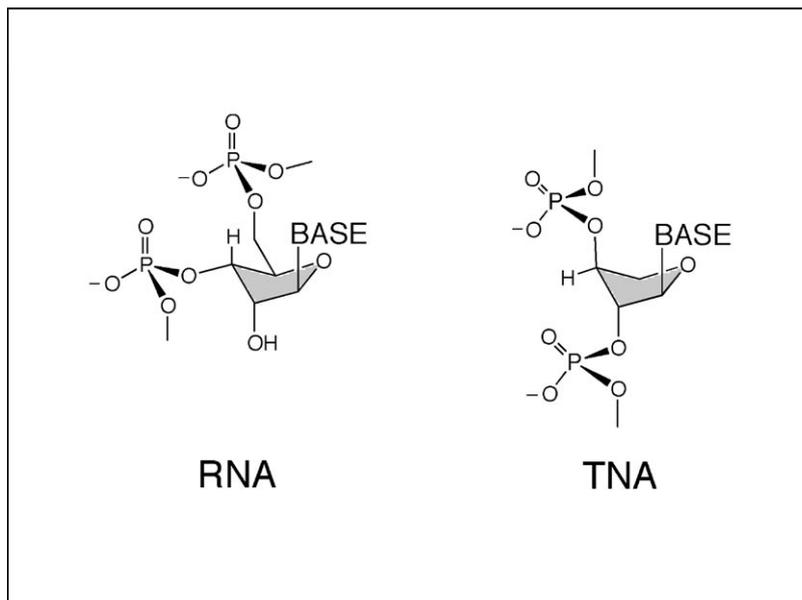


Abb. 56

17 November 2000, Volume 290, pp. 1306–1307

SCIENCE'S COMPASS



PERSPECTIVES: ORIGIN OF LIFE

A Simpler Nucleic Acid

Leslie Orgel

The nucleic acids, DNA and RNA, are the genetic material that cells and viruses use to produce faithful copies of themselves. The physical properties and chemical reactions of DNA and RNA, therefore, have come under intense scrutiny. Yet, very few experimental programs have explored in a systematic way the chemistry of DNA and RNA analogs with a modified backbone that, at least in principle, might be alternative genetic material for Earth's earli-

gesting that pRNAs are unlikely to have been the genetic material that preceded RNA. The same problem arises for many of the other nucleic acid analogs synthesized by the Eschenmoser group (4, 5).

It has been supposed that for a nucleic acid analog to pair with RNA it must, like RNA, have a backbone with at least a six-atom repeat; a shorter backbone presumably would not stretch far enough to bind RNA properly. The Eschenmoser group has shown, however, that this first impression is incorrect. They realized that, by orienting the

Enhanced online at
www.sciencemag.org/cgi/content/full/290/5495/1306

Abb. 57

betrachten, dass die RNA – ‘weil strukturell zu komplex’ – nicht das erste genetische System war. Es waren somit vor allem die besonderen Eigenschaften der TNA, die dazu führten, dass letztlich unser Projekt eines betont ‘a-historischen’ Zugangs zur Ätiologie der RNA-Struktur von der Frage nach der Entstehung der RNA eingeholt wurde. Ob der Struktur-Typ der RNA das erste genetische System gewesen sei, oder ob man aus chemischen Gründen nicht um die Annahme herumkommen werde, dass Vorläufersysteme existiert haben müssen, wird nach wie vor heftig diskutiert. Der mehrfach geäußerten Überlegung, wonach TNA ein Vorläufer der RNA hätte sein können, begegne ich selbst mit ausgesprochener Skepsis, denn die gewichtigsten der chemischen Zweifel, welche man bezüglich der Annahme einer präbiotischen Bildung der RNA-Struktur vorbringen kann, gelten für die TNA ebenfalls (*Abb. 58*).

Die Rolle der RNA im Prozess der Entstehung des Lebens gehört beim derzeitigen Stand von Wissen und Vorstellung zu den zentralen Themen der heute geführten naturwissenschaftlichen Diskussion um die Biogenese. Denn die beiden möglichen Annäherungen an das Problem – von oben, d. h. von der Biologie her, und von unten, von der Chemie her – sie beide treffen sich zur Zeit an der Schnittstelle RNA. Zum einen gibt es da die von der Entdeckung der Ribozyme ausgelöste und in der Folge durch eine eindruckliche Anzahl von harten Fakten struktureller und funktioneller Art gestützte Idee von einer ‘RNA-Welt’, welche der heutigen ‘DNA-RNA-Protein-Welt’ vorangegangen sei, zum andern die aus theoretischen Analysen zur Selbstorganisation der Materie zusammen mit Ergebnissen der präbiotischen Chemie hervorgegangene Vorstellung, wonach die Entstehung des Lebens mit dem Aufkommen eines genetischen Systems zusammengefallen sei. Dabei kann nicht verwundern, dass die Annäherung von unten sich weit weniger kohärent präsentiert als jene von oben, denn

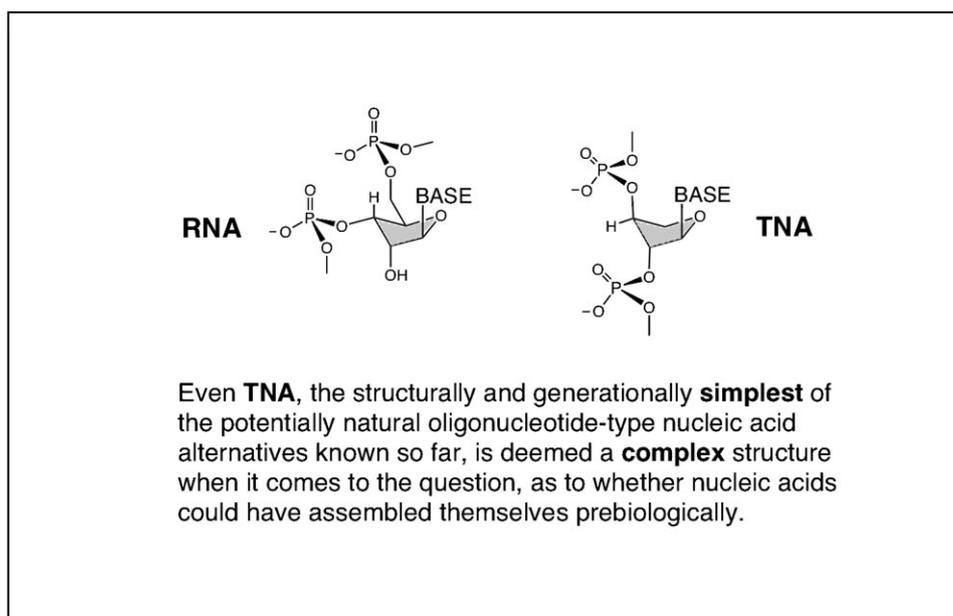


Abb. 58

da gibt es nebst der eben genannten Vorstellung auch die, dass nicht die Entstehung eines im heute gültigen Sinne zu sehenden genetischen Systems, sondern das Aufkommen von autokatalytisch sich replizierender metabolischer Reaktionszyklen der entscheidende Schritt, und die RNA das Produkt der Evolution bereits lebender Systeme gewesen sei. Innerhalb beider Anschauungen bleibt die besonders aus chemischen Kriterien heraus sich stellende Frage offen, ob RNA das erste funktionierende genetische System war, oder ob, und gegebenenfalls wie, sie aus funktionellen Vorläufern chemisch unterschiedlicher Bauart hervorging.

Angesichts solcher Dichotomien wurde zunehmend klar, dass wir uns der bislang in unseren Arbeiten aus pragmatischen Gründen umgangenen Frage nach dem ersten genetischen Oligomer-System letztlich stellen sollten; dies besonders nach der Diskussion um die TNA. Im Laboratorien von *John Sutherland* in England befasst man sich mit der wichtigen Aufgabe, die Option '*RNA first*' experimentell zu erhärten, d. h. nach potentiell präbiotischen Zugängen zum Struktur-Typ der RNA zu suchen und solche experimentell zu simulieren. Sozusagen in entgegengesetzter Richtung habe ich – zusammen mit meinem Kollegen *Ramanarayanan Krishnamurty* – in unserem Laboratorium am *Scipps*-Institut erste experimentelle Schritte in Richtung auf das in *Abb. 59* angedeutete Projekt einer systematischen chemischen Erfassung der Struktur und der Eigenschaften potentiell primordialer, informationeller Oligomer-Systeme unternommen. Beispiele von Ergebnissen solch erster Schritte sind in *Abb. 60* und *Abb. 61* angedeutet. Entscheidender Unterschied zur bisherigen Strategie unserer Arbeiten ist der Wegfall der bisher eingehaltenen Beschränkung auf Systeme aus der strukturellen Nachbarschaft der RNA, und damit auch der Wegfall des Kriteriums, mit dessen Hilfe man beurteilt hat, ob ein gegebenes Oligomer-System das Attribut 'potentiell natürlich' verdient. Grundsätzlich soll keinerlei Beschränkung mehr bestehen, weder in der Wahl der Struktur des Rückgrats, noch der Erkennungselemente, solange beide, die Verknüpfung der beiden Strukturelemente inbegriffen, als präbiotisch zugänglich einzuschätzen sind (*Abb. 59*). Dass hier der Teufel nun nicht nur im Detail, sondern vor allem in der letztgenannten Bedingung liegt, ist von vornherein klar. Deshalb hat eine solch systematische Kartierung des Struktur-Raums primordialer und potentiell genetischer Systeme auf experimentellem Wege nur dann eine Chance, wenn sie mit einer generellen Suche nach der *Chemie der Biogenese* an sich einhergeht. Dies bedeutet vorab die Suche nach den molekularen Akteuren eines primordialen Metabolismus, gegebenenfalls eines solchen, der die Veranlagung zu einer letztendlichen Einmündung in Elemente des heutigen Stoffwechsels in sich trägt (*Abb. 62*). Bei einer solchen Expedition ins Ungewisse könnte sich als entscheidend erweisen, die molekulare Struktur, biochemische Funktion und Biosynthese der Familie der 'archaischen' Cofaktoren als zentrale Wegweiser zu nutzen. Denn einige der organischen Katalysator-Moleküle, deren heterocyclische Struktur-Elemente unsere heutigen *Vitamine* sind, hätten sehr wohl im eigentlichen Sinne des Wortes '*Vitamine*' der *Biogenese* sein können (*Abb. 63*). Die experimentelle Suche nach potentiell präbiotischen Bildungsweisen von Cofaktor-Strukturen und Untersuchungen über deren Potential, als präbiotische Organo-Katalysatoren agiert zu haben, dürfte der meistversprechende Einstieg in die experimentelle Erschliessung des konstitutionellen Struktur- und Reaktivitätsraums biogenese-relevanter Prozesse darstellen. Allerdings wird eine solche Erschliessung nur eine der Voraussetzungen

Quest for mapping the **landscape** of potentially primordial informational oligomer systems

Any type of backbone,
Any type of recognition elements,
 as long as both are **potentially prebiotic**

Abb. 59

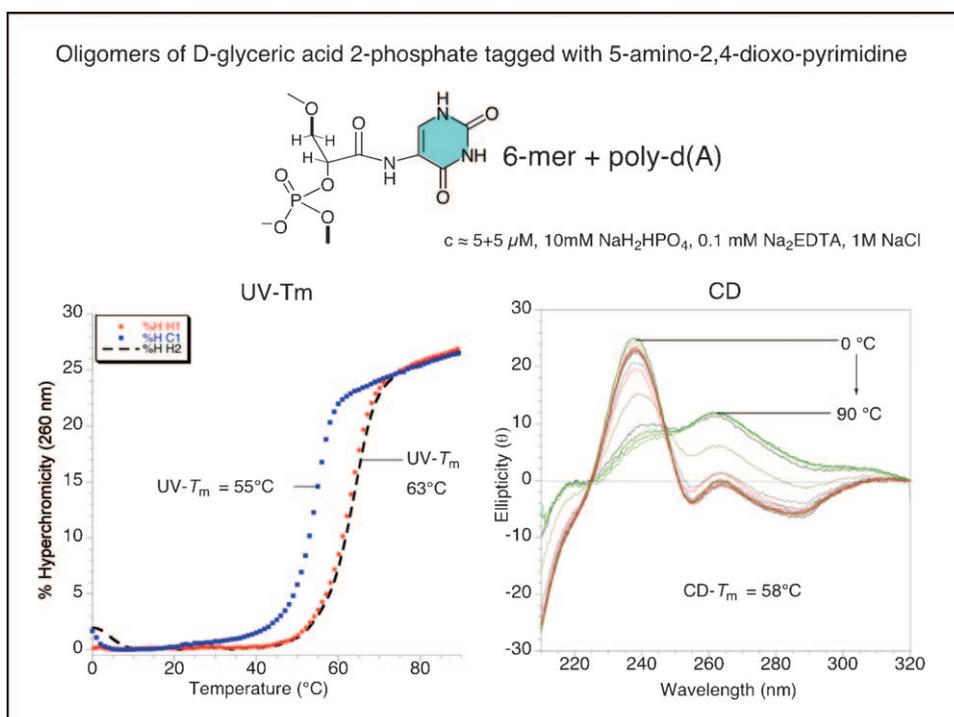


Abb. 60

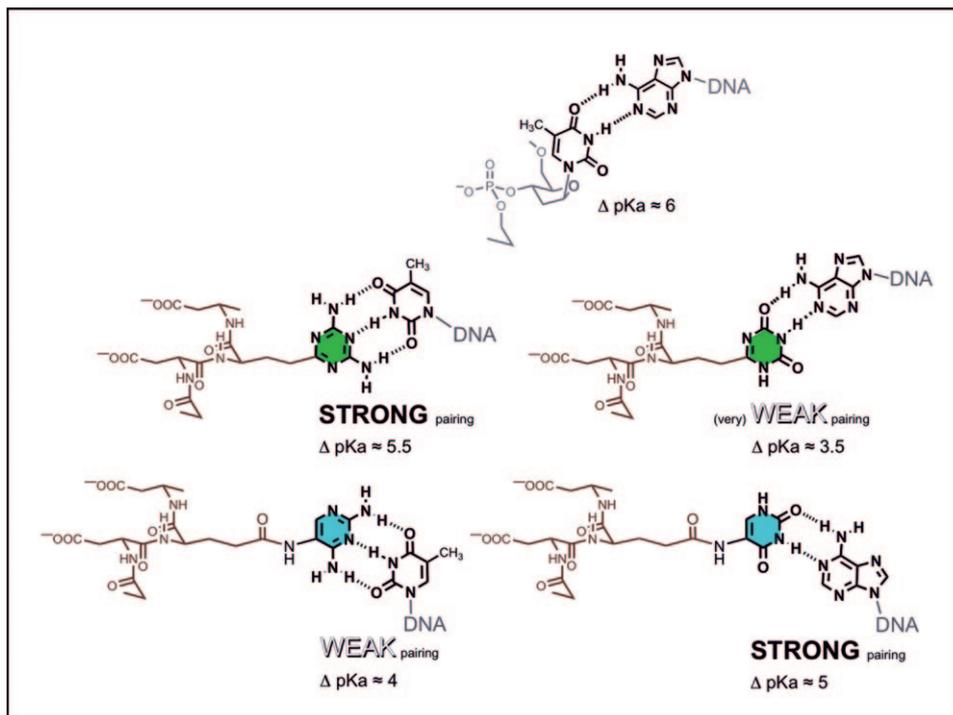


Abb. 61

Pursuing the project of mapping the landscape of potentially primordial informational oligomer systems would eventually demand the conception of, and the commitment to, a constitutionally detailed scenario of primordial chemistry.

What this would amount to is a systematic **search for the chemistry of biogenesis**

Abb. 62

Challenged to delineate the **structural** aspects of the chemistry of biogenesis is Organic Chemistry.

Structure, function and biosynthesis of contemporary **cofactors** are road signs in attempts to meet that challenge, since ancestors of cofactor molecules may have been “**vitamins**” to biogenesis

Abb. 63

It is to be hoped that Organic Chemistry will not “outsource” (once again) one of its most fundamental problems

Abb. 64

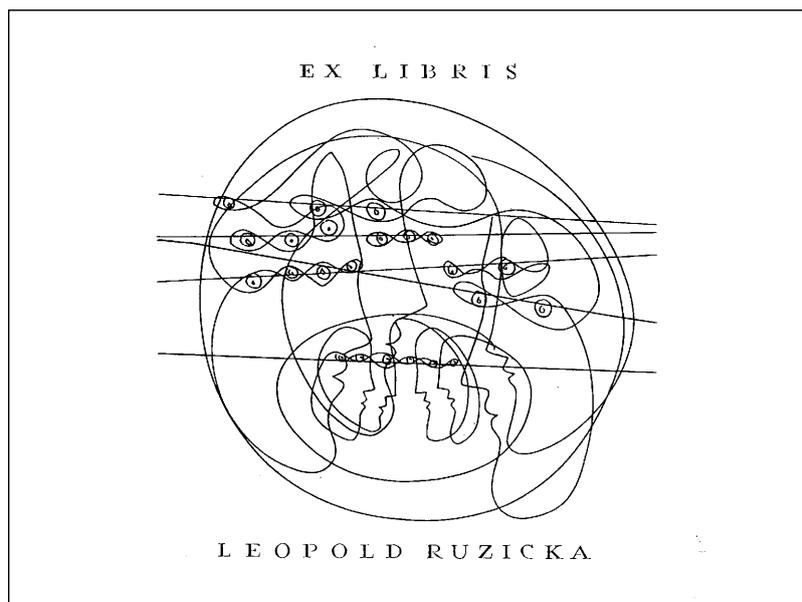


Abb. 65

für die Inangriffnahme jener Aufgabe sein, welche die eigentliche Herausforderung darstellt, nämlich die experimentelle Realisierung von funktionellen Modellen der natürlichen Selbstorganisation (Abb. 64).

Hierin herausgefordert ist allem voran die organische Chemie. Denn wer sonst, wenn nicht der organische Chemiker, könnte in der Lage sein, aus den Strukturformeln der biologisch grundlegenden (und damit auch ältesten) Naturstoffe sozusagen ‘die Zeichen zu lesen’, d.h. bei Vorgabe von geochemischen Umweltbedingungen das Bildungs- und Funktionspotential solcher Moleküle zu erkennen und durch problemgerechte Experimente darauf zu reagieren (Abb. 65).

Wie oft hat doch damals uns Jungen der alternde *Ružička* seine eigene Erfahrung als Forscher in Form markanter Sätze zusammenzufassen und zu vermitteln versucht. Einer dieser Sätze lautete: ‘*Ein Professor ist soviel wert wie die Summe seiner Mitarbeiter*’. Damals hatte ich ihn kaum verstanden; heute verstehe ich ihn. Allen meinen Doktoranden und Postdoktoranden, mit denen über fast sechs Jahrzehnte als Lehrer und Forscher zusammenzuarbeiten ich das Glück hatte, möchte ich hier bei dieser besonderen Gelegenheit meine Anerkennung und meinen Dank aussprechen. Ohne Euch, ohne Eure Entscheidung mitzumachen, Eure Kompetenz, Eure Begeisterung und Euren Einsatz gäbe es nichts von all dem, was ich hier erzählen durfte. In Anbetracht der übermächtigen Zahl der Ehemaligen will ich hier keine Namen nennen, mit der einzigen Ausnahme meines jüngeren Kollegen *Ramanarayanan Krishnamurthy*, der 1992 als einer meiner ersten Post-Emeritierungs-Postdoktoranden von den USA an die ETH kam, 1996 unser Laboratorium am *Scripps*-Institut einrichtete, und während 13 Jahren meine dortige Forschungsgruppe administrativ und wissenschaftlich gemeinsam mit mir betreute. Ohne ihn, ohne seinen Einsatz, seine Kompetenz und Loyalität wäre meine wissenschaftliche *Coda* in Kalifornien nicht möglich gewesen. Seit meiner zweiten Emeritierung im Jahre 2009 leitet *Ram* die Forschungsgruppe am *Scripps*-Institut selbständig als Professor und ‘Principal Investigator’.



Abb. 66

Wenn in der Gemeinschaft eines wissenschaftlichen Instituts *Kollegen zu Freunden* werden, ist dies wohl etwas vom Wertvollsten und Schönsten, was in menschlicher und wissenschaftlicher Hinsicht in einer solchen Gemeinschaft erblühen kann. In meiner Zeit an dem von *Leopold Ružička* und *Vlado Prelog* geschaffenen organisch-chemischen Institut der ETH hatte ich das Glück, in einer solchen Gemeinschaft zu leben und zu arbeiten. Das Bild meiner emeritierten Kollegen und Freunde *Jack Dunitz*, *Duilio Arigoni*, *Dieter Seebach* und *Andrea Vasella* (Abb. 66) soll meine Dankbarkeit bezeugen und als Zeichen unserer gemeinsamen Erinnerung an jene Zeit stehen.