

Zugang zu metallorganischen Arylcobalcorrinen durch radikalische Synthese: 4-Ethylphenylcobalamin, ein potenzielles „Antivitamin B₁₂“**

Markus Ruetz, Carmen Gherasim, Karl Gruber, Sergey Fedosov, Ruma Banerjee und Bernhard Kräutler*

Vollständiges Fehlen von B₁₂ (Cobalaminen) ist tödlich für Mensch und Säugetiere,^[1,2] die von zwei metallorganischen B₁₂-Cofaktoren abhängen, um den normalen Metabolismus aufrechtzuerhalten. Die beiden B₁₂-Cofaktoren, Coenzym B₁₂ (AdoCbl, 5'-Desoxyadenosylcobalamin) und Methylcobalamin (MeCbl), verdanken ihre Cofaktorfunktion der mit ihrer Co-C-Bindung assoziierten Reaktivität.^[3-6] Im Unterschied dazu ist Vitamin B₁₂ (CNCbl, Cyanocobalamin) ein physiologisch inaktives Cyanocorrin. Dessen lebenserhaltende Wirkung als (Pro-)Vitamin im Menschen beruht auf seiner Rolle als metabolische Vorstufe von AdoCbl und MeCbl.^[7] Werden nämlich CNCbl und andere Cob(III)alamin von den Zellen gesunder Menschen und Tiere aufgenommen, baut das Enzym CblC diese Co^{III}-Corrine zu Cob(II)alamin ab, dem Substrat der Biosynthese von AdoCbl und MeCbl.^[7] Das Protein CblC, auch MMACHC (für *Methylmalonylacidurie Typ C* und *Homocystinurie*) genannt, ist das Produkt von *cblC* (dem „MMACHC-Gen“).^[8] CblC ist bemerkenswert vielseitig und effizient bei der Entfernung von Cobalt-gebundenen Liganden typischer Cobalamin, z. B. den Cyanoliganden in CNCbl, um Cob(II)alamin zu produzieren (Schema 1).^[7] Die von CblC verwendeten Mechanismen sind entweder eine nukleophile Entfernung von Cobalt-gebundenen organischen Gruppen oder, alternativ, die reduktive Spaltung von Co^{III}-gebundenen anorganischen Liganden.^[9,10]

Schädigung von CblC durch Mutationen blockiert den Zugang zu den B₁₂-Cofaktoren aus Vitamin B₁₂ und führt zu funktionalem B₁₂-Mangel mit schweren pathophysiologischen Konsequenzen.^[8]

B₁₂-Mangel wird gezielt in Labortieren induziert und studiert, um mutmaßliche, aber noch nicht identifizierte Beiträge von B₁₂-Mangel zu pathologischen Erscheinungen, z. B. degenerativen Erkrankungen des zentralen und peripheren Nervensystems, zu erforschen.^[11] Der übliche Ansatz zur Induktion von B₁₂-Mangel bei Mäusen erfordert eine operative totale Gastrektomie,^[12] mit schweren physiologischen Störungen, unabhängig von B₁₂-spezifischen metabolischen Aspekten. Als schonende Alternative zum chirurgischen Verfahren könnten – falls vorhanden – geeignete Vitamin B₁₂-Antagonisten („Antivitamine-B₁₂“) intakten Labortieren verabreicht werden, um B₁₂-Mangelsymptome ähnlich denen hervorzurufen, die bei Patienten mit unzureichender Aufnahme von B₁₂ beobachtet werden.^[1]

Unser Ziel war es, vielversprechende Antivitamine B₁₂ zu finden, d. h. nahe Analoga von Vitamin B₁₂, die von Tieren (und Menschen) durch die Proteine des B₁₂-Transportsystems^[13] aufgenommen werden, ohne anschließend in aktive B₁₂-Cofaktoren umgewandelt zu werden.^[7] Die erforderlichen Eigenschaften solcher B₁₂-Antagonisten könnten in (nicht-natürlichen) Cobalaminen mit hoher thermolytischer Stabilität und Inertheit gegenüber dem Abbau durch das verarbeitende Enzym CblC gefunden werden. Wir vermuteten, Co_β-Arylcobalamin könnten die gewünschten Struktureigenschaften aufweisen und über starke, gegen eine Spaltung durch CblC resistente Co-C-Bindungen verfügen. Erstaunlicherweise sind Co_β-Arylcorrine noch eine unbekannte Klasse von B₁₂-Derivaten.^[5,14] Diese Situation ist eindeutig eine Folge des Mangels an geeigneten Methoden zur Synthese von Arylcorrinen.^[5,14] Wie hier gezeigt, konnte das Arylcobalamin Co_β-4-Ethylphenylcob(III)alamin (EtPhCbl) leicht und effizient durch eine Arylierung des Cobaltzentrums hergestellt werden, die das radikaloid Cob(II)alamin als selektiven Radikalfänger^[15,16] eines Arylradikals nutzt (Schema 2).

Das metallorganische Cobalamin EtPhCbl wurde in einer Eintopfreaktion in wässriger Lösung aus 4-Ethylphenyldiazonium-tetrafluorborat und Aquocobalamin (H₂Ocbl) über eine Reduktion von H₂Ocbl zu Cob(II)alamin mithilfe von Natriumformiat hergestellt.^[17-19] Das dunkelrote kristalline EtPhCbl wurde in 56 % Ausbeute erhalten. Wir schlossen auf einen Prozess, bei dem Cob(II)alamin das Diazoniumion zu einem 4-Ethylphenylradikal reduziert.^[20,21] Anschließend

[*] Mag. M. Ruetz, Prof. Dr. B. Kräutler
Institut für Organische Chemie und
Centrum für Molekulare Biowissenschaften (CMBI)
Universität Innsbruck
Innrain 80/82, 6020 Innsbruck (Österreich)
E-Mail: bernhard.kraeutler@uibk.ac.at
Homepage: <http://homepage.uibk.ac.at/~c72602/kraeutler.htm>

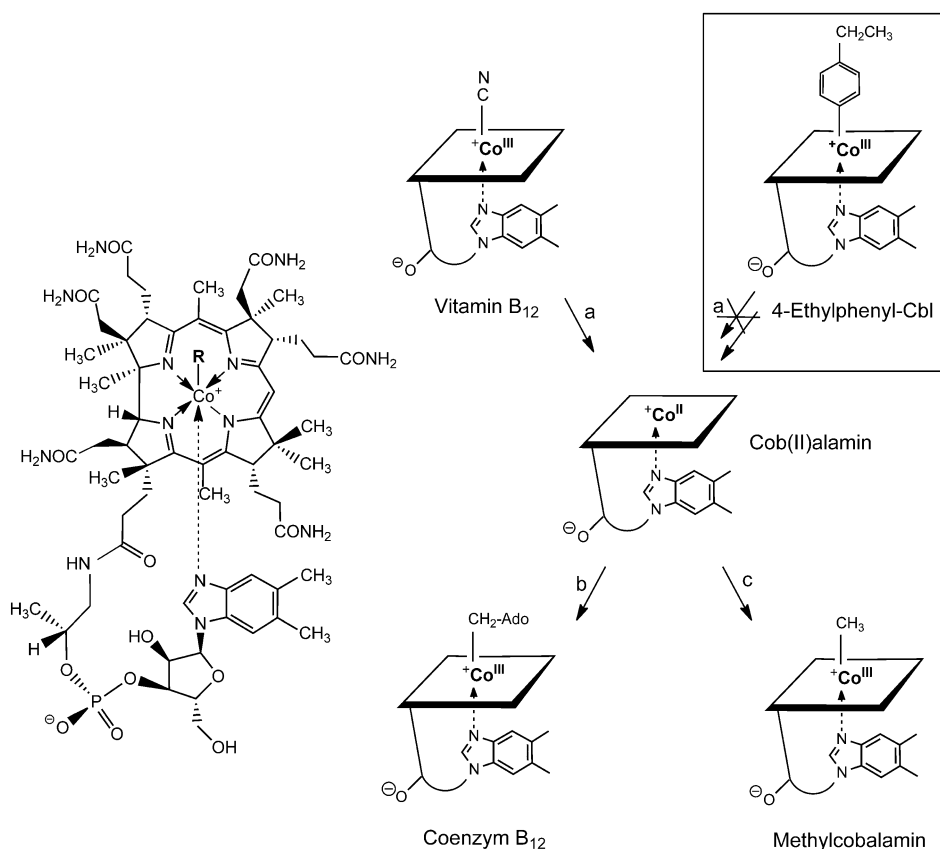
Dr. S. Fedosov
Department of Engineering Science
Aarhus University (Dänemark)

Prof. Dr. K. Gruber
Institut für Molekulare Biowissenschaften
Karl-Franzens-Universität Graz (Österreich)

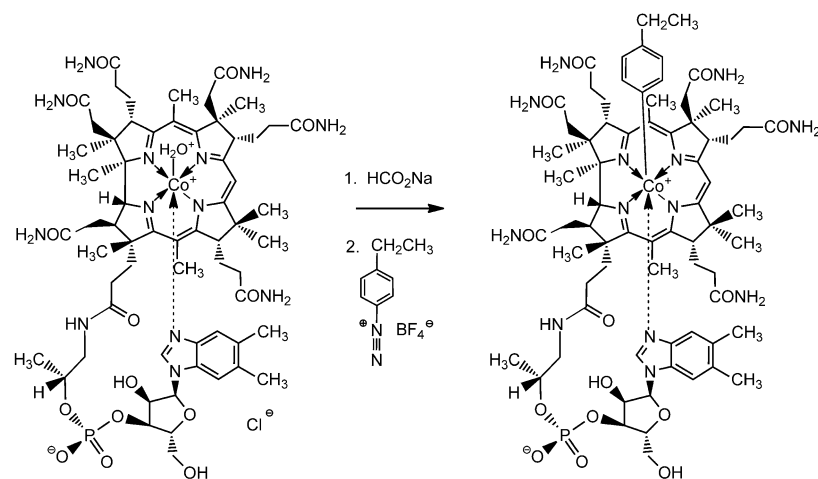
Dr. C. Gherasim, Prof. Dr. R. Banerjee
Department of Biological Chemistry
University of Michigan, Ann Arbor (USA)

[**] Wir danken Thomas Müller für die Aufnahme der Massenspektren und Ebba Nexö (Aarhus University) für hilfreiche Diskussionen. R.B. dankt den National Institutes of Health (NIH) für finanzielle Unterstützung (DK45776).

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201209651> zu finden.



Schema 1. Links: Allgemeine Strukturformel einiger relevanter Cobalamine: Vitamin B₁₂ (R = CN, Cyanocobalamin, CNCbl), Coenzym B₁₂ (R = 5'-Desoxyadenosyl, 5'-Desoxyadenosylcobalamin, AdoCbl), Methylcobalamin (R = Methyl, MeCbl), Aquocobalamin (R = H₂O, H₂O Cbl, ein Kation), 4-Ethylphenylcobalamin (R = 4-Ethylphenyl, EtPhCbl). Rechts: Symbole exemplarischer Cobalamine und deren biosynthetische Umwandlung in Säugetieren a) durch das Enzym CblC, b) durch Adenosyltransferase und c) durch Methioninsynthase. EtPhCbl ist gegen die Umwandlung durch CblC zu Cob(II)alamin inert.



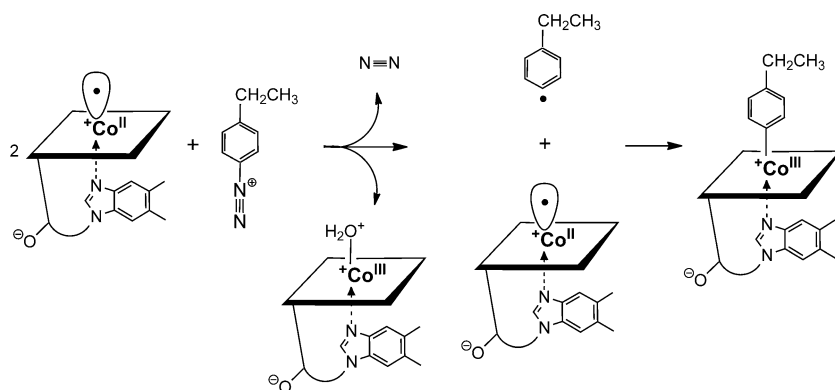
Schema 2. Synthese von EtPhCbl aus H₂OCbl und 4-Ethylphenyldiazonium-tetrafluoroborat.

würde dieses Radikal schnell und effektiv durch Cob(II)alamin abgefangen werden (Schema 3).

Die erwartete Struktur von Co_β-4-Ethylphenylcob(III)alamin wurde wie folgt bestätigt (siehe Hintergrundinformationen): Das UV/Vis-Spektrum ähnelte den Spektren

von metallorganischen B₁₂-Derivaten in ihrer Base-on-Form (siehe Hintergrundinformation, Abbildung S2). Das Pseudomolekülion mit einer Masse von $m/z = 1434.7$ war mit der molekularen Formel C₇₀H₉₇CoN₁₃O₁₄P vereinbar. ¹H-Homonukleare und ¹H,¹³C-heteronukleare NMR-Spektren in D₂O (siehe Hintergrundinformationen, Abbildung S4) ermöglichten die Zuordnung der Signale aller 82 Kohlenstoff-gebundenen Wasserstoffatome und aller 70 Kohlenstoffatome (siehe Hintergrundinformationen, Tabelle S1). Diese Spektren identifizierten EtPhCbl als Base-on-Cobalamin, das einen σ-gebundenen Arylliganden an der „oberen“ β-Seite des Cobaltzentrums trägt. ¹H-NMR-spektroskopische Daten und ¹H,¹H-NOE-Korrelationen deuteten darauf hin, dass die planare Phenylgruppe in „Nord-Süd“-Richtung orientiert ist und bei Raumtemperatur eine schnelle Rotation um ihre Co-C-Bindung durchläuft.

Kristalle von EtPhCbl wurden aus wässrigem Aceton gezüchtet. Die Kristallstruktur von EtPhCbl (Abbildung 1) wurde mithilfe von Synchrotronstrahlung mit Beugungsdaten bis zu einer Auflösung von 0.8 Å bestimmt. Das Corrin-gebundene Co^{III}-Zentrum befindet sich in einer pseudo-oktaedrischen Koordinationssphäre, mit den typischen Co-N-Abständen in der äquatorialen Ebene (siehe Hintergrundinformationen). Das Cobaltatom liegt knapp außerhalb der Ebene der vier Corrin-Stickstoffatome und ist um 0.029 Å in Richtung des oberen 4-Ethylphenylliganden verschoben. Der Co-C_β-Abstand des Arylliganden in EtPhCbl (1.981 Å) ist geringfügig kleiner als in Alkylcobalaminen (Mittelwert von 2.003 Å), doch größer als in Vinylcobalamin (1.91 Å).^[22] Der Co-N_α-Abstand zum *trans*-axialen Nukleotidliganden (2.230 Å) ist ebenfalls größer als in Vinylcobalamin (2.165 Å).^[22] Diese axialen Bindungslängen in EtPhCbl lassen auf einen starken inversen *trans*-Effekt in diesem Cobalamin schließen.^[23] Der Phenylring des β-Liganden ist in „Nord-Süd“-Richtung relativ zum Corrinring orientiert (Torsionswinkel C5-Co-C1β-C2β: 0.6°) und nahezu coplanar (3° Neigung) mit dem Dimethylbenz-



Schema 3. Vorgeschlagener Mechanismus der Bildung von EtPhCbl. Eine hypothetische Ein-elektronenreduktion von 4-Ethylphenyldiazonium-tetrafluoroborat durch Cob(II)alamin setzt Stickstoff frei und führt zu einem 4-Ethylphenylradikal, dessen Rekombination mit Cob(II)alamin EtPhCbl ergibt.

4-Ethylphenylcobalamin (EtPhCbl) band mit hoher Affinität an die beiden wichtigen menschlichen B₁₂-Transporterproteine, den Intrinsischen Faktor (IF) und Transcobalamin (TC), was mithilfe von Konkurrenzexperimenten mit CBC, einem fluoreszierenden Konjugat von CNCbl, getestet wurde (Abbildung 2 und Hintergrundinformationen, Abbildung S14). Die Bindung von CBC an ein Cbl-spezifisches Protein verstärkt die Lichtemission des Konjugats.^[13] Die Gegenwart eines konkurrierenden Cobalamins verringert die Fluoreszenz, die bei gleichen Konstanten der Bindungsgeschwindigkeit und $[Cbl] = [CBC]$ nach dem Schema $IF \cdot Cbl \leftarrow Cbl + IF + CBC \rightarrow IF \cdot CBC$ gleich 50% wird

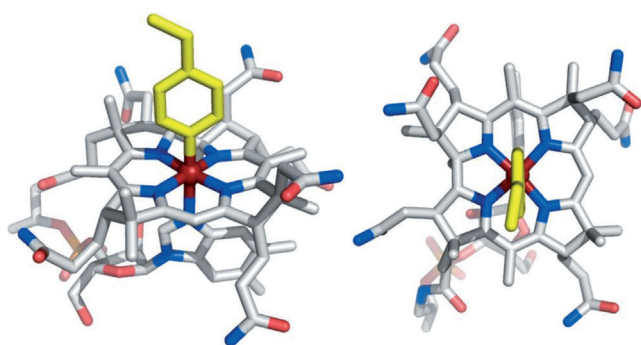


Abbildung 1. Zwei Projektionen der Struktur von EtPhCbl gemäß Röntgenstrukturanalyse; grau: C-Atome der Corrineinheit, gelb: C-Atome des Phenylliganden, dunkelrot: Co-Atom, blau: N-Atome, hellrot: O-Atome.

imidazoliganden. In Übereinstimmung mit den kurzen nichtbindenden Wechselwirkungen der Phenyl- und Corrineinheiten ist der Faltungswinkel der Corrineinheit auf einen Wert von 7.6(1)° verringert, nahe dem Rekordwert (5.9°) in *cis*-Chlorvinylcobalamin.^[22]

Orientierende Experimente mit dem Arylcobalamin EtPhCbl bestätigten dessen erwartete beispiellose thermische Stabilität und seinen Widerstand gegen Protolyse: 24-stündiges Erhitzen einer wässrigen Lösung von EtPhCbl (gepuffert bei pH 7) unter Rückfluss führte nicht zu nachweisbarer Spaltung der Co-C-Bindung und Zersetzung zu Aquocobalamin (H₂Ocbl). In leicht saurer wässriger Lösung wurde Base-on-EtPhCbl zu Base-off-EtPhCbl-H⁺ protoniert und zeigte einen pK_a-Wert von 3.7 ± 0.1 bei 25 °C (siehe Hintergrundinformationen, Abbildung S6), ähnlich dem von protoniertem Coenzym B₁₂ (AdoCbl-H⁺). Die Bildung von Aquocobalamin (H₂Ocbl) wurde auch nicht festgestellt, wenn eine saure wässrige Lösung (pH 2) von EtPhCbl sechs Stunden lang bei 95 °C erhitzt wurde (siehe Hintergrundinformationen, Abbildung S7). An Luft in wässriger Lösung war das Arylcobalamin EtPhCbl lichtempfindlich: Die Einwirkung von Tageslicht ergab H₂Ocbl durch Spaltung der Co-C-Bindung (siehe Hintergrundinformationen, Abbildung S11).

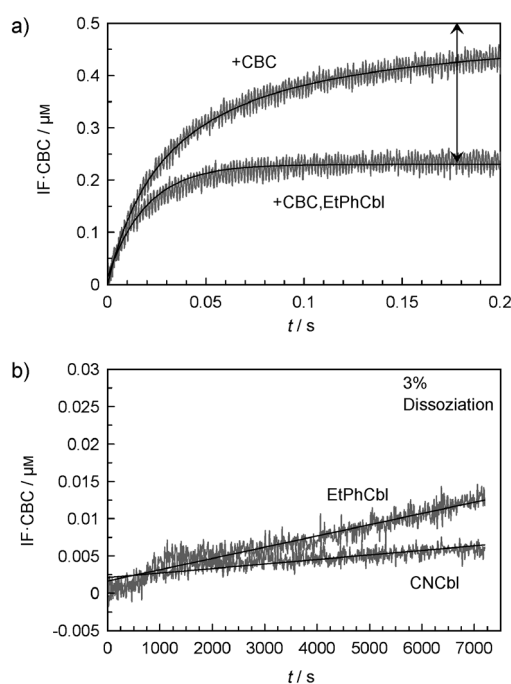


Abbildung 2. Wechselwirkung von EtPhCbl mit IF. a) Bindung von EtPhCbl an IF, gemessen durch Konkurrenz mit CBC ($k_{+CBC} = 64 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$): IF wurde schnell entweder mit CBC oder einer Lösung von CBC und EtPhCbl gemischt. Pfeil: Effekt der Konkurrenz zwischen CBC und EtPhCbl, in Übereinstimmung mit $k_{+EtPhCbl} = 79 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. b) Dissoziation von EtPhCbl von IF: Der mit EtPhCbl oder CNCbl (1.3 μmol) vorinkubierte Komplex von IF (1 μmol) wurde mit dem „Verfolger“-B₁₂-Derivat CBC (1.3 μmol) versetzt. Aus dem Anstieg der Fluoreszenz wurde die Geschwindigkeitskonstante der Dissoziation der ursprünglichen Komplexe berechnet: $k_{-EtPhCbl} \approx 1.5 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ und $k_{-CNCbl} \approx 6 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ (siehe Hintergrundinformationen für weitere Details).

(Abbildung 2a). Außerdem wurde die Dissoziationskinetik nach Vorinkubation von IF mit EtPhCbl oder CNCbl mit anschließender Zugabe des „Verfolger“-B₁₂-Derivats CBC gemessen. Der Prozess verlief gemäß dem Schema $IF \cdot Cbl \rightarrow Cbl + IF + CBC \rightarrow IF \cdot CBC$, wobei der erste Schritt geschwindigkeitsbestimmend war. Die Anfangssteigung ent-

spricht $k_- [\text{IF}\cdot\text{Cbl}]$ nach Umrechnung der Fluoreszenz auf die Konzentration von $[\text{IF}\cdot\text{Cbl}]$ (Abbildung 2b; die entsprechenden Bindungs-/Dissoziationsdaten für TC werden in den Hintergrundinformationen, Abbildung S14 gezeigt). Die Werte von k_+ und k_- wurden durch Anpassung mithilfe eines Computers berechnet. Die schnelle Bindung von EtPhCbl an IF ($k_+ = 7.9 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) und an TC ($k_+ = 9.3 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) wie auch die langsame Dissoziation von IF ($k_- < 5 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$) und TC ($k_- < 4 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$) glichen dem analogen Prozess mit CNCbl.^[24] Die berechnete Gleichgewichtsdissoziationskonstante von EtPhCbl war gleich $K_d \approx 2 \times 10^{-14} \text{ M}$ sowohl für IF und TC. Deshalb wird erwartet, dass die Aufnahme und Zirkulation des Arylcobalamins EtPhCbl mit ähnlicher Effizienz verläuft wie die von CNCbl.

Das Arylcob(III)alamin EtPhCbl band auch CblC mit hoher Bindungsaffinität, wie durch isotherme Kalorimetrie (ITC) bestimmt wurde ($K_d = 20 \text{ nM}$; siehe Hintergrundinformationen, Abbildung S17). In Analogie zu MeCbl erfordert eine feste Assoziation des Arylcobalamins EtPhCbl mit CblC seine Base-off-Form, was aus den charakteristischen Änderungen des UV/Vis-Absorptionsspektrums abgeleitet wurde (Abbildung 3a). Modellstudien anhand der Struktur von CblC im Kristall mit gebundenem MeCbl als Vorlage ließen eine solche Einlagerung von EtPhCbl mit seiner größeren Aryleinheit erwarten.^[25] Im Unterschied zur raschen, CblC-katalysierten Demethylierung von MeCbl durch Glutathion ($k_{\text{obs}} = 0.6 \text{ min}^{-1}$) war das Arylcorrinoiden EtPhCbl jedoch gegenüber der Entfernung seines Cobalt-gebundenen metallorganischen Liganden durch CblC beständig (Abbildung 3b), wobei eine Desalkylierungsrate nicht zuverlässig abgeschätzt werden konnte.

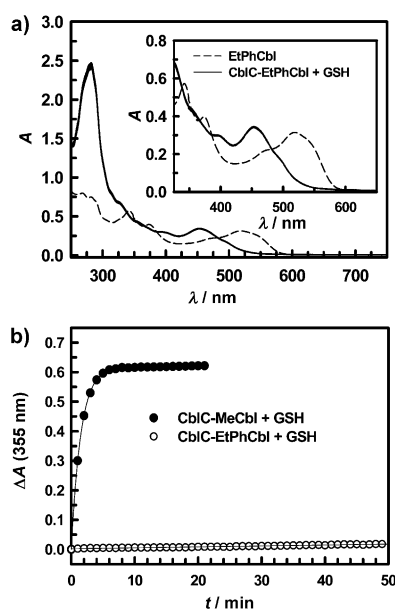


Abbildung 3. a) EtPhCbl wird in der Base-off-Form an CblC gebunden, wie an den charakteristischen spektralen Änderungen und der hypsochromen Verschiebung der Absorptionsmaxima ersichtlich ist. b) EtPhCbl wird (in Gegenwart von Glutathion (GSH), \circ) kaum messbar durch CblC verarbeitet, während MeCbl schnell demethyliert wird (\bullet); siehe Hintergrundinformationen für experimentelle Details.

4-Ethylphenylcobalamin (EtPhCbl) ist das erste Beispiel für ein metallorganisches Arylcobalamin, eine neue Gruppe von Co^{III} -Corrinen. Es wurde in einer Reaktion hergestellt, welche die Co-C-Bindung durch Kombination eines postulierten Arylradikals und Cob(II)alamin generiert. Dieser Syntheseweg ist beispiellos in der präparativen B_{12} -Chemie und nutzt die außergewöhnliche Fähigkeit von Cob(II)alamin und verwandten B_{12} -Derivaten, hochreaktive Radikale am Corrin-gebundenen Cobaltzentrum einzufangen.^[16,26] Laufende Untersuchungen in unserem Labor beschäftigen sich nun mit der Erweiterung des Anwendungsbereichs des hier entwickelten Verfahrens im Hinblick auf die Synthese anderer Arylcobalamine. Tatsächlich dürften die erwarteten Eigenschaften der Co-C-Bindungen von metallorganischen Aryl- Co^{III} -Corrinen das Interesse an dieser Klasse von Verbindungen wecken.

Wie aufgrund der Reaktivität seines Arylliganden angenommen, verfügt das B_{12} -Derivat EtPhCbl über eine Co-C-Bindung, die gegen Thermolyse stabilisiert und gegen Säure- und Nukleophil-induzierte Spaltung inert ist (siehe Hintergrundinformationen, Abbildungen S7, S8 und S12). Andererseits konnte die metallorganische Bindung von EtPhCbl effizient durch Licht abgespalten werden, was mit der typischen Lichtempfindlichkeit von metallorganischen B_{12} -Derivaten in Einklang ist.^[27] Diese Eigenschaft von Arylcobalaminen könnte Laserphotolyse mit sichtbarem Licht zu einem effizienten Hilfsmittel für das kontrollierte Freisetzen (mit räumlicher und zeitlicher Kontrolle) der maskierten Vitamineigenschaften solcher Antivitamine- B_{12} in Zellkultur- und Tierversuchen machen.

Somit stellen metallorganische Arylcobalamine eine neue Gruppe von chemisch inerten nichtnatürlichen Corrinoiden dar, die hier als B_{12} -Antagonisten (Antivitamine- B_{12}) entworfen wurden. Die bisher in Mikroorganismen getesteten B_{12} -Antagonisten waren Cobalamine mit Modifikationen am Corrinring oder am Nukleotid-Loop.^[28] Diese B_{12} -Antagonisten waren schlecht bindende Liganden mit geringer Affinität für B_{12} -Transportproteine von Säugetieren und waren deshalb nicht für eine effiziente Aufnahme geeignet.^[24] Im Unterschied dazu bindet EtPhCbl auch die menschlichen B_{12} -Transporter sowie das Verarbeitungsenzym CblC. Daher ist das Arylcorrinoid EtPhCbl potenziell nützlich in Säugetieren als Antagonist von Vitamin B_{12} und von B_{12} -Cofaktoren sowie von Cobalaminen mit vorgeschlagenen Nicht-Cofaktor-Rollen, z.B. von Nitroxylobalamin.^[29–31] EtPhCbl teilt die einzigartige Base-on-Struktur der Cobalamine und kann die vermuteten (spezifischen) Nicht-Cofaktor-Funktionen von B_{12} ausüben, die mit der Base-on-Form der Cobalamine assoziiert sind. Unter solche Funktionen fallen die spezifische direkte genregulatorische Wechselwirkung von Base-on-Cobalaminen mit RNA^[32–34] sowie alternative Arten der transkriptionellen^[35] oder posttranskriptionellen^[36,37] Regulierung.

Antivitamine- B_{12} („ B_{12} -Antimetaboliten“) wie EtPhCbl können besonders nützlich in Studien sein, in denen funktionaler B_{12} -Mangel unter Verwendung eines kontrollierten, nichtinvasiven Verfahrens künstlich in (intakten oder Wildtyp-)Labortieren induziert werden soll. Im Unterschied zum Ergebnis der chirurgischen Methode, welche die Versorgung

der Tiere mit Cobalaminen aus der Nahrung unterbricht, wird bei der Anwendung von EtPhCbl und ähnlichen Arylcobalaminen als Antivitamin-B₁₂ erwartet, dass nur B₁₂-abhängige Enzyme unterdrückt werden, sodass bisher schwer fassbare physiologische Rollen intakt bleiben können. Solche Studien könnten dazu beitragen, die vermutete Rolle von Cobalaminen bei degenerativen Hirn- und Nervenkrankheiten aufzuklären,^[11] und damit zur Klärung einiger wichtiger (und derzeit umstrittener) Themen im Zusammenhang mit der Pathophysiologie des B₁₂-Mangels beim Menschen beitragen.

Experimentelles

Aquocobalaminchlorid (Roussel UCLAF); Wasser wurde mit Epure (Barnstead Co) gereinigt; 4-Ethylphenyldiazonium-tetrafluorborat (siehe Hintergrundinformationen); Natriumformiat puriss p.a. (Fluka); Methanol HPLC-Grad (BDH prolabo); LiChroprep RP-18 (25–40 µm) (Merck). UV/Vis-Spektren: Hitachi-U3000. ESI-MS: Finnigan MAT95-S, Positiv-Ionen-Modus, Spannung 1.4 kV.

Synthese von EtPhCbl (siehe Hintergrundinformationen für weitere Details): In 2 mL destilliertem Wasser wurden 50.0 mg (36.2 µmol) Aquocobalaminchlorid (H₂O[Cbl⁺Cl⁻]) gelöst, und das Gemisch wurde mit Argon gesättigt, bevor 43.5 mg (0.65 mmol) Natriumformiat zugegeben wurden. Die Lösung wurde 30 min bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit 12.2 mg (55.5 mmol) 4-Ethylphenyldiazonium-tetrafluorborat versetzt. Die Mischung wurde eine weitere Stunde lang gerührt, und alle weiteren Operationen wurden unter Lichtschutz ausgeführt. Ein orangefarbenes Rohprodukt wurde ausgefällt und unter Hochvakuum getrocknet. EtPhCbl wurde durch RP-18-Säulenchromatographie isoliert. Das gereinigte rote EtPhCbl wurde in 0.4 mL Wasser gelöst, und 29.1 mg (20.3 µmol, 56% Ausbeute) EtPhCbl kristallisierten nach Zugabe von Aceton. UV/Vis ($c = 3.31 \times 10^{-5}$ M, 50 mM Phosphatpuffer pH 7): λ_{\max} (log ϵ) = 518 (3.80), 473 (3.65), 374 (3.88), 343(4.04), 281 (4.16), 268 nm (4.18) (siehe Hintergrundinformationen, Abbildung S1). MS: Positiv-Ionen-ESI (MeOH): m/z (%) = 1458.7 (14), 1457.7 (36), 1456.7 (40, [M+Na]⁺); 1436.7 (41), 1435.7 (84), 1434.7 (100, [M+H]⁺); siehe Hintergrundinformation für CD- und NMR-spektroskopische Daten, Details der Kristallstrukturanalyse sowie der verwendeten Methoden in den Protein-Bindungs-/Dissoziationsstudien und Enzymuntersuchungen. CCDC 848663 enthält die ausführlichen kristallographischen Daten zu dieser Veröffentlichung. Die Daten sind kostenlos beim Cambridge Crystallographic Data Centre über www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif erhältlich.

Eingegangen am 3. Dezember 2012

Online veröffentlicht am 28. Januar 2013

Stichwörter: Arylliganden · Cobalamine · Metallorganische Bindung · Radikalreaktionen · Vitamine

[1] W. Friedrich, *Vitamins*, Walter de Gruyter, Berlin, **1988**.

[2] W. S. Beck in *B₁₂, Vol. II* (Hrsg.: D. Dolphin), Wiley, New York, **1982**, S. 1.

[3] B. Kräutler, D. Arigoni, B. T. Golding, *Vitamin B₁₂ and B₁₂-Proteins*, Wiley-VCH, Weinheim, **1998**.

[4] R. Banerjee, *Chemistry and Biochemistry of B₁₂*, Wiley, New York, **1999**.

[5] K. L. Brown, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2075.

[6] B. Kräutler, B. Puffer in *Handbook of Porphyrin Science, Vol. 2* (Hrsg.: K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard), World Scientific, Singapur, **2012**, S. 133.

[7] R. Banerjee, C. Gherasim, D. Padovani, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2009**, *13*, 484.

[8] J. P. Lerner-Ellis, J. C. Tirone, P. D. Pawelek, C. Dore, J. L. Atkinson, D. Watkins, C. F. Morel, T. M. Fujiwara, E. Moras, A. R. Hosack, G. V. Dunbar, H. Antonicka, V. Forgetta, C. M. Dobson, D. Leclerc, R. A. Gravel, E. A. Shoubridge, J. W. Coulton, P. Lepage, J. M. Rommens, K. Morgan, D. S. Rosenblatt, *Nat. Genet.* **2006**, *38*, 93.

[9] L. Hannibal, J. Kim, N. E. Brasch, S. H. Wang, D. S. Rosenblatt, R. Banerjee, D. W. Jacobsen, *Mol. Genet. Metab.* **2009**, *97*, 260.

[10] J. Kim, L. Hannibal, C. Gherasim, D. W. Jacobsen, R. Banerjee, *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 33418.

[11] G. Scalabrino, *Prog. Neurobiol.* **2009**, *88*, 203.

[12] G. Scalabrino, M. Peracchi, *Trends Mol. Med.* **2006**, *12*, 247.

[13] S. N. Fedosov in *Water Soluble Vitamins* (Hrsg.: O. Stanger), Springer, Berlin, **2011**, S. 347.

[14] B. Kräutler in *Water Soluble Vitamins* (Hrsg.: O. Stanger), Springer, Berlin, **2011**, S. 323.

[15] B. Kräutler, *Helv. Chim. Acta* **1984**, *67*, 1053.

[16] H. Fischer, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 3925.

[17] D. E. Linn, E. S. Gould, *Inorg. Chem.* **1988**, *27*, 1625.

[18] M. Tollinger, T. Dérer, R. Konrat, B. Kräutler, *J. Mol. Catal. A* **1997**, *116*, 147.

[19] M. Puchberger, R. Konrat, B. Kräutler, U. Wagner, C. Kratky, *Helv. Chim. Acta* **2003**, *86*, 1453.

[20] M. B. Smith, J. March, *March's Advanced Organic Chemistry*, 6. Aufl., Wiley-Interscience, Hoboken, **2007**.

[21] L. Fensterbank, J. P. Goddard, M. Malacria, C. Ollivier, *Chimia* **2012**, *66*, 425.

[22] K. M. McCauley, D. A. Pratt, S. R. Wilson, J. Shey, T. J. Burkey, W. A. van der Donk, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 1126.

[23] D. J. A. De Ridder, E. Zangrando, H.-B. Bürgi, *J. Mol. Struct.* **1996**, *374*, 63.

[24] S. N. Fedosov, M. Ruetz, K. Gruber, N. U. Fedosova, B. Kräutler, *Biochemistry* **2011**, *50*, 8090.

[25] M. Koutmos, C. Gherasim, J. L. Smith, R. Banerjee, *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 29780.

[26] B. Kräutler, B. Puffer, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 9965–9966; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 9791–9792.

[27] A. G. Cole, L. M. Yoder, J. J. Shiang, N. A. Anderson, L. A. I. Walker, M. M. B. Holl, R. J. Senson, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 434.

[28] W. Friedrich in *Fermente, Hormone und Vitamine, Vol. III/2* (Hrsg.: R. Ammon, W. Dirscherl), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1975**.

[29] L. Hannibal, C. A. Smith, D. W. Jacobsen, N. E. Brasch, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 5232–5235; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 5140–5143.

[30] R. Mukherjee, N. E. Brasch, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 11805.

[31] C. S. Birch, N. E. Brasch, A. McCaddon, J. H. H. Williams, *Free Radical Biol. Med.* **2009**, *47*, 184.

[32] S. Gallo, M. Oberhuber, R. K. O. Sigel, B. Kräutler, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 1408.

[33] R. R. Breaker, *Science* **2008**, *319*, 1795.

[34] A. Peselis, A. Serganov, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2012**, *19*, 1182.

[35] J. M. Ortiz-Guerrero, M. C. Polanco, F. J. Murillo, M. Elias-Arnanz, S. Padmanabhan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 7565.

[36] S. Oltean, R. Banerjee, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 32662.

[37] S. Oltean, R. Banerjee, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 20778.