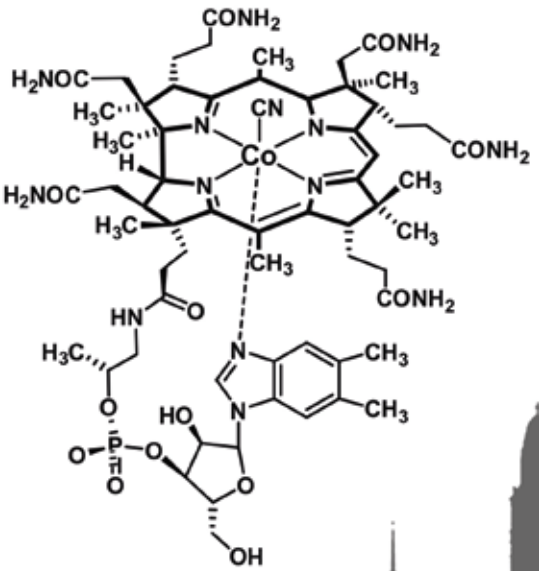
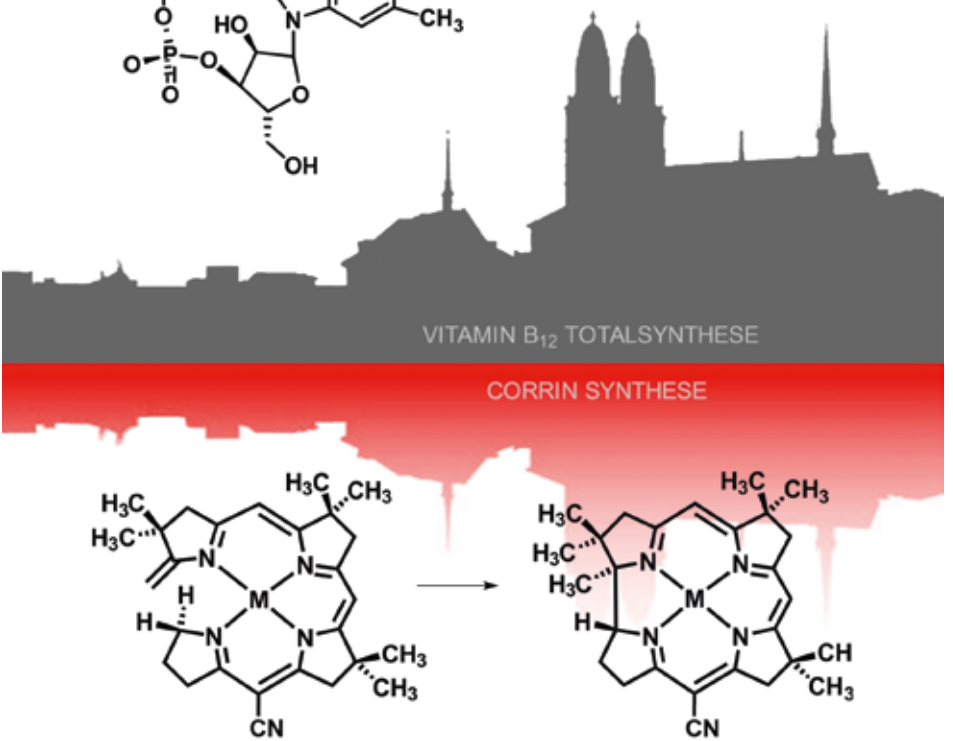
Vitamin B_{12}

Ein kobalthaltiges molekulares Geschenk aus der Welt der Bakterien





Neujahrsblatt
der Naturforschenden Gesellschaft in Zürich NGZH
223. Stück | 2021

Felix Zelder und Bernhard Kräutler

Umschlagbild:

Künstlerische Darstellung von Zürichs Beitrag zur legendären Totalsynthese des Vitamin B_{12} Moleküls.

René Oetterli (CC BY-NC-SA 4.0)

Vitamin B_{12}
Ein kobalthaltiges molekulares Geschenk aus der Welt der Bakterien

Felix Zelder und Bernhard Kräutler

Neujahrsblatt
der Naturforschenden Gesellschaft in Zürich NGZH
223. Stück | 2021

Naturforschende Gesellschaft in Zürich
www.ngzh.ch

Swiss Academy of Sciences
Akademie der Naturwissenschaften
Accademia di scienze naturali
Académie des sciences naturelles

Impressum

Das Neujahrsblatt der NGZH erscheint einmal jährlich auf den 2. Januar (Berchtoldstag) als Ergänzung zur Vierteljahrsschrift.

Herausgeber

Naturforschende Gesellschaft in Zürich NGZH

Redaktion

Felix Zelder und Bernhard Kräutler

Adresse der Autoren

Felix Zelder
Institut für Chemie
Universität Zürich
www.felix-zelder.net

Bernhard Kräutler
Institut für Organische Chemie
und Centrum für Molekulare
Biowissenschaften
Universität Innsbruck
www.uibk.ac.at/organic/kraeutler

Gestaltung und Satz

Barbara Hoffmann
www.barbara-hoffmann.com

Druck

Koprint AG, Alpnach Dorf

Auflage

1 300

Bezug

Sekretariat a. i.
Fritz Gassmann
Limmatstrasse 6
5412 Vogelsang

sekretariat@ngzh.ch

ISSN

0379-1327

©2021
Naturforschende Gesellschaft
in Zürich

Bildrechte

Ausgenommen Figuren 5, 19, 23, 24, 25 und 30 dürfen Abbildungen mit Quellenangabe reproduziert und veröffentlicht werden. Für Veränderungen ist die Bewilligung des betreffenden Autors einzuholen.

Mit Unterstützung von

sc | nat

Swiss Academy of Sciences
Akademie der Naturwissenschaften
Accademia di scienze naturali
Académie des sciences naturelles

Vitamin B_{12}

Ein kobalthaltiges molekulares Geschenk aus der Welt der Bakterien

Felix Zelder und Bernhard Kräutler

Summary

Vitamin B_{12} represents the structurally most complex and only metal-containing vitamin. Its discovery dates back to the 19th century and is associated with pernicious anemia, a deadly disease because of deficiency of the cofactor. At those times, the structure and functions of vitamin B_{12} were still unexplored. It took one hundred years of innovative research and required the development of new methods, techniques and tools until the vitamin was isolated and its complex structure elucidated. The corrin fragment showed important differences with other related porphyrinoids such as heme. Cobalamins were also considered for long time as the only natural products containing a metal-carbon bond. Several milestones in the history of medicine, biology and chemistry are closely associated with vitamin B_{12}. In this context, the chemical synthesis of vitamin B_{12} is of special importance for Zurich. The group of Albert Eschenmoser from the ETH Zurich published in 1964 the first chemical synthesis of a corrin and in 1972 the first total synthesis of vitamin B_{12} (independently and in collaboration with R. B. Woodward). These achievements led to a paradigm shift in chemistry. Today, many aspects of the biology and enzymology of vitamin B_{12} are well explored, but important metabolic dependencies and fascinating new vitamin B_{12}-dependent biological transformations were only discovered in recent years. Several research studies suggest that vitamin B_{12} is associated with important neurological diseases such as Parkinson and Alzheimer. In contrast, the strong demand of rapidly dividing cancer cells for vitamin B_{12} has been known for long, but stimulated only in the last years the development of new B_{12}-based approaches for medical applications. In this Neujahrsblatt, the two authors Felix Zelder and Bernhard Kräutler present an interesting journey through the history, chemistry, biology and medicine of vitamin B_{12}. They report in six chapters from its discovery and chemical total synthesis to current research activities.

Keywords
vitamin B_{12}, corrin, cobalamin, cofactor, cobalt, pernicious anemia, Alzheimer, Parkinson, liver therapy, antivitamins, cancer therapy, bacteria

Inhalt

Einleitung 6
Bernhard Kräutler

Vitamin B_{12} — ein komplexer Naturstoff 9
Bernhard Kräutler

B_{12}-Kofaktoren als biologisch wichtige Kobaltkomplexe 25
Bernhard Kräutler

Totalsynthese von Vitamin B_{12} 34
Felix Zelder

Entdeckung von Vitamin B_{12} 44
Felix Zelder

Medizinische Bedeutung von Vitamin B_{12} 49
Felix Zelder

Diagnostische und therapeutische Anwendungen von B_{12}-Derivaten 54
Felix Zelder

Referenzen 66

Autoren und Dank 72

Einleitung

Bernhard Kräutler

Vitamin B_{12}, dieser wundersame und einzigartig hochkomplex strukturierte, kobalthaltige Natur- und Wirkstoff, verdankt seine Entdeckung einer tödlichen Mangelkrankheit, die man wg. ihres Effektes auf das Blut als ‹perniziöse Anämie› bezeichnete. Wichtige Vorarbeiten zu dieser Entwicklung wurden schon (ohne einen damals erkennbaren kausalen Zusammenhang) im 19. Jhdt. geleistet, u. a. in Zürich. In den letzten etwa 60 Jahren wurde Vitamin B_{12} in Zürich zum Gegenstand einmaliger Forschungsleistungen, das deshalb auch ein speziell hervorragendes Thema für ein Neujahrsblatt der Naturforschenden Gesellschaft Zürich sein sollte.

Das 1948 erstmals beschriebene Cobalamin Vitamin B_{12} gehört zu den weitverbreiteten und für alle irdischen Lebensbereiche wichtigen Cobamiden, deren biologische Bedeutung heute erst in einem volleren Masse erkannt wird. Nicht nur Mensch und höhere Tiere, wie Säugetiere, benötigen die speziellen Cobalamine als Vitamin, sondern viele niedere Tiere, Algen, Bakterien und die sogenannten Archäen bedürfen ebenfalls der Cobamide für ihren Metabolismus. Bemerkenswerterweise ist die aufwändige Erzeugung der B_{12}-Kofaktoren auch ein biologisches Monopol von Vertretern der ‹primitiven› Prokaryonten (Archäen und manche Bakterien) und wir Menschen verdanken (wieder einmal) solchen einfachen Organismen ein für unsere Existenz lebenswichtiges Produkt. Albert Eschenmoser (ETH Zürich) hat vorgeschlagen, dass der Kobaltcorrin-Kern von Vitamin B_{12} in einer einfacheren Urform schon während der ‹präenzymatischen› Frühzeit des Lebens existiert haben könnte und schon dann mit wichtigen Katalyse-Eigenschaften der Entwicklung einfacher Lebensformen auf die ‹Sprünge geholfen› haben dürfte **(Eschenmoser, 1988)**.

Die grundlegenden Katalysewirkungen der B_{12}-Kofaktoren in der heutigen Welt sind womöglich ‹Überbleibsel› ähnlicher Rollen der vorgeschlagenen B_{12}-Frühformen in den hypothetisch sauerstoffarmen frühen irdischen Lebenssphären. Einzigartige B_{12}-katalysierte Radikalreaktionen haben in diesem Zusammenhang eine speziell bemerkenswerte Position. Das organometallische Koenzym B_{12} (‹Nature's Most Beautiful Cofactor›) **(Stubbe, 1994)** ist ein einmalig reversibel wirkender ‹Radikalstarter›, der wichtige — nun auch biochemisch verständliche — Enzymreaktionen katalysiert, wie die im Menschen wichtige Methylmalonyl-Koenzym-A-Mutase Reaktion. Der naheverwandte, organometallische

B_{12}-Kofaktor Methylcobalamin, ein hochreaktiver biologischer Methylgruppenüberträger, katalysiert im Menschen (aber auch in vielen anderen Lebewesen) ebenfalls metabolisch entscheidende Methylierungs- bzw. Demethylierungs-Reaktionen, die auch in die zelluläre Genetik und Epigenetik eingreifen. B_{12}-Kofaktoren sind des Weiteren kritische Katalysatoren bei der global wichtigen bakteriellen Kohlendioxid-Fixierung und bei der anaeroben Entgiftung von Halogenkohlenwasserstoffen in der Umwelt, sowie Bindungspartner bei der B_{12}-abhängigen Genregulation in Mikroorganismen.

Vitamin B_{12} und Koenzym B_{12} hatten zur Zeit ihrer Entdeckung eine unlösbare, sogar ‹furchterregende Komplexität› **(Todd, 1979)**. Erst die bahnbrechenden Kristallstrukturanalysen im Hodgkin'schen Labor (Oxford) mittels Röntgenbeugung konnten diese Problematik — Nobelpreis-würdig — lösen **(Hodgkin, 1965)**. Der dabei entdeckte vorher unbekannte Corrin-Ligand war ein chemisch unerforschtes ‹Neuland›, welches von Albert Eschenmoser als herausforderndes Synthesetarget ausgewählt wurde und so auch bald mittels beispielhafter Synthesezugänge erobert werden konnte. Die darauf aufbauende Totalsynthese in zwei Varianten des noch komplizierter strukturierten Vitamins B_{12} in der Zusammenarbeit von Albert Eschenmoser und Robert B. Woodward (Harvard University) war eine Meisterleistung der Synthesestrategie und der Synthesekunst **(Eschenmoser and Wintner, 1977; Woodward, 1979)**, die andere Wissenschafts-Höhepunkte zur Folge hatten, wie die Formulierung der sogenannten Symmetrieregeln bei perizyklischen Reaktionen (als Woodward-Hoffmann Regeln Lehrbuch-Wissen) und die chemische Rationalisierung der Struktur von Vitamin B_{12} **(Eschenmoser, 1988)**. Die damit einhergehende Aufklärung von B_{12}-Biosynthesen und wichtiger biologischer Wirkungsweisen der B_{12}-Kofaktoren (teils unter namhafter Beteiligung von Wissenschaftlern an der ETH) sind weitere B_{12}-Highlights, die unser naturwissenschaftliches Weltbild fächerübergreifend erweitert und mitgeprägt haben. Die Züricher Pionierarbeiten haben die weltweite Forschung auf dem B_{12}-Gebiet bis in die Gegenwart befruchtet, so auch jene der beiden Autoren Felix Zelder (mit Roger Alberto an der Universität Zürich) und Bernhard Kräutler (in Innsbruck).

Die Hochschulen in Zürich haben sich speziell in der zweiten Hälfte des 20. Jhdts. zu einem Mekka der B_{12}-Wissenschaft entwickelt. Neben den oben rekapitulierten Höhepunkten in der B_{12}-Wissenschaft und nach den ersten beiden ‹Europäischen

Symposien über Vitamin B_{12} und den Intrinsischen Faktor› (1957 und 1962) in Hamburg, fand das (dritte) ‹Europäische Symposium über Vitamin B_{12} und den Intrinsischen Faktor› 1979 in Zürich (an der Universität) statt **(Zagalak and Friedrich, 1979)**, gefolgt vom (vierten) ‹Europäischen Symposium über Vitamin B_{12} und B_{12}-Proteine› 1996 an der Universität Innsbruck **(Kräutler et al., 1998)** sowie späterer, international organisierter Tagungen zum Thema Vitamin B_{12}.

Vitamin B_{12} und die ebenfalls leuchtend roten organometallischen B_{12} Kofaktoren Koenzym B_{12} und Methylcobalamin sind zusammen mit den verwandten anderen Cobamiden weiterhin weltweit herausfordernde, medizinisch und ernährungswissenschaftlich wichtige Naturstoffe. Untersuchungen mit diesen ‹nieder-molekularen› Verbindungen führen fortlaufend zu überraschenden neuen Entdeckungen und, darauf aufbauend, zu entsprechend vertieften Erkenntnissen. Dennoch ist das für uns in einer fast unsichtbaren Menge von durchschnittlich nur etwa 0.1 Mikrogramm/kg Körpergewicht pro Tag unabkömmliche Vitamin B_{12} in manchen medizinischen Belangen noch immer mysteriös. Vitamin B_{12} und B_{12}-Mangel sind weiterhin Quell speziell tiefgründiger medizinischer Rätsel, z. B. im Zusammenhang mit der altersbedingten Demenz und mit anderen neurologischen Pathologien. Ihre Aufklärung wird uns manch überraschende Antwort und weitere Fragestellungen bescheren und dann auch immer wieder unerwartete neue Erkenntnisse zum physiologisch geheimnisvollen Wirken der Cobalamine bringen.

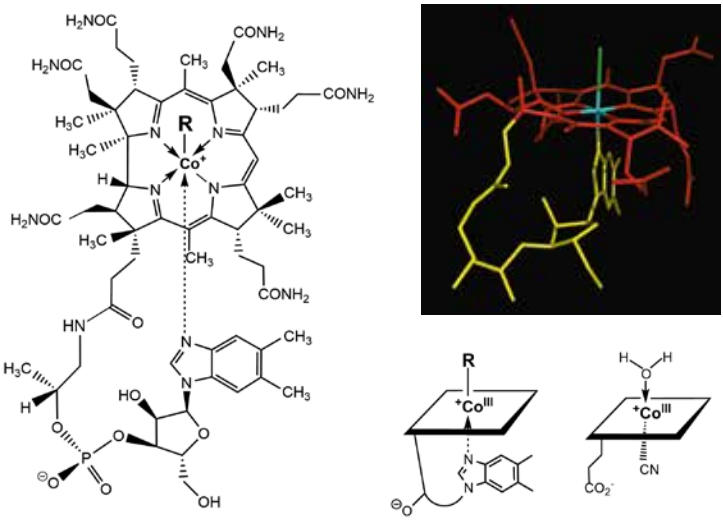
Vitamin B_{12} — ein komplexer Naturstoff

Bernhard Kräutler

Vitamin B_{12} wurde dank eingehender medizinischer Studien etwa im Laufe des letzten Jahrhunderts nach und nach entdeckt und schliesslich vor etwas über 70 Jahren als kristalline Substanz rein isoliert. Wie zunächst vom Pathologen George H. Whipple in den 1920er Jahren an Hunden getestet, enthält rohe Leber den damals noch unbekannten Wirkstoff, der von gesunden Säugern mit der Nahrung aufgenommen wird und dessen Fehlen im Metabolismus die tödliche Mangelkrankheit perniziöse Anämie verursacht. In Erkenntnis dieser Resultate behandelten die Mediziner George R. Minot und William P. Murphy mit analogem Erfolg ihre Anämie-Patienten mit roher Leber in der Nahrung, was den drei genannten US-amerikanischen Forschern im Jahr 1934 den Nobelpreis für Physiologie und Medizin einbrachte. Erst nach jahrelanger Suche konnten Chemiker um Karl Folkers (USA) den eigentlichen, gut wasserlöslichen ‹Antiperniziosa Faktor› kristallin isolieren **(Rickes et al., 1948)** und kurz danach berichteten auch Smith und Parker (England) im selben Jahr über dieselbe rote Verbindung, welcher der Name Vitamin B_{12} gegeben wurde **(Smith and Parker, 1948)**. Dabei stellte sich heraus, dass der gut kristallisierbare Cyano-Komplex Vitamin B_{12} = Cyanocobalamin (CNCbl) → **Figur 1** Kobalt enthielt und nicht nur aus roher Leber, sondern noch einfacher auch aus manchen Bakterienkulturen rein isoliert werden konnte. Verschiedene sogenannte Cobalamine (Cbl) sind heutzutage neben CNCbl als therapeutisch wirksame B_{12}-Vitaminformen im Gebrauch **(Green et al., 2017)**.

Struktur

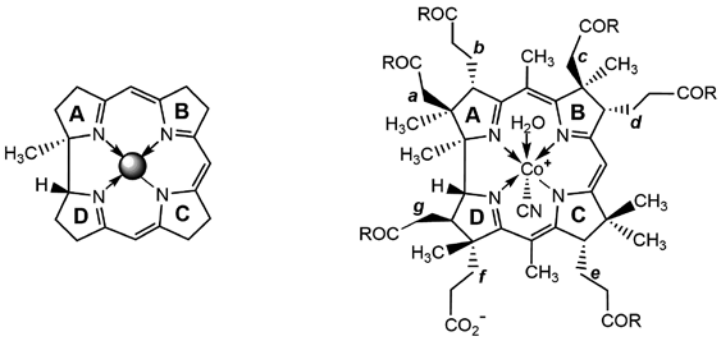
Die chemische Struktur von Vitamin B_{12} liess sich mit den um 1950 vorhandenen chemischen Methoden nicht aufklären. Durch Elementaranalysen konnte zunächst neben Kobalt auch Phosphor nachgewiesen und schliesslich seine Summenformel als $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ ermittelt werden. Durch kontrollierten Abbau von Vitamin B_{12} wurden des Weiteren das Pseudonukleotid α-Ribazol und optisch aktives 2-Aminopropanol als wichtige farblose Bausteine erkannt, welche offenbar kovalent mit der roten Kernkomponente Cobyrsäure verknüpft waren, einem strukturell weiterhin rätselhaften Kobaltkomplex → **Figuren 1 und 2**. Die hohe



Figur 1

Strukturformeln für Cobalamine Vitamin B_{12} (R = CN, CNCbl), Koenzym B_{12} (R = 5'-Deoxyadenosyl, AdoCbl), Methylcobalamin (R = Methyl, MeCbl); Strukturmodell von Vitamin B_{12}; Symbolik für Cobalamine und Co_{α}cyano-Co_{β}aquo-Cobyrsäure (Strukturformel in → Figur 2).

Bild: B. Kräutler



Figur 2

Grundgerüst des Corrin Liganden in einem Metallo-Corrin und Strukturformeln von Co_{α}cyanoCo_{β}aquo-Cobyrinsäure (R = OH) und Co_{α}cyanoCo_{β}aquo-Cobyrsäure (R = NH_2) mit der üblichen Bezeichnung der pyrrolischen Ringe und der Seitenketten.

Bild: B. Kräutler

Kristallisationstendenz des Vitamins B_{12} (CNCbl) und der etwas einfacher aufgebauten Cobyrsäure erlaubte es aber im Labor von Dorothy C. Hodgkin (England) die Struktur von Vitamin B_{12} in einer kristallographischen Pionierleistung vollständig zu ermitteln. Bei diesen Untersuchungen wurde der für B_{12}-Derivate zentrale, natürliche Corrin-Ligand entdeckt → **Figur 2**, dessen genaue hochsubstituierte Struktur erst nach und nach (im Jahr 1956) klar ersichtlich wurde **(Hodgkin et al., 1956)**. Die kristallisierte Cobyrsäure enthielt demnach ein 6-fach koordiniertes Co(III)-Zentrum, welches vom natürlichen Corrin-Liganden ‹äquatorial› gebunden und weiters Cyanid und ein Wassermolekül als ‹axial› koordinierte Liganden trug. In Vitamin B_{12} ist der Cobyrsäure-Kern mit einer am Ring D an der Corrin-Peripherie kovalent

befestigten Pseudonukleotid-Funktion verknüpft, welche mit ihrer heterozyklischen Dimethylbenzimidazol-Einheit direkt als formal 5. Ligand-Atom intramolekular am Kobalt-Zentrum koordiniert. Die Stereochemie am Ort der kovalenten Befestigung der B_{12}-Nukleotidfunktion am Corrin-Ring führt zu dessen intramolekularer Kobalt-Koordination von ‹unten› (an der sogenannten α-Seite) und ordnet dem Cyanid-Liganden seinen ‹oberseitigen› (β-seitigen) Platz am 6-bindigen Co(III)-Ion zu. Die Position des Cyanid-Anions von CNCbl wird in den anderen Cobalaminen von einem spezifischen anderen Liganden am Co(III)-Zentrum eingenommen, z. B. von einer Methylgruppe in Methylcobalamin (MeCbl). Vitamin B_{12} und analoge Cobalamine sind Naturstoffe mit einer einzigartigen Struktur **(Eschenmoser, 1988)**. Ihr helikaler Corrin-Ligand bindet ein asymmetrisch umgebenes Kobalt-Ion und trägt neun asymmetrische Kohlenstoff-Zentren. Vitamin B_{12} und die Cobalamine sind dank ihrer fest intramolekular koordinierten Dimethylbenzimidazol-Einheit in der gut bekannten, typisch sehr stabilen sogenannten ‹base-on› Form nicht nur im dreidimensionalen Raum chiral (= händig), sondern sie sind auch topologisch chiral → **Figur 1 (Kräutler and Puffer, 2012)**.

Die Aufdeckung der hochkomplexen Struktur von Vitamin B_{12} führte zur akuten Frage nach der speziellen Wirkungsweise und seiner biologisch und medizinisch unentbehrlichen Rolle. Vitamin B_{12} und seine natürlichen Derivate haben offensichtlich wichtige metabolische Rollen nicht nur in Menschen und andern Säugern, sondern (speziell) auch in verschiedenen bakteriellen Mikroorganismen, die ja früh als ergiebige alternative Quellen von Vitamin B_{12} genutzt wurden. Den rätselhaften biologischen Wirkungsweisen der Corrinoide kamen H. Barker und Mitarbeiter erstmals signifikant näher. Sie beschrieben eine strukturell ungeklärte B_{12}-Koenzym Form, welche im Bakterium *Clostridium tetanomorphum* die mechanistisch rätselhafte Umlagerung der proteinogenen Aminocarbonsäure Glutamat zu Methylaspartat beim metabolisch wichtigen Glutamat-Abbau bewerkstelligen half. Das neue orangerote B_{12}-Derivat wurde durch sichtbares Licht in Gegenwart von Cyanid in das zu B_{12} verwandte Pseudovitamin B_{12} umgewandelt, welches aber analog zu Vitamin B_{12} die Glutamat Mutase Reaktion selbst nicht aktivieren konnte. Weitere Arbeiten aus dem Barker'schen Labor führten 1959 zur Isolation von Koenzym B_{12}, einer roten, Adenin enthaltenden Verbindung, die sich durch Licht (und Cyanid) unter Abspaltung des Adenin enthaltenden Teils in

das nun bekannte Vitamin B_{12} überführen ließ **(Weissbach et al., 1959)**. Dank der Kristallisation von Koenzym B_{12} bot die röntgenkristallographische Analyse wiederum einen Weg, seine rätselhafte Struktur im Hodgkin'schen Labor aufzuklären, wo es gelang Koenzym B_{12} als das gut wasserlösliche organometallische Vitamin B_{12}-Derivat Adenosylcobalamin (AdoCbl) zu charakterisieren **(Hodgkin, 1965)**. Diese spektakuläre indirekte Entdeckung der unerwarteten biologischen Relevanz einer organometallischen Verbindung veranlasste eine Reihe von chemischen Laboratorien die Synthese von strukturell einfacheren organometallischen B_{12}-Derivaten aus Vitamin B_{12} zu erforschen. Unter diesen wurde das damals noch unbekannte einfachste organometallische Cobalamin hergestellt, Methylcobalamin (MeCbl), dem später auch eine essentielle Rolle im menschlichen Metabolismus zuerkannt wurde, sowie ebenfalls das Koenzym B_{12} **(Bernhauer et al., 1963)**.

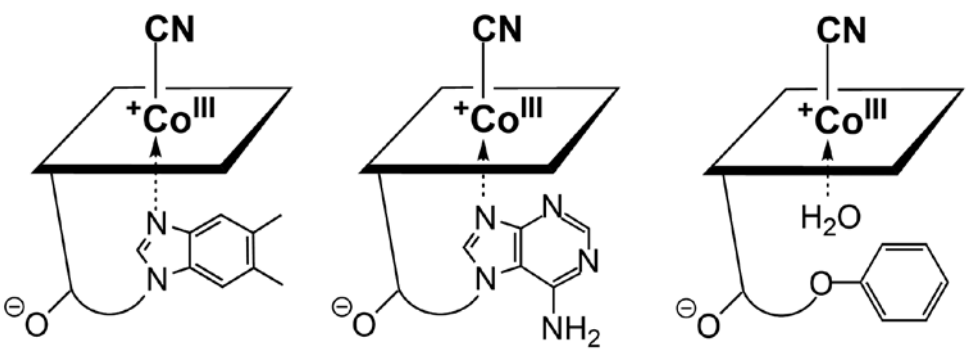
Der zyklische Corrin-Ligand von Vitamin B_{12} ist ein ringverengtes natürliches ‹Porphyrinoid› und ist strukturell und biosynthetisch mit dem wichtigen, natürlichen Eisenporphyrin Häm verwandt, sowie mit den in der Natur ebenfalls verbreitet auftretenden Chlorophyllen **(Eschenmoser, 1988)**. Die direkte kovalente Verknüpfung der pyrrolischen Ringe A und D des Corrin-Liganden → **Figur 2** verringert die Grösse des Koordinationsraumes und führt zu einer ausserordentlich festen Bindung des Kobalt-Zentrums. Die trans-ständige A/D-Verknüpfung an den gesättigten Positionen der Ringe A und D führt zur Corrin-spezifischen Liganden-Helix, die in natürlichen B_{12}-Derivaten einheitlich links-chiral ist. Beide Konsequenzen der direkten A/D-Binding (Verengung und Helizität des Corrin-Makrozyklus) sind wichtige Merkmale des Corrin-Liganden und beeinflussen die Reaktivität des gebundenen Kobalts entscheidend **(Eschenmoser, 1988; Kieninger et al., 2019b)**. Zusammen mit den dicht gebundenen Substituenten an der gesättigten Liganden-Peripherie schränkt die A/D-Verknüpfung auch den Corrin-Chromophor zu einem linear konjugierten 13-zentrigen π-System ein → **Figur 2**, welches mit seinen vier Stickstoffatomen grob ähnlich jenem von Cyanin-Farbstoffen ist. Die effektive Lichtabsorption im sichtbaren Bereich und (damit) die rote Farbe von Vitamin B_{12} und der anderen luftstabilen Co(III)-Corrine kommen weitgehend durch das konjugierte π-System des Corrins zustande. Das gebundene Kobaltzentrum und seine Axialliganden modulieren aber die Absorption des Lichtes und die Farbe charakteristisch, weswegen die Absorptionsspektren von B_{12}-Derivaten strukturanalytisch wichtig sind **(Friedrich, 1975; Isler et al., 1988)**.

Das oben beschriebene Vitamin B_{12}, welches wie die andern Cobalamine ein 5,6-Dimethylbenzimidazol (DMB) als Heterozyklus des Nukleotidteils enthält, wird auch als ein 5,6-Dimethylbenzimidazolyl-Cobamid klassifiziert. Aus natürlichen Quellen, wie einzelnen bakteriellen Medien oder Faulschlamm, wurden über ein Dutzend verschiedener Cobamide u. a. als die entsprechenden Cyano-Co(III)-Komplexe isoliert, die aber wegen der wichtigen Modifikation ihres Nukleotid-Teiles als ungeeignete B_{12}-Vitaminformen für Menschen und andere Säuger gelten. In den natürlichen Cobamiden, die wie die Cobalamine zu den sogenannten ‹kompletten› Corrinoiden gezählt werden, können neben dem DMB auch andere Benzimidazole metabolisch eingebaut sein, oder Nukleotidbasen (wie im Adeninylcobamid Pseudovitamin B_{12}) oder sogar Phenol und einfache Phenolderivate → **Figur 3**. Vitamin B_{12} und Pseudovitamin B_{12} haben dank ihrer beiden starken Nukleotidkoordination eine sehr ähnliche dreidimensionale ‹base-on› Struktur. Hingegen ist das überraschend wichtige Phenyl-Nukleotid der Phenolylcobamide nicht zur Kobalt-Koordination geeignet und diese Cobamide existieren nur in sogenannten ‹base-off› Formen. Eine natürliche Modifikation der B_{12}-Derivate betrifft den (2*R*)-3-Amino-2-propanol Linker zwischen den Cobyrsäure- und Nukleotid-Teilen der Cobamide, der in den um einen Methylkohlenstoff ärmeren sogenannten Nor-Cobamiden durch das achirale Verbindungsstück 2-Aminoethanol ersetzt ist **(Kräutler et al., 2003)**.

Figur 3

Symbolische Formeln der Cyano-Komplexe von repräsentativen natürlichen Cobamiden: Vitamin B_{12}, Pseudovitamin B_{12} und Co_{β}Cyano-Co_{α}aquo-phenolylcobamid

Bild: B. Kräutler

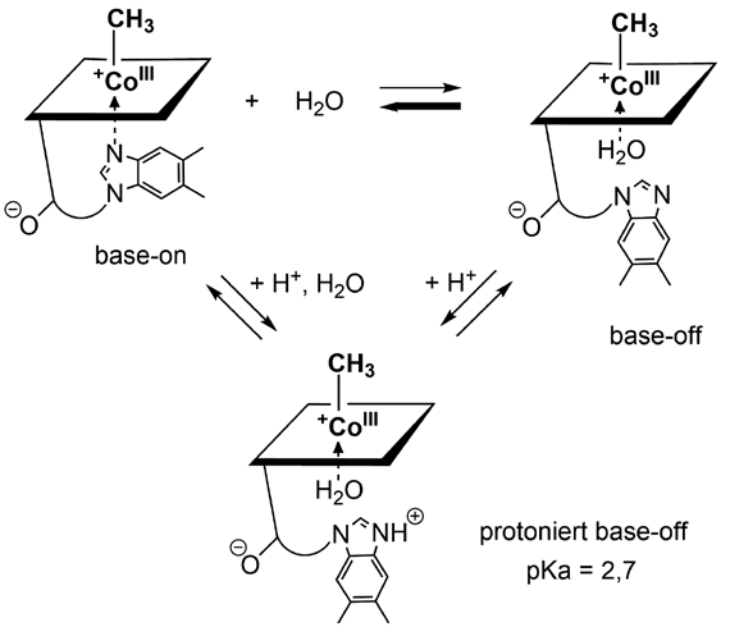


Reaktivität

Vitamin B_{12} und andere natürliche Cobyrinsäure-Derivate haben trotz ihrer komplex aufgebauten Struktur in wässeriger Lösung eine hohe Stabilität. Sie sind gut wasserlösliche Verbindungen, die von verdünnter wässeriger Säure nur sehr langsam unter Hydrolyse einzelner Amidfunktionen angegriffen werden. Dabei kann auch die gesamte B_{12}-Nukleotid-Funktion abgespalten werden. Andererseits führen aber schon schwach basische Bedingungen (speziell in Gegenwart von Luft) zu Oxidations-Prozessen an der Corrin-Peripherie von Vitamin B_{12}.

Die Einwirkung von (mässig starken) Brönstedt-Säuren auf Cobalamine führt zunächst zur schnellen reversiblen Protonierung und Dekoordination der DMB-Funktion mit Bildung der sog. ‹base-off› Form → **Figur 4**. Dieser Prozess lässt sich anhand der charakteristischen indirekten Veränderung des Corrin-Chromophors mittels UV/Vis-Absorptionsspektroskopie auch bei tieferen Temperaturen verfolgen. Die typische Stabilisierung der (neutralen) ‹base-on› Form durch die Nukleotid-Koordination in ‹kompletten› B_{12}-Derivaten hemmt die DMB-Protonierung, die vom ‹oberseitig› gebundenen Axialliganden abhängig ist. Die Azidität (der pKa-Wert) der protonierten ‹base-off› B_{12}-Form lässt umgekehrt die Stärke der DMB-Koordination in Vitamin B_{12} Derivaten quantitativ indirekt bestimmen. Der pKa-Wert des protonierten Vitamins B_{12} von etwa 0.1 weist auf eine sehr hohe Stabilisierung durch die Nukleotidkoordination hin, etwa 500-fach höher als z. B. in Methylcobalamin (MeCbl), für welches ein pKa-Wert von 2.7 für die protonierte ‹base-off› Spezies bestimmt wurde. Die Fähigkeit von Cobalaminen und anderer Cobamide, in einer ‹base-on› oder ‹base-off› Form vorzuliegen, ermöglicht diesen ‹kompletten› Corrinoiden die Adaption ihrer Gesamtstruktur abhängig vom Medium. Cobalamine und Cobamide sind deshalb natürliche ‹molekulare Schalter›, die den Schaltzustand ‹on› oder ‹off› einnehmen können. Diese Eigenschaft ist speziell beim Binden an biologische Makromoleküle von Bedeutung und spielt in der Natur nicht nur beim selektiven Erkennen durch B_{12}-bindende Proteine und RNA eine wichtige Rolle, sondern wird auch zur Steuerung der Reaktivität des einmal gebundenen B_{12}-Derivates genützt **(Kräutler and Puffer, 2012)**.

Der Corrin-Ligand und Kobalt, das Element, welches von Deutschen Bergleuten mit einem Kobold assoziiert wurde, spielen in den natürlichen B_{12}-Derivaten die Rolle eines für- und miteinander



Figur 4

Cobalamine sind ‹molekulare Schalter›. Methylcobalamin (MeCbl) kommt in einer stabilen ‹base-on› Form und in der protonierten ‹base-off› Form vor. Die hypothetische neutrale ‹base-off› Form liess sich bislang experimentell nicht direkt beobachten.

Bild: B. Kräutler

eingespielten Paares. Interessanterweise ist auch die charakteristische und grundlegende Verengung des Corrin-Makroringes auf dem anaeroben Biosyntheseweg speziell vom Einbau des redoxaktiven Kobalts abhängig. Der Corrin-Ligand scheint sich speziell für das Binden und Aktivieren von Kobalt-Ionen zu eignen. Kobalt-Ionen werden vom Corrin-Liganden so stark gebunden, dass der Ausbau des Kobalt-Zentrums aus einem Cobyrinsäure-Derivat sehr drastische Bedingungen erfordert und nur unter weitgehender Zersetzung des Corrin-Liganden stattfindet. Neben den abgeschätzt beträchtlichen thermodynamischen Hindernissen gegenüber dem Kobalt-Verlust verlangsamen offenbar noch weitere namhafte kinetische Barrieren den Kobalt-Ausbau sehr. Der Kobalt-Einbau in metallfreie Corrin-Liganden ist in wässerigen oder alkoholischen Medien ebenfalls langsam und benötigt für einen guten Umsatz höhere Temperaturen. Der chemische Kobalt-Einbau in tentativ charakterisierte metall-freie B_{12}-Liganden wurde aber als Methode für die Identifikation der B_{12}-Liganden via die gebildeten Kobalt-Corrine verwendet, die bekannt und gut untersucht waren **(Koppenhagen, 1982)**.

Der Ring-verengte Corrin-Ligand bindet Kobalt-Ionen, aktiviert sie und beschleunigt nachhaltig den Austausch von (Axial)Liganden am Co(III)-Zentrum. In einfachen Komplexen

ist das Co(III)-Ion notorisch substitutions-inert, wie von Alfred Werner (→ **Figur 5**; Universität Zürich, Chemie-Nobelpreis 1913) in beispielhaften stereochemischen Experimenten gezeigt. Cobalamine mit einem β-ständigen Halogenid-Liganden verlieren diesen in Wasser aber rasch und werden schnell zum entsprechenden Hydratkomplex Aquocobalamin zersetzt. Das dabei direkt durch Abspaltung des Axialliganden zunächst gebildete elektronenarme Co(III)-Zentrum wird durch elektronische Wechselwirkung mit dem kleinräumigen Corrin-Liganden deutlich stabilisiert, was typische Substitutionsreaktionen nach dem Dissoziations-/Additions-Mechanismus beschleunigt. Bei organometallischen B_{12}-Derivaten, wie dem Methylcobalamin (MeCbl), sind die Kobalt-gebundenen Alkylgruppen aber völlig inert gegenüber ihrer hydrolytischen Abspaltung in Wasser und/oder Protonierung durch Säuren, was der biologischen Sonderrolle und speziellen physiologischen Eignung von organometallischen B_{12}-Derivaten in der Enzymkatalyse entgegen kommt.

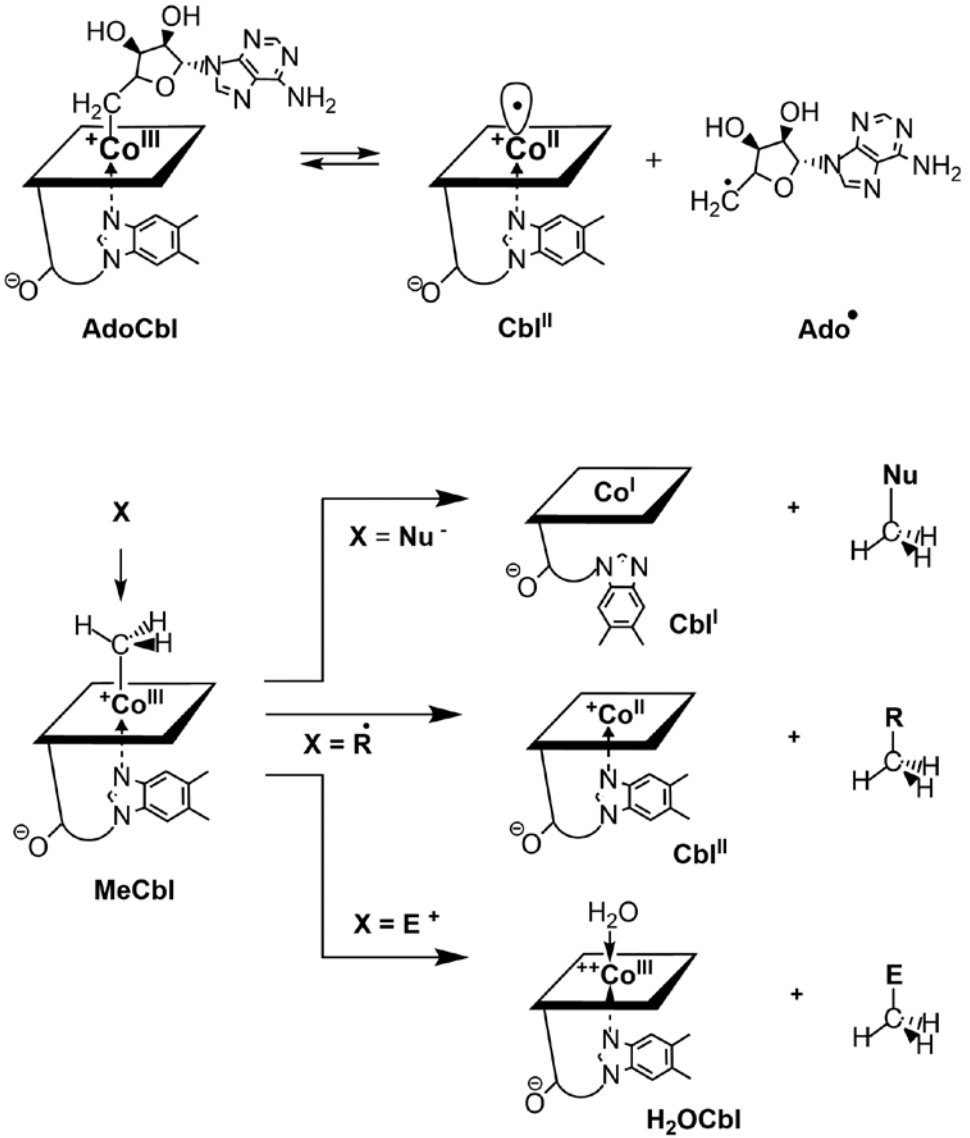
Figur 5

Alfred Werner (1866—1919), Nobelpreis der Chemie 1913 für die Entwicklung der Theorie der Koordinationschemie

Mit freundlicher Genehmigung: © Chimia. C. H. Eugster «150 Years of Chemistry at the University of Zurich» Chimia, 2008 62, 80.

Das Kernelement für die Kofaktor-Reaktivität der organometallischen B_{12}-Derivate ist ihre Kobalt-Kohlenstoff Bindung. Koenzym B_{12} (AdoCbl) wirkt im menschlichen und tierischen Metabolismus als Kofaktor der Methylmalonyl-CoA-Mutase (MMCM), welche die komplexe enzymatische Umlagerung von Methylmalonat (MM) zu Succinat katalysiert **(Banerjee, 2003)** (siehe unten). Dabei wird AdoCbl enzymgesteuert zur homolytischen Spaltung seiner schwachen Co-C-Bindung angeregt und wirkt so als reversible Quelle eines hochreaktiven 5'-Adenosylradikals, das seinerseits die radikalische Enzymreaktion auslöst. Die schwache Co-C Bindung von AdoCbl weist eine homolytische Bindungsdissoziationsenergie von nur etwa 30 kcal/mol aus **(Halpern, 1985)**. Ähnlich wie typische peroxydische Radikalstarter ist AdoCbl bei Raumtemperatur stabil und zersetzt sich erst bei stärkerem Erwärmen (oder z. B. in MMCM enzymaktiviert) unter spezifischer Homolyse der Co-C Bindung. Diese homolytische Co-C Bindungsspaltung des AdoCbl führt dabei zur formalen Reduktion des Oxidationszustands von Co(III) zu Co(II). Methylcobalamin (MeCbl) bewerkstelligt als zweiter organometallischer B_{12}-Kofaktor im Metabolismus des Säugers die enzymkatalysierte Methylierung von Homocystein zur proteinogenen Aminocarbonsäure Methionin, gekoppelt mit der Demethylierung von N-Methyltetrahydrofolat **(Matthews, 2001)**. Methylcorrinoide, wie MeCbl, sind als speziell gute Methylierungsmittel etabliert, sie sind aber gegenüber dem spontanen Bruch der Co-C Bindung deutlich resistenter als das analoge Adenosylcorrin AdoCbl. Interessanterweise sind Methylcorrinoide (wie MeCbl) auch sehr effektive Methylierungsmittel für kurzlebige kohlenstoffzentrierte Radikale (was ungewöhnliche bakterielle Biosynthesewege möglich macht), sowie für ausgewählte Metall-Elektrophile, wie Quecksilber(II)-Ionen (was wiederholt zur grossflächigen Bildung des hochgiftigen Methylquecksilbers in der Umwelt geführt hat). In allen drei mechanistischen Fällen unterstützt die schwache Co-C Bindung den Methyltransfer thermodynamisch. Die radikalinduzierte bzw. die nukleophil ausgelöste heterolytische Co-C Bindungsspaltung des organometallischen B_{12}-Kofaktors MeCbl findet unter formaler Reduktion des Kobalts vom Oxidationszustand Co(III) zu Co(II) bzw. zu Co(I) statt → **Figur 6 (Kräutler, 2019)**.

Unter physiologischen Bedingungen sind alle drei Oxidationszustände Co(III), Co(II) und Co(I) der B_{12}-Derivate zugänglich und die Redox-Reaktivität der Kobalt-Corrinoide spielt eine

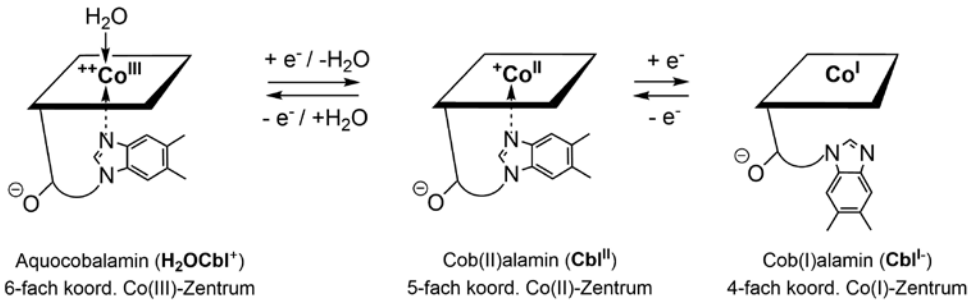


Figur 6

Oben: Koenzym B_{12} (AdoCbl) als reversibel wirkender Quelle des 5'- Desoxy-5'adenosyl Radikals ($Ado^{\bullet}$). Die Thermolyse von AdoCbl führt zur reversiblen Homolyse seiner (Co-C)-Bindung und generiert das $Ado^{\bullet}$-Radikal zusammen mit dem ‹Radikalfänger› Cob(II)alamin (Cbl^{II}).

Unten: Methylcobalamin (MeCbl) als Methylierungsmittel. MeCbl reagiert in natürlichen Prozessen mit einem nukleophilen (Nu-), einem radikalischen ($R^{\cdot}$) oder einem elektrophilen (E^{+}) Reaktionspartner an seiner kobaltgebundenen Methylgruppe, die dabei unter (Co-C)-Bindungsspaltung nach einem der drei wichtigen Grundmuster übertragen wird.

Bild: B. Kräutler

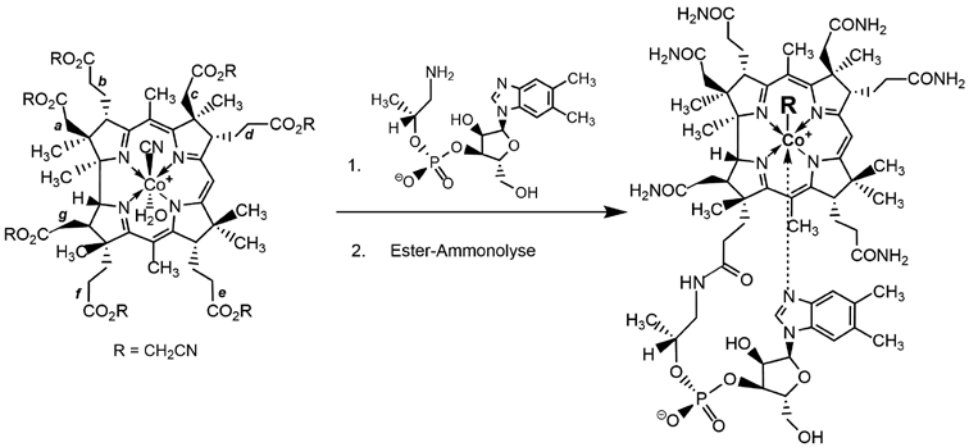


Figur 7

Durch die reversible, einelektronige Reduktion wird das rote Co(III)-Corrin H_2OCbl^+ in das braune Co(II)-Corrin Cbl^{II} umgewandelt, welches seinerseits bei deutlich negativerem Potenzial reversibel zum grünen Co(I)-Corrin Cbl^{I-} weiterreduziert wird. Die Reduktionen werden von der Abspaltung eines Axialliganden begleitet (und die im umgekehrten Sinn ablaufenden Oxidationen von der Koordination eines Axialliganden).

Bild: B. Kräutler

metabolisch entsprechend entscheidende Rolle. Detaillierte elektroanalytische Studien der Redox-Chemie von Vitamin B_{12} und anderer Cobalamine haben eine klare Kopplung von Elektronentransfer und axial Koordination von Liganden am Corrin-gebundenen Kobalt-Zentrum aufgezeigt → **Figur 7 (Lexa and Savéant, 1983).** Als Regel nimmt die Zahl der Axialliganden parallel mit dem Kobalt Oxidationszustand ab. In Corrinen bindet das diamagnetische Co(III) (Koordinationszahl 6, ein d^6-Ion) typischerweise zwei Axialliganden, das paramagnetische (low spin) Co(II) (ein d^7-Ion mit Koordinationszahl 5) trägt noch einen Axialliganden und das diamagnetische Co(I) (ein d^8-Ion mit Koordinationszahl 4) bindet keine Axialliganden. Deshalb werden Redoxreaktionen von B_{12}-Derivativen von einem entsprechenden Wechsel der Zahl der Axialliganden begleitet. Umgekehrt beeinflussen Anwesenheit und chemische Natur der Axialliganden stark die Redoxreaktivität (die Thermodynamik und Kinetik des formalen Elektronentransfers) von Kobalt-Corrinen. Co(I)-Corrine, wie Cob(I)alamin (Cbl^I), sind gute Reduktionsmittel, die sich durch ein ‹supernukleophiles› aber wenig basisches Co(I)-Zentrum auszeichnen. Beim Oxidationsniveau der Co(II)-Corrine, wie Cob(II)alamin (Cbl^{II}), liegt ein reaktives metallzentriertes Radikaloid vor, welches sehr schnell zusammen mit organischen Radikalen zu organometallischen B_{12}-Derivaten kombiniert **(Kräutler, 2019).** In neutraler wässeriger Lösung liegt Cbl^{II} in seiner ‹base-on› Form vor (die DMB-Base koordiniert am Co(II)-Zentrum), die durch Protonierung (p*K*a = 2.9) in die ‹base-off› Form umgewandelt wird. Co(III)-Corrine, wie Cobyrsäure (Cby), Aquocobalamin (H_2OCbl) und Vitamin B_{12} (CNCbl), in welchen das corringebundene Co(III)-Zentrum mit zwei Axialliganden koordinativ gesättigt ist, sind (ligand-abhängig unterschiedlich) schwache Oxidationsmittel.



Figur 8

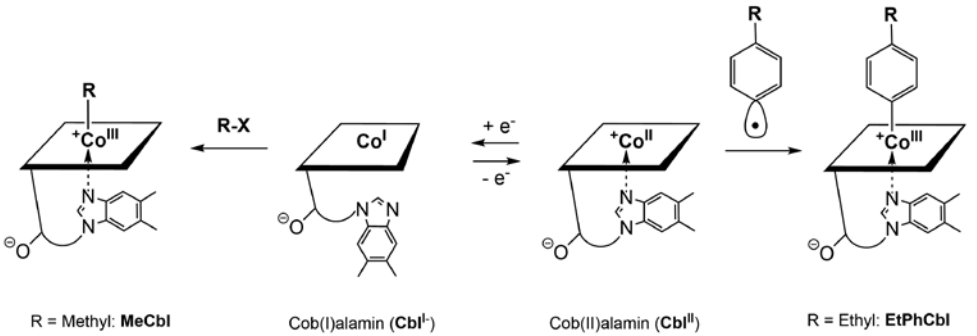
Die komplexe Struktur des ‹kompletten› Vitamins B_{12} bildet sich in Lösung via einen enzymfreien ‹Selbstaufbau› überraschend selektiv aus seinen Hauptkomponenten Cobyrinsäure und B_{12}-Nukleotid, was mit Hilfe des Cobyrinsäure-heptacyanomethylesters (R = CH_2CN, mit identischen reaktionsfreudigen Estergruppen) von Eschenmoser und Mitarbeitern gezeigt werden konnte. Zum Vergleich: Cobester trägt wenig reaktive Methylestergruppen (d. h. R wäre CH_3 in der Formel links).

Bild: B. Kräutler

Synthetisch wichtige chemische Reaktionen von Vitamin B_{12} Derivaten

Ähnlich der biologischen Wirkungsweisen von B_{12}-Kofaktoren finden viele chemisch interessante Reaktionen am Kobalt-Zentrum von B_{12}-Derivaten statt. Dennoch bietet die polare hochfunktionalisierte Peripherie der natürlichen B_{12}-Derivate eine Vielfalt von Möglichkeiten für chemische Veränderungen, speziell für Verknüpfungen mit biologisch und medizinisch interessanten Funktionalitäten **(Proinsias et al., 2013; Zelder and Alberto, 2012)**. Eine beachtliche Veränderung der effektiven Polarität wird durch vollständigen Ersatz der polaren Carboxamid- oder Carbonsäure-Gruppen der wasserlöslichen Cobyr- oder Cobyrin-Säure durch einfache Estergruppen erzielt. Der durch vollständige säurekatalysierte Methanolyse von Vitamin B_{12} gebildete Cobyrinsäure-heptamethylester (kurz als ‹Cobester› bezeichnet **(Eschenmoser, 1988)**), diente als Vergleichsmaterial für Zwischenstufen der B_{12}-Totalsynthese → **Figur 8**. Cobester löst sich gut in relativ unpolaren organischen Medien (wie Benzen), nicht aber in Wasser. Ein mit sieben reaktionsfreudigen Cyanomethylester-Gruppen ausgestattetes Cobester-Analogon erlaubte die fast unglaublich regioselektive chemische Verknüpfung an seiner einen ‹richtigen› Stelle, der sogenannten f-Seitenkette, mit dem zweiten B_{12}-Hauptbaustein dem B_{12}-Nukleotid → **Figur 8**, was überzeugend auf die evolutionsbiologisch wichtige Kapazität von Vitamin B_{12} und anderer Cobamide für ihren ‹Selbstaufbau› ohne Katalyse durch ein Enzym hinweist **(Eschenmoser, 1988)**.

Klassische chemische Reduktionsmittel (wie molekularer Wasserstoff + Metallkatalysator, oder Ameisensäure) be-



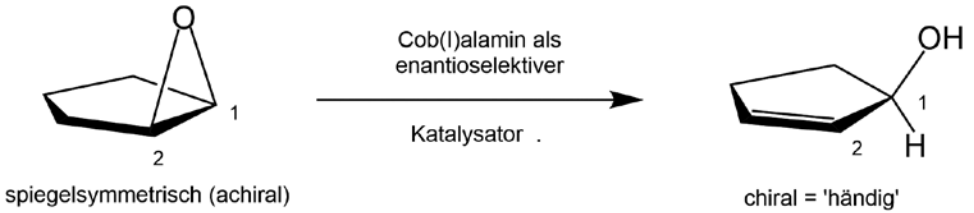
Figur 9

Synthese von organometallischen Vitamin B_{12}-Deivaten durch (links) Reaktion der hoch-nukleophilen Co(I)-Corrine mit typischen Alkylierungsmitteln (R-X) oder (rechts) durch Einfangen hoch-reaktiver organischer Radikale durch Co(II)-Corrine als ‹Radikalfänger› (Kräutler, 2019)

Bild: B. Kräutler

werkstelligen die oft hochselektive Reduktion von Co(III)-corrinen zu Co(II)-corrinen, was die Isolation in Einkristallen des luftempfindlichen Cob(II)alamins für die Kristallstrukturanalyse erlaubte **(Kräutler et al., 1989)**. Typische Hydrid-Reagenzien, stärker reduzierende Metalle (wie Zink) oder elektrochemische Reduktion führen Cob(III)alamine und/oder Cob(II)alamin in Cob(I)alamin über **(Friedrich, 1975)**. Dieses stark reduzierende und ‹supernukleophile›, strukturell aber noch unvollständig erfasste Co(I)-corrin lässt sich mit verschiedenen Alkylierungsmitteln selektiv am Kobalt-Zentrum zu organometallischen Cob(I-II)alaminen umsetzen **(Schrauzer et al., 1968)**, wie z. B. zu Methylcobalamin (MeCbl), zu Koenzym B_{12} (AdoCbl) und zu verschiedenen biologisch interessanten Varianten des AdoCbl **(Kräutler and Puffer, 2012)**. Anstelle dieser ‹klassischen› Synthese-Methode nützte eine Synthese der kürzlich als potenzielle ‹Antivitamine B_{12}› **(Kräutler, 2015)** konzipierten organometallischen Aryl-Cob(III)alamine die Strategie des präparativen Umsatzes von hochreaktiven Arylradikalen mit dem ‹Radikalfänger› Cob(II) alamin → **Figur 9 (Ruetz et al., 2013a)**.

Organometallische B_{12}-Derivate zeichnen sich durch die ausserordentliche Reaktivität ihrer meist schwachen Co-C Bindungen aus **(Halpern, 1985)**. Bei der Thermolyse spalten sich typische organometallische B_{12}-Derivate, wie Koenzym B_{12} (AdoCbl), homolytisch an der Co-C Bindung und liefern derart spezifische organische Radikale unter milden Bedingungen und in wässeriger Lösung. Ähnlich spaltet auch die elektrochemische Reduktion die Co-C Bindungen von typischen organometallischen Cobalaminen unter Freisetzung (meist) eines organischen Radikals. Die organometallischen B_{12}-Derivate AdoCbl and MeCbl sind auch sehr lichtempfindlich und ihre Co-C Bindung wird homolytisch,



Figur 10

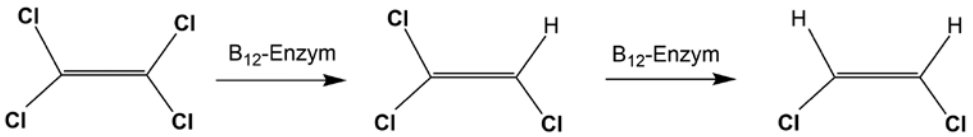
Die stereoselektive B_{12}-katalysierte Öffnung von symmetrischen Epoxiden nach Bonhote und Scheffold kann zu wertvollen optisch aktiven Allylalkoholen führen (z. B. 1,2-Epoxycyclopentan liefert derart *(R)*-Cyclopent-2-en-1-ol).

Bild: B. Kräutler

aber nun lichtinduziert, zu Cob(II)alamin und einem organischen Radikal gespalten. Die mit sichtbarem Licht bequem durchführbare homolytische Co-C Spaltung von typischen organometallischen B_{12}-Derivaten hat sich als wichtige Methode der Auslösung von synthetisch verwendeten Radikalreaktionen entwickelt. Im Gegensatz zu AdoCbl sind organometallische B_{12}-Derivate mit einer Kobalt-gebundenen Alkynylgruppe (wie in Phenylethinyl-Cobalamin) **(Ruetz et al., 2013b)** nicht nur thermisch sehr robust, sondern sie sind auch lichtstabil **(Salerno et al., 2020)**.

In der organischen Synthese wird die thermische, photolytische oder elektrochemische Freisetzung organischer Radikale aus organometallischen B_{12}-Derivaten zunehmend auch im präparativem Massstab eingesetzt **(Giedyk et al., 2015; Tahara et al., 2018)**, wie u. a. in Pionierarbeiten von Scheffold und Mitarbeitern (Universität Bern) vor Längerem aufgezeigt **(Auer et al., 1993; Troxler and Scheffold, 1994)**. Wie in den Scheffold'schen Arbeiten früh genutzt, können Cobalamine nicht nur als organometallische Reagenzien (stöchiometrisch oder katalytisch) eingesetzt werden, sondern auch als chirale und enantiomeren-reine Katalysatoren in der stereoselektiven organisch chemischen Synthese. So liessen sich spiegelsymmetrische Epoxide B_{12}-katalysiert stereoselektiv in optisch aktive Allylalkohole isomerisieren → **Figur 10. (Bonhote and Scheffold, 1991)**.

Die Alkylierungsreaktion des hochnukleophilen Cob(I)alamins (und ähnlicher Co(I)-corrine) mit Alkylhalogeniden lässt sich auch zur Dehalogenierung von Halogenkohlenwasserstoffen einsetzen, speziell von Chlor- oder Brom-Derivaten. Derartige B_{12}-abhängige Prozesse werden interessanterweise von gewissen anaeroben Umwelt-entgiftenden Bakterien in deren sogenannten Dehalogenasen für ihren Energiestoffwechsel genützt **(Bommer et al., 2014)** → **Figur 11**. In letzteren wird ein neuartiges sogenanntes (Nor-)Cobamid als natürlicher B_{12}-Kofaktor gefunden **(Kräutler et al., 2003)**, der biologisch besser optimierte Redox-Eigenschaften



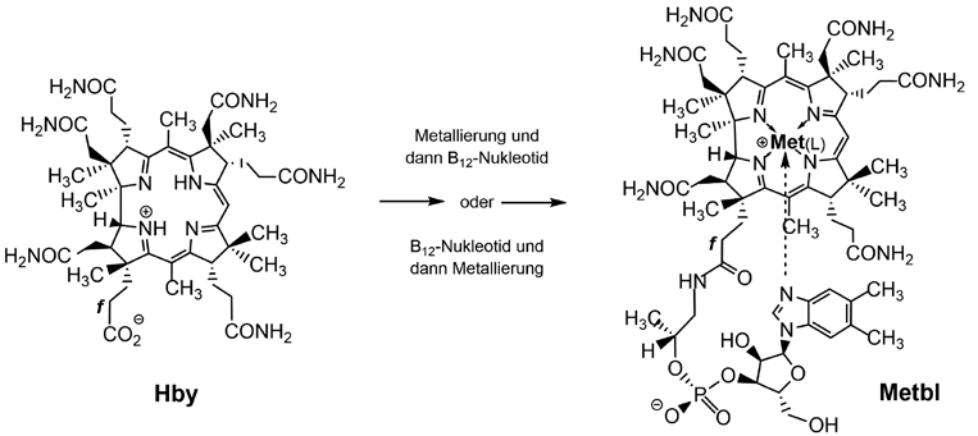
Figur 11

Die B_{12}-katalysierte Zweifach-Dechlorierung von Tetrachlorethylen durch anaerobe Bakterien hilft der natürlichen Beseitigung dieses industriellen Umweltgiftes.

Bild: B. Kräutler

aufweist als vergleichbare ‹echte› Cobamide, wie Vitamin B_{12}. Die B_{12}-katalysierte Dechlorierung ist heute auch eine für den Abbau von umweltschädlichen Chlorkohlenwasserstoffen in grösserem Massstab in Verwendung, was auch an der EAWAG und an der ETH in Zürich beforscht wurde **(Glod et al., 1997)**.

Die biologisch wichtige Reaktivität der natürlichen Vitamin B_{12}-Derivaten basiert auf der speziellen chemischen Wechselbeziehung des natürlichen Corrin-Liganden mit den gebundenen Kobalt-Ionen. Herstellung und Untersuchung von ‹B_{12}-ähnlich› strukturierten Metallkomplexen **(Brenig et al., 2018; Eschenmoser, 1988)** oder von Komplexen des metallfreien B_{12}-Liganden mit anderen Übergangsmetallen, den sogenannten Metbalaminen (Metbl), sind deshalb schon lange eine Herausforderung (siehe z. B. **(Koppenhagen, 1982)**). Leider ist der Kobalt-Ausbau aus natürlichen B_{12}-Derivaten bislang erfolglos und daher kein Weg für die Herstellung metallfreier natürlicher B_{12}-Liganden. In neuerer Zeit wurde der natürliche metallfreie B_{12}-Ligand, Hydrogenobyrsäure (Hby), aber durch rationelle biologische Synthese mittels biotechnologisch modifizierter Bakterien direkt zugänglich und ergab einen Durchbruch auf dem Weg zur rationellen Synthese von Metbl **(Kieninger et al., 2019b)**. So liess sich der schon früher tentativ beschriebene corrinoide Zinkkomplex Zinkobalamin (mit Zn(II) anstelle von Co(III)) gut herstellen und vollständig charakterisieren **(Kieninger et al., 2019a)**, wie auch der noch unbekannte analoge Ni(II)-Komplex Nibalamin **(Kieninger et al., 2020)** → **Figur 12**. Verschiedene Rhodibalamine, mit homologen Rh(III)-Ionen anstelle von Co(III), sind in letzter Zeit ebenfalls gezielt hergestellt und charakterisiert worden **(Widner et al., 2020)**. Rhodibalamine (Rhbl) sind hervorragende Modelle für die weitere Beleuchtung der Frage über die Sonderrolle von Kobalt in B_{12}-Derivaten. Die untersuchten Rhbl haben praktisch dieselbe Struktur wie entsprechende Cobalamine, nicht aber deren biologisch wichtige spezielle Reaktivität. Dank ihrer hohen strukturellen Ähnlichkeit zu Cobalaminen sind Rhodibalamine damit hervorragende B_{12}-Mimetika, denen aber, wie dem ‹Wolf im Schafspelz›, das richtige ‹Innenleben› fehlt und sie somit effektiv wirkende Antivitamine B_{12} sind bzw. sein dürften.



Figur 12

Metallanaloge Komplexe von Vitamin B_{12}, als Metbalamine (Metbl) bezeichnet, sind dank Zugang zum metall-freien B_{12}-Corrin Hydrogenobyrsäure (Hby) durch eine moderne biotechnologisch entwickelte Biosynthesevariante aus Hby via zwei chemische Varianten direkt herstellbar, die sich lediglich durch die Reihenfolge Metalleinbau und Verknüpfung mit dem B_{12}-Nukleotid unterscheiden (Met(L) = z. B. Rh(III)Cl; Zn(II) oder Ni(II) ohne Ligand L). Im diamagnetischen Ni(II)-corrin Nibl tritt auch keine DMB-Koordination am Ni(II)-Zentrum auf. Eine Formel des B_{12}-Nukleotids ist in → Figur 8 angegeben.

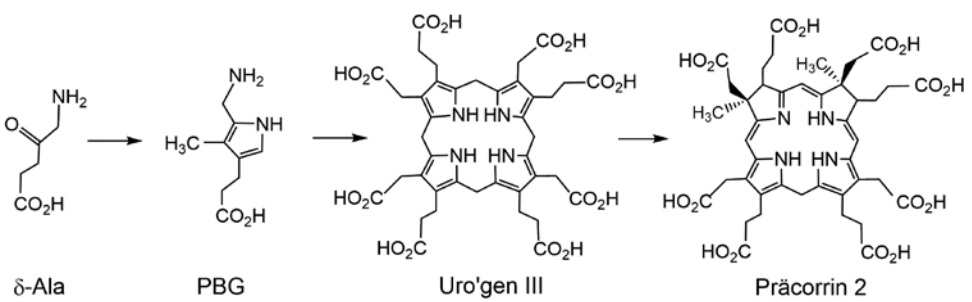
Bild: B. Kräutler

B_{12}-Kofaktoren als biologisch wichtige Kobaltkomplexe

Bernhard Kräutler

Über die oben beschriebene, einmalige Totalsynthese konnten nur geringe Mengen von Vitamin B_{12} hergestellt werden. In der Natur sind es sogenannte Archäen und einige (nicht alle) bakterielle Prokarionten, welche Cobalamine und andere Cobamide in weltweit grossen Mengen biologisch erzeugen. Die bakterielle Biosynthese von Vitamin B_{12}, welches nicht nur für Menschen als essentielles Vitamin sondern auch als Viehfutterergänzung dient, wird von der pharmazeutisch-chemischen Industrie für die Produktion in einem Massstab von etwa 50 t pro Jahr weltweit eingesetzt. Vitamin B_{12} und andere Cobalamine sind auch deshalb ein Gegenstand wichtiger Biosynthese-Studien, sowie weiterer biotechnologischer Produktions-Verbesserungen. Je nach Art des Mikroorganismus, ob aerob oder strikt anaerob wachsend, sind heute zwei Wege der B_{12}-Biosynthese vollständig aufgeklärt, die beide vom farblosen zyklischen Tetrapyrrol Uroporphyrinogen III (Uro'gen III) ausgehen, dem gemeinsamen Biosynthese-Vorläufer von allen porphyrinoiden Naturstoffen **(Bryant et al., 2020)**. Die beiden heute aufgeklärten B_{12}-Biosynthesewege führen ihrerseits zunächst via eine zweifach-Methylierung von Uro'gen III zum gemeinsamen Intermediat Präcorrin 2 → **Figur 13**.

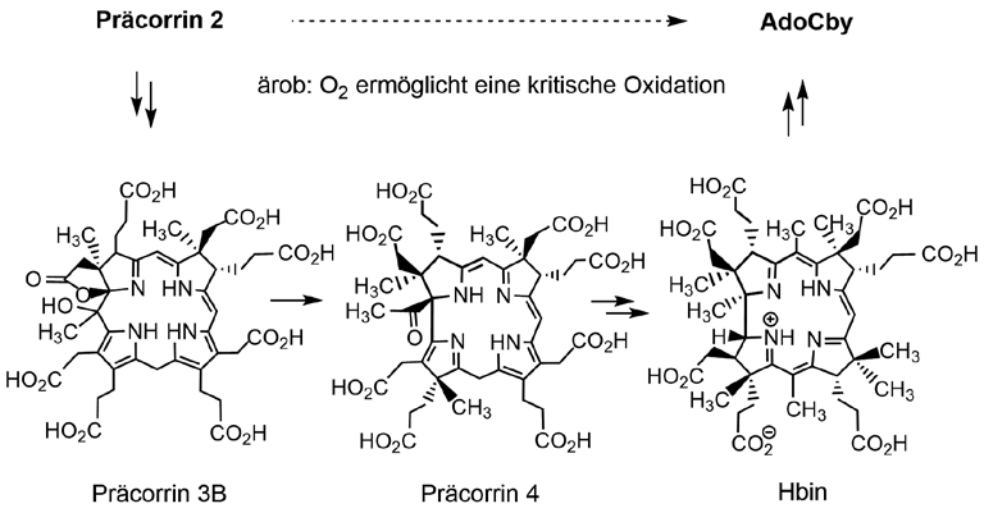
Im aeroben Biosyntheseweg wird molekularer Sauerstoff benötigt, um eine dann wichtige Oxidationsreaktion zu bewerkstelligen, welche das 3-fach methylierte Substrat Präcorrin 3B für die kritische Ringkontraktion zum Präcorrin 4 liefert. Aus Präcorrin 4 führen fünf enzymatische Schritte schliesslich zur



Figur 13

Frühe gemeinsame Stufen der B_{12}-Biosynthesewege. Der aus δ-Aminolävulinsäure (δ-Ala) via sein Dimer Porphobilinogen (PBG) und enzymatische Tetramerisierung gebildete gemeinsame Vorläufer aller porphyrinoiden Naturstoffe Uroporphyrinogen III (Uro'gen III) wird am Beginn des Wegs zu B_{12} enzymatisch zweifach zu Präcorrin 2 methyliert.

Bild: B. Kräutler



Figur 14

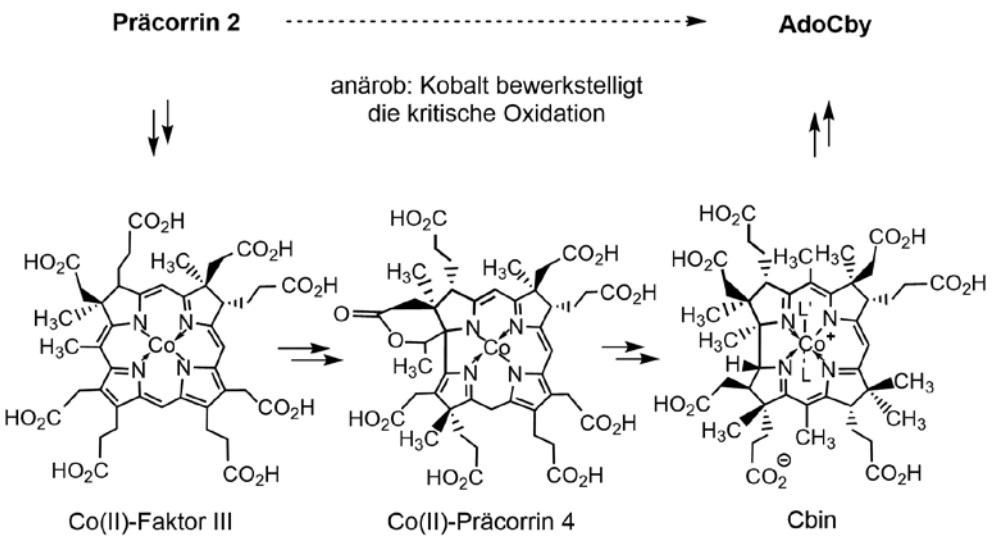
Bei der aeroben Biosynthese von Co_β-Adenosylcobyrsäure (AdoCby) eröffnet die enzymkatalysierte Bildung von Präcorrin 3B unter Oxidation mit Sauerstoff den kompletten Weg zur metall-freien B_{12}-Liganden Hydrogenobyrinsäure (Hbin) und der Kobalteinbau wird erst später bewerkstelligt.

Bild: B. Kräutler

Hydrogenobyrinsäure (Hbin), dem metallfreien Liganden der Cobyrinsäure (Cbin). Nach 2-fach Amidierung von Hbin zu Hydrogenobyrinsäure-a,c-diamid wird Kobalt enzymatisch eingebaut und am Metallzentrum oberseitig adenosyliert. Die weitere enzymatische Amidierung der b-, d-, e- und g-Seitenkettenfunktionen generiert dann Co_β-Adenosylcobyrsäure (AdoCby), das organometallische Kobaltcorrin-Fragment von Koenzym B_{12} → **Figur 14 (Bryant et al., 2020).**

Im anaeroben Weg wird das redox-aktive Kobalt schon in Präcorrin II eingebaut und unter Beteiligung des Kobalt-Zentrums findet nach einer weiteren Methylierungsreaktion die kritische Ringkontraktion zu Kobalt-Präcorrin 4 statt. Nach sieben weiteren enzymatischen Transformationen liefert die anaerobe B_{12}-Biosynthese Cobyrinsäure (Cbin), den Co(II)-Komplex von Hbin. Die selektive enzymatische Sechsfach-Amidierung an den Seitenketten a, b, c, d, e und g und Adenosylierung am Kobalt-Zentrum liefern dann ebenfalls Co_β-Adenosylcobyrsäure (AdoCby) als den kompletten Kobaltcorrin-Teil von Koenzym B_{12} → **Figur 15 (Bryant et al., 2020).**

Auf dem weiteren Weg der Biosynthese von Koenzym B_{12} entsteht aus AdoCby zunächst durch enzymatische Kopplung mit (2*R*)-3-Amino-2-propanylphosphat Co_β-Adenosylcobinamid-O^{177}-phosphat (AdoCbi-phosphat), welches mit Guanosyltriphosphat (GTP) durch das Enzym CobP zu Co_β-Adenosylcobinamid-O^{177}-Guanosyldiphosphat (AdoCbi-GDP) → **Figur 16** verknüpft wird. Ein GMP-Rest von AdoCbi-GDP wird von



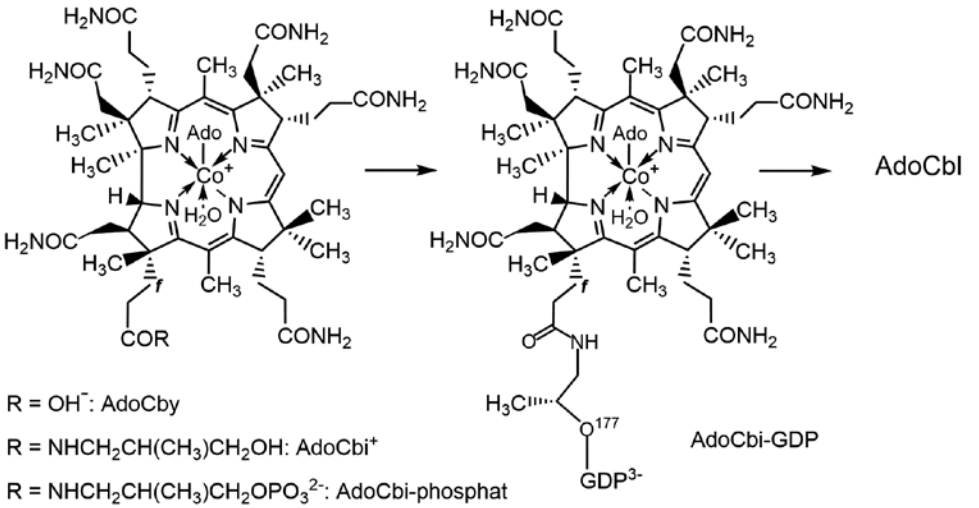
α-Ribazol-5'-phosphat in einer durch das Enzym CobV katalysierten Reaktion substituiert und so zunächst in Adenosylcobalamin-R^5-phosphat übergeführt, welches nach enzymatischer Abhydrolyse des Phosphats Koenzym B_{12} liefert. In alternativen bakteriellen Wegen der ‹Komplettierung› können Cobamide aus verschiedenen Cobinamiden aufgebaut werden. AdoCbl, wie auch andere Co_β-adenosylcobamide, werden daneben durch direkte enzymkatalysierte Adenosylierung entsprechender reduzierter Cobamide biosynthetisch regeneriert.

Figur 15

Die anaerobe Biosynthese von Co_β-Adenosylcobyrsäure (AdoCby) aus Präcorrin 2 basiert auf einem frühen Einbau von Kobalt zwecks Oxidation und Ringkontraktion zu einer Corrin-Struktur im Kobalt-Präcorrin 4, auf dem Weg zur Cobyrinsäure (Cbin).

Bild: B. Kräutler

Die meisten zellulären Rollen der natürlichen B_{12}-Derivate basieren auf ihrer speziellen organometallischen Reaktivität **(Kräutler, 2019)**. Daneben sind in neuerer Zeit auch immer mehr solcher Funktionen entdeckt worden, die durch das einfache Binden der einmalig strukturierten Cobalamine an biologische Makromoleküle zustande kommen und häufig mit regulatorischen Rollen der B_{12}-Derivate verknüpft werden, wie in B_{12}-Riboschaltern **(Winkler and Breaker, 2005)**. Methylcorrinoide, wie Methylcobalamin (MeCbl), fungieren als Methylgruppen-Donoren in Methyltransferasen, wie in der schon kurz erwähnten, im Menschen wichtigen Methionin-Synthase (siehe auch unten). In Mikroorganismen sind B_{12}-abhängige Methyltransferasen weitverbreitet und dienen der Biosynthese von komplex strukturierten Sekundärmetaboliten oder deren elementarem Energie- und Baustoffwechsel. Zu den beiden Letzteren trägt die in anaeroben Mikroorganismen



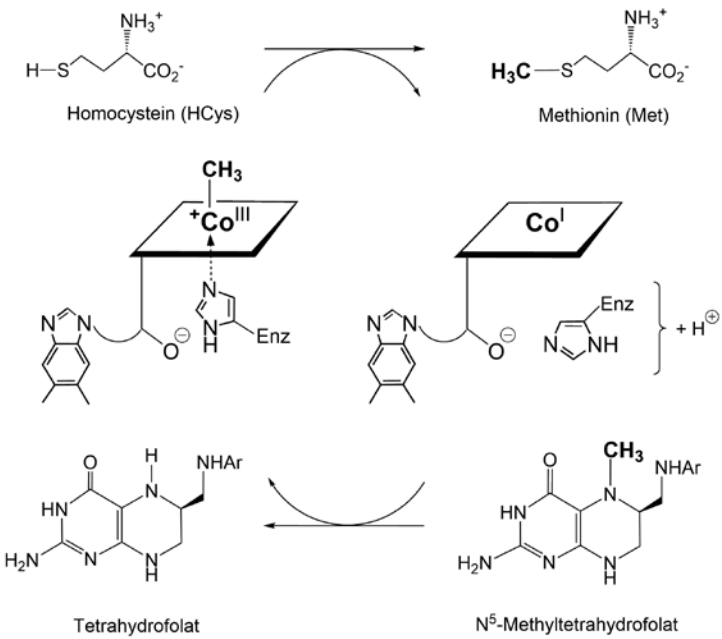
Figur 16

Die biosynthetische ‹Komplettierung› der organometallischen Co_{β}-Adenosylcobyrsäure (AdoCby) zu Koenzym B_{12} (AdoCbl) führt über das Adenosylcobinamid-Guanosyldiphosphat (AdoCbi-GDP).

Bild: B. Kräutler

ablaufende, global wichtige reduktive Fixierung von Kohlendioxid bei, die Methanbildung und Methanoxidation, sowie der Abbau in der Biosphäre weitverbreiteter einfacher Stoffe, wie der Essigsäure **(Banerjee and Ragsdale, 2003)**.

Unter all den heute bekannten B_{12}-abhängigen Methyltransferasen ist die wohl bestuntersuchte die Methionin-Synthase (MetH), die in homologen Versionen in Menschen, Tieren sowie auch in vielen Mikroroorganismen vorkommt und die abschliessende Methylierung bei der Biosynthese der Aminocarbonsäure Methionin bewerkstelligt. Methionin Synthase (MetH) des Gram negativen Bakteriums *Escherichia coli (E. coli)* und des Menschen ist eine speziell detailliert analysierte B_{12}-abhängige Methyltransferase **(Matthews et al., 2008)**. Dieses komplexe Enzym besteht aus vier Proteindomänen, die durch kurze flexible Peptidketten zusammen gehalten und beim Katalyseprozess unterschiedlich aufeinander abgestimmt werden. MetH bewerkstelligt die Methylierung von Homocystein und die damit verknüpfte Demethylierung von N^5-Methyltetrahydrofolat, wobei Methionin und Tetrahydrofolat als die komplementären Produkte entstehen. Im Laufe der detaillierten Studien zu MetH von *E. coli* wurde die aufsehenerregende Entdeckung gemacht, dass der B_{12}-Kofaktor MeCbl nicht mit seiner bekannten (‹base-on›) Struktur gebunden ist **vgl. → Figur 1**, sondern in einer sog. ‹base-off/His-on› Form. In dieser verdrängt ein Histidin des Proteins die DMB-Base vom Corrin-gebundenen Kobalt-Zentrum und lagert den gesamten Cbl-Nukleotidteil in einer Tasche des Proteins ein **→ Figur 17**.



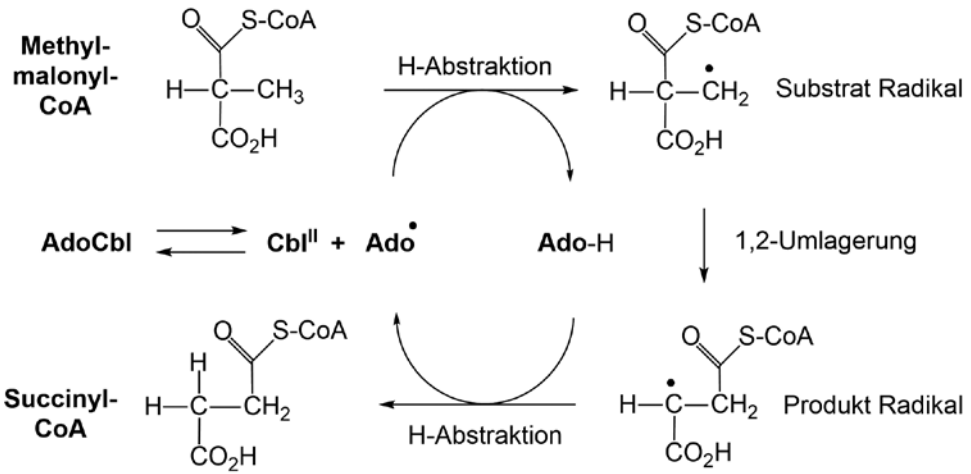
Figur 17

Die Methionin-Synthase (MetH) katalysiert die B_{12}-abhängige Bildung der essentiellen Aminocarbonsäure Methionin (Met) aus Homocystein (HCys) und die Demethylierung von N^5-Methyltetrahydrofolat, die Tetrahydrofolat freisetzt. Der B_{12}-Kofaktor MeCbl ist im Ruhezustand der MetH in einer ‹base-off/His-on› Form gebunden (siehe Mitte links) und wird im Laufe der Reaktion intermediär unter De-koordination des Histidin-Restes zu Cbl^I demethyliert (siehe Mitte rechts). Vom charakteristisch platzierten, konservierten Histidin der MetH ist nur der Imidazol-Teil abgebildet.

Bild: B. Kräutler

Diese ungewöhnliche Restrukturierung von MeCbl (und auch die analoge von AdoCbl) in verschiedenen B_{12}-abhängigen Enzymen ist immer noch ein intensiver Diskussionsstoff. Die MetH Reaktion wird durch die Abstraktion der Kobalt-gebundenen Methylgruppe des proteingebundenen MeCbl durch ein im Enzym nach Zink-Koordination und Deprotonierung aktiviertes Homocystein in einer nukleophilen Substitutionsreaktion ausgelöst und in einer vermutlich mechanistisch analogen Substitutionsreaktion des im 1. Schritt freigesetzten hochnukleophilen Cob(I)alamins (Cbl^I) mit aktiviertem (am N^5 vermutlich protonierten) N^5-Methyltetrahydrofolat unter Regeneration von MeCbl nachgeliefert. Dieser ‹Ping-Pong› Mechanismus bedarf der abwechselnd richtig kontrollierten und strukturell korrekten Anordnung von drei der vier Domänen von MetH. Die vierte Domäne hilft gelegentlich MeCbl durch eine gekoppelte reduktive Methylierung von Cbl^{II} mit S-Adenosylmethionin zu regenerieren, wenn die nicht komplett vermeidbare Oxidation von Cbl^I zu Cbl^{II} eintritt, was dann diese ‹Reparatur› erfordert.

Die Methylmalonyl-Mutase (MMCM) ist ein sehr gut untersuchtes Koenzym B_{12} abhängiges Radikal-Enzym, das im Metabolismus von Menschen, anderer Säuger und anderer Tiere, sowie einer Vielzahl von Mikroorganismen wichtig ist



Figur 18

Die Koenzym B_{12} abhängige Methylmalonyl-CoA-Mutase Reaktion, eine Kohlenstoffgerüst-Umlagerungsreaktion, welche durch die Freisetzung des 5'-Adenosylradikals aus der Homolyse der Co-C Bindung von AdoCbl radikalisch ausgelöst wird. Im menschlichen Metabolismus ist nur der hier gezeigte ‹Vorwärtsweg› dieser eigentlich reversibel ablaufenden Enzymreaktion relevant, der im Menschen aus *(R)*-Methylmalonyl-CoA (vom Fettsäureabbau) Succinyl-CoA generiert.

Bild: B. Kräutler

(Banerjee, 2003; Buckel and Golding, 2012). Wie vier andere bakterielle sogenannte (Kohlenstoff-Gerüst) Mutasen, darunter die früher erwähnte bakterielle Glutamat-Mutase (GM), katalysiert MMCM eine chemisch schwer durchführbare Umlagerung, die enzymatisch nach einem strikt kontrollierten Radikalmechanismus abläuft → **Figur 18**. Solche Umlagerungsreaktionen sind ein Teil des bemerkenswerten Repertoirs des bakteriellen Metabolismus und spielen eine zentrale Rolle bei bakteriellem Abbau und Nutzung wichtiger Metabolite. Im menschlichen Metabolismus ist die von MMCM katalysierte Umwandlung von *(R)*-Methylmalonat (MM) zu Succinat ein wichtiger Prozess bei der vollständigen Verarbeitung des aus dem Abbau von ungerade-zähligen Fettsäuren gebildeten Propionyl-CoA. In MMCM und den anderen vier bekannten (AdoCbl-abhängigen) Mutasen wird AdoCbl (ähnlich MeCbl in MetH) in einer ‹base-off/His-on› Form gebunden. Erst eine noch immer weitgehend rätselhafte, durch Einlagerung des Substrats MM aktivierte schnelle Homolyse der schwachen Co-C Bindung des enzymgebundenen AdoCbl setzt in den Mutasen das 5'-Adenosylradikal (Ado·) frei, das die eigentliche radikalische Enzymreaktion durch Abstraktion eines H-Atoms vom jeweils eingelagerten Substrats auslöst.

Dem biologisch breit wichtigen Kofaktor S-Adenosylmethionin (SAM) hat die Bezeichnung Koenzym B_{12} ‹des armen Mannes› durch den Biochemiker Perry Frey viele weitere Diskussionen im B_{12}-Gebiet eingebracht **(Bridwell-Rabb et al., 2018)**. Das hochreaktive Sulfonium-Derivat SAM weist aber nicht nur (indirekt) Reaktivitätsmuster von Koenzym B_{12} (AdoCbl) auf, sondern auch

jene des Methylierungskofaktors Methylcobalamin (MeCbl). In den sogenannten ‹Radikal› SAM Enzymen, die zur Jahrhundertwende durch Methoden der Bioinformatik als weitverbreitete neue Enzymklasse entdeckt wurden, gibt es interessanterweise die ebenfalls zahlreiche Mitglieder aufweisende Familie der B_{12}-abhängigen ‹Radikal› SAM Enzyme, in welchen neben SAM auch ein B_{12}-Derivat als zweiter Kofaktor auftritt. Häufig sind diese letzteren Enzyme radikalische Methyltransferasen, bei welchen MeCbl vermutlich als Donor der Methylgruppe agiert **(Zhang et al., 2012)**. Einzelne näher untersuchte Fälle ergaben die präzisere Vorstellung, dass dort MeCbl der Methylierungspartner eines durch SAM enzymatisch produzierten Substratradikals wäre. Dabei spielten chemische Experimente eine wegweisende Rolle, nach welchen die Radikal-Methylierung mit MeCbl → **vgl. Figur 6** tatsächlich auch eine überraschend effiziente, kinetisch und thermodynamisch günstige Reaktion in wässeriger Lösung ist **(Mosimann and Kräutler, 2000)**.

Nicht nur Proteine spielen, wie nun schon länger bekannt, als Komponenten B_{12}-betreffender biologischer Prozesse eine entscheidende Rolle, sondern auch RNA ist in den letzten zwei Jahrzehnten als biologisch wichtiger B_{12}-Bindungspartner erkannt worden, was mit den vermuteten ‹frühen› Rollen der Corrinoide bei der Entwicklung des Lebens in Zusammenhang gebracht wird. Die direkte Interaktion von AdoCbl und anderer Cobalamine mit sogenannten B_{12}-Riboschaltern, nichtkodierenden Stücken der Boten-RNA (mRNA), stellen einen durch Breaker und Mitarbeiter kurz nach der Jahrhundertwende erkannten Weg der bakteriellen Regulation der Gen-Expression dar **(Winkler and Breaker, 2005)**. Das Binden von AdoCbl an B_{12}-Riboschalter verändert deren Struktur durch Verschieben der Interaktionen zwischen einzelnen Nukleotidbasen. Dadurch kann die weitere Transkription der mRNA an der Polymerase, oder ihre Translation am Ribosom von ‹on› auf ‹off› — oder umgekehrt — geschaltet werden, was eine einfache strukturelle Grundlage für die Expression des betroffenen Gens ergibt. Typischerweise bewerkstelligt diese Sorte der Genregulation eine tiefgreifende Veränderung im Metabolismus, der in verschiedenen Mikroorganismen zwischen B_{12}-abhängigen und B_{12}-unabhängigen Wegen hin und her geschaltet werden kann und sich mit Hilfe der B_{12}-Riboschalter darauf einstellen kann.

In den letzten Jahren haben verschiedene weitere Entdeckungen von grundlegenden biologischen Rollen von B_{12}-Derivaten das B_{12}-Gebiet immer wieder belebt. Darunter ist die Entdeckung der Lichtschalterfunktion eines Koenzym B_{12} (AdoCbl) basierten

Photorezeptors bei der lichtabhängigen Gen-Regulation in Bakterien wie *Myxococcus xanthus* **(Padmanabhan et al., 2019)** und *Rhodobacter capsulatus* **(Cheng et al., 2016)**. Diese Bakterien nutzen die notorische Bereitschaft der Co-C Bindung von AdoCbl durch sichtbares Licht gespalten zu werden für die Kontrolle der Gen-Expression wichtiger Metabolite. AdoCbl ist kürzlich auch als ein allosterischer Inhibitor der bei der Parkinson'schen Krankheit aktiven Kinase LRRK2 beschrieben worden, was auch die Entwicklung dieser Krankheit (einer Neurodegeneration) inhibiert. AdoCbl bindet dabei offenbar an der Bindungstelle für Adenosyltriphosphat (ATP) und inhibiert derart eine durch LRRK2 katalysierte Phosphorylierung **(Schaffner et al., 2019)**.

Neuere molekularbiologische, biochemische, biostrukturelle und medizinische Fortschritte haben das Verständnis für die (bio)molekularen Prozesse bei der Aufnahme und metabolischen Verarbeitung von Vitamin B_{12} entscheidend erweitert **(Banerjee et al., 2009; Kräutler and Puffer, 2012)**. Vitamin B_{12} (CNCbl) und strukturell ähnliche andere Cobalamine (Cbl) werden ja mit einer sehr hohen Selektivität bei einer unglaublich geringen Konzentration (im unteren femto-molaren Bereich) aus der Nahrung aufgenommen und in die Zellen des gesamten Menschen transportiert, wo das aufgenommene B_{12} enzymatisch in die B_{12}-Kofatoren umgewandelt wird. Die B_{12}-bindenden Proteine Intrinsischer Faktor (IF), Transcobalamin (TC) und Haptocorrin (HC) sind die drei dabei zunächst essentiellen Transportvehikel und sind aus zwei Proteindomänen bestehende homologe Proteine, welche intakte Cobalamine, wie CNCbl, MeCbl und AdoCbl, von fast allen Seiten umschließen, sie fest binden und dabei hochselektiv erkennen **(Green et al., 2017)**. Die mangelhafte Bildung von IF in der Magenschleimhaut ist eine zum physiologischen B_{12}-Mangel verbreitet beitragende Erscheinung, die speziell bei älteren Menschen häufig zu beobachten ist. IF ist hochaffin für CNCbl und für strukturell ähnliche Cbl und schleust das (1:1)-gebundene Cbl in die Darmepithelzellen ein, von wo es nach Abbau des B_{12}-Transporters IF in die Blutgefäße gelangt um dort von HC und/oder TC gebunden zu werden. Der mit Cbl beladene Cbl-Transporter TC wird dann via zelluläre TC-Rezeptoren aus dem Blut in die individuellen menschlichen Zellen aufgenommen und in Lysosomen unter Freisetzung des Cbl zerlegt.

Vitamin B_{12} ist ja nicht direkt metabolisch aktiv und man kann es eigentlich als ein Provitamin B_{12} klassifizieren. Es wird vom funktionierenden zellulären Metabolismus des Menschen in

die beiden metabolisch wichtigen B_{12}-Kofaktore AdoCbl und MeCbl umgewandelt **(Gherasim et al., 2013)**. Die entscheidende (reduktive) Abspaltung des Cyanid-Ions von Vitamin B_{12} wird im gesunden Menschen durch das zelluläre MMACHC-Enzym (MMACHC = *m*ethylmalonic *a*ciduria type *C* and *h*omo*c*ystinuria) bewerkstelligt, dessen genetischer Lokus als *cblC* bezeichnet wird (das Enzym wird deshalb, der Einfachheit halber, ebenfalls CblC genannt). Inaktivität von CblC (z. B. durch eine entscheidende Mutation) wird u. a. durch Anreicherung von Methylmalonat (MM) und von Homocystein (HCys) im Serum erkannt, den beiden molekularen Biomarkern für B_{12}-Mangel, was zur oben angeführten Bezeichnung MMACHC geführt hat **(Obeid, 2017)**. Vitamin B_{12}-Derivate, die durch das körpereigene B_{12}-Transportsystem allen Zellen des Menschen zugeführt und dort eingeschleust würden, dann aber (funktionsfähigem!) CblC widerstehen (nicht für die später erfolgende Umwandlung in die metabolisch aktiven B_{12}-Kofaktoren AdoCbl und MeCbl vorbereitet werden könnten), führten zu ‹funktionellem› B_{12}-Mangel, der sich ebenfalls in der Anreicherung von MM und von HCys im Serum bemerkbar machte. Organometallische B_{12}-Derivate, die auf diese Weise einen ‹funktionellen› B_{12}-Mangel auslösen, werden nach einem kürzlich vorgestellten Konzept **(Kräutler, 2015)** als Antivitamine B_{12} (im engeren Sinne) klassifiziert. Diese sollten im Menschen die pathologischen Symptome des B_{12}-Mangels verursachen, wofür Untersuchungen an Mäusen mit dem potenziellen Antivitamin B_{12} 4-Ethylphenyl-cobalamin überzeugend sprechen **(Mutti et al., 2013)**. Derartige Antivitamine B_{12} sind demnach z. B. für Tierversuche sehr nützlich, die zwecks Aufklärung von noch immer rätselhaften pathologischen Konsequenzen des B_{12}-Mangels (und damit von den eigentlich interessierenden, komplementären physiologischen Wirkungen der Cobalamine) im Menschen durchgeführt werden (mehr über Antivitamine B_{12}, siehe ‹Diagnostische und therapeutische Anwendungen von B_{12}-Derivaten›).

Totalsynthese von Vitamin B_{12}

Felix Zelder

Die chemische Synthese von Vitamin B_{12} aus einfachen molekularen Bausteinen zählt zweifellos zu den Jahrhundertleistungen in der organischen Chemie und stellt einen Glanzpunkt der Naturwissenschaften in Zürich dar. Zwei Totalsynthesen mit etlichen Gemeinsamkeiten, aber auch wichtigen Unterschieden, wurden 1972 von den Gruppen um den ETH Professor Albert Eschenmoser (geb. 1925) und den Harvard Professor Robert Woodward (1917—1979; Nobelpreis für Chemie 1965) abgeschlossen → **Figur 19.** Beide Synthesewege, die einerseits an der ETH Zürich (ETH-Variante) und andererseits in einer beispiellosen transatlantischen Kooperation beider Gruppen (Harvard/ETH Variante) entwickelt wurden, basieren auf Corrin-Modellsynthesen aus den Zürcher Laboratorien. Diese beschrieben erstmalig den chemischen Aufbau des bis dahin unerschlossenen Strukturtyps des Corrin-Liganden.

Die damit verbundenen Arbeiten dauerten knapp 12 Jahre und kalkulierte 177 Lebensjahre auf die Anstrengungen von insgesamt 12 Doktoranden (ETH) und 91 Post-Doktoranden (ETH: 14; Harvard: 77) verteilt **(Eschenmoser & Wintner, 1977; Vitamin B_{12} Total Synthesis, 2020).** Anhand dieses gewaltigen Umfangs an menschlicher Arbeitsleistung lässt sich auch für den Laien die enorme Schwierigkeit und höchste wissenschaftliche Herausforderung dieses

Figur 19

Albert Eschenmoser (rechts) und Robert B. Woodward (links) am 5. März 1979 beim dritten «Europäischen Symposium über Vitamin B_{12} und den Intrinsischen Faktor» an der Universität Zürich

Foto: Marco Bonetti; Grosszügige Zurverfügungstellung: J. Seeman, USA.

Megaprojektes erahnen. In der Tat wurde bis heute keine alternative Route für die Darstellung des kobalthaltigen Naturstoffs entwickelt. Dies liegt sicherlich einerseits an dem ungeheuren Ausmass und der Komplexität des Projektes, andererseits gilt es aber auch zu bezweifeln, dass der Schlüsselschritt der ETH Variante, die lichtausgelöste (photochemische) AD-Zyklisierung, an Eleganz und Kühnheit in naher Zukunft noch übertroffen werden kann **(Yamada et al., 1969).**

Die beiden Totalsynthesen des Vitamin B_{12} stellen in vielerlei Hinsicht einen Zeiten- und Paradigmenwechsel in den Zielsetzungen der Naturstoffsynthesen dar, die durch revolutionäre Entwicklungen neuer spektroskopischer Methoden ausgelöst wurden **(Eschenmoser, 1974).** Bis in die Mitte des letzten Jahrhunderts standen heutzutage routinemässig eingesetzte physikalische Verfahren zur Strukturaufklärung wie die kraftvolle Röntgenstrukturanalyse oder die leistungsstarke Kernspinresonanzspektroskopie nicht zur Verfügung. Daher war es die vorrangige Aufgabe der Totalsynthese, die Konstitution, d. h. den Aufbau eines Naturstoffes, zu beweisen. Hierfür wurden beispielsweise die Schmelzpunkte, Absorptions- und Infrarotspektren des synthetisierten Produktes und seines natürlichen Vorbilds miteinander verglichen. Um jedoch eine mögliche Struktur zu postulieren, war neben dem Aufbau auch der gezielte systematische Abbau des Naturstoffes zwingend nötig. Zu diesen Zwecken wurde ein Repertoire an literaturbekannten chemischen Abbaumethoden eingesetzt. Berühmte Beispiele für Naturstoffsynthesen zum Konstitutionsbeweis sind Adolf von Bayers (1835—1917; Nobelpreis für Chemie 1905) Synthese von Indigo und Hans Fischers (1881—1945; Nobelpreis für Chemie 1930) Totalsynthese des Blutfarbstoffes Häm, einem natürlichen Eisenporphyrin.

Im Gegensatz zu diesen historischen Leistungen konnte beim Vitamin B_{12} jedoch zum ersten Mal nicht die Struktur des Naturstoffes durch chemische Abbaumethoden aufgeklärt werden → **Seite 9.** Tatsächlich wurde die hochkomplexe Struktur des Vitamins erst durch den Einsatz der damals noch «jungen» Methode der Röntgenstrukturanalyse aufgedeckt → **Seite 10.** Aufgrund dieser rasanten Entwicklungen verschob sich der Fokus der Naturstoffsynthese vom reinen Strukturbeweis hin zur Aufklärung bislang unbekannter chemischer Verhaltensweisen von neuartigen biologisch bedeutsamen Strukturtypen. Albert Eschenmoser beschreibt diese veränderte Zielsetzung als die Aufklärung einer physikalisch entdeckten «Strukturinsel» mit chemischen Mitteln,

wobei der, «über bisher Bekanntes hinausgehenden», Erschliessung eines Syntheseobjekts eine entscheidende Bedeutung zugeordnet wird **(Eschenmoser, 1974)**. Die chemische Herausforderung und Konfrontation mit neuartigen planerischen und methodischen Problemen stand somit fortan im Vordergrund der Zielsetzungen der Naturstoffsynthese. Mit dem frisch charakterisierten Vitamin B_{12} stand für diesen Paradigmen- und Zeitenwechsel in der Naturstoffsynthese eine Verbindung von zuvor noch nicht beobachteter Komplexität und Größe zur Verfügung. Dieses strukturell komplizierteste aller Vitamine unterscheidet sich fundamental in seinem Chromophorsystem, den peripheren Seitenketten und der direkten Verknüpfung der Ringe A und D von anderen biogenetisch verwandten Tetrapyrrolen, wie dem Häm und Chlorophyll.

Nur wenige Jahre nach der Charakterisierung von Vitamin B_{12} konnte der deutsche Biochemiker Konrad Bernhauer bereits 1960 den Naturstoff aus dem natürlichen Derivat Cobyrsäure → **Figur 2, rechts** und dem entsprechenden Nukleotidbaustein in einer Partialsynthese zusammensetzen **(Bernhauer et al., 1960)**. Diese Reaktionsfolge stellte formal die letzten Schritte der Totalsynthese von Vitamin B_{12} dar und rückte die hochkomplexe Cobyrsäure → **Figur 2, rechts** in den Fokus der Totalsynthese.

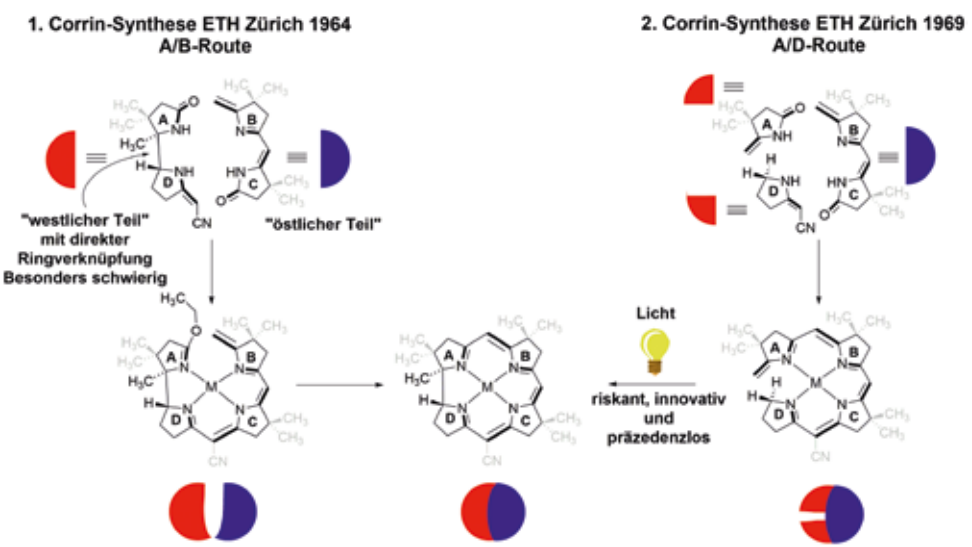
Im Kern einer Totalsynthese steht die gezielte Verknüpfung von Kohlenstoff-Kohlenstoff und Kohlenstoff-Heteroatom Bindungen (z. B. mit N oder O). Dabei ist neben der Art der Verknüpfung (Konstitution) auch die korrekte räumliche Ausrichtung der Bindungen von äusserster Wichtigkeit (Stereochemie). Wie im ersten Kapitel dieses Neujahrsblattes beschrieben, handelt es sich bei Vitamin B_{12} um einen makrozyklischen Kobaltkomplex, bei dem das zentrale Metallion asymmetrisch von einem helikalen Corrin-Ligand umgeben ist. Der Corrin-Ligand besitzt neun asymmetrische Kohlenstoff-Zentren → **Figur 1**, die in der Totalsynthese möglichst gezielt, also in stereospezifischen Syntheseschritten aufzubauen waren. Ansonsten hätte die Synthese sehr schnell zu einer unüberschaubaren und schwer trennbaren Mischung von Diastereomeren mit unterschiedlichen chemischen, physikalischen und vor allem biologischen Eigenschaften geführt.

Die Synthese des «präzedenzlos komplizierte[n] räumliche[n] Bau[s] der Cobyrsäure» **(Eschenmoser, 1974)** verlangte jedoch auch die Entwicklung neuartiger Strategien, Methoden und Reagenzien, da gängige Verfahren für den Aufbau wichtiger Strukturelemente zu der damaligen Zeit noch nicht zur Verfügung standen. Daher mussten die beiden «Bindungsarchitekten» Albert

Eschenmoser und Robert Woodward neben unkonventionellen Syntheseideen auch parallel die dafür benötigten chemischen Werkzeuge mitentwickeln. In der Tat wurden diese Herausforderungen während den 12 Jahre dauernden Totalsynthesen des Vitamin B_{12} mit Bravour gelöst. Hervorzuheben sind insbesondere Eschenmosers geniale photochemische Verknüpfungsmethode des A und D Ringes sowie die von derselben Gruppe entwickelte Methode der «Sulfidkontraktion», die nicht nur in beiden Vitamin B_{12} Totalsynthesen, sondern auch in zahlreichen späteren Naturstoffsynthesen erfolgreich angewandt wurde.

Die theoretische Analyse eines «Reaktivitätsrätsels» **(Eschenmoser, 1974; Woodward, 1973)**, das während der Synthese eines Vitamin B_{12} Ringbausteins an der Universität Harvard beobachtet wurde, führte zu der Einführung des Konzeptes zur «Erhaltung der Orbitalsymmetrie», das R. B. Woodward zusammen mit Roald Hoffmann (geb. 1937; Nobelpreis für Chemie 1981) entwickelte **(Woodward & Hoffmann, 1969)**. Diese sogenannten «Woodward-Hoffmann Regeln» sind heutzutage Standardlehrbuchwissen in der physikalisch-organischen Chemie.

Bereits im Dezember 1959 begann die ETH Gruppe mit der Synthese eines Corrin-Systems, das fünf Jahre später fertiggestellt und publiziert wurde **(Bertele et al., 1964)** → **Figur 20**. Diese Arbeit zeigte zum ersten Mal, wie es möglich ist, das einzigartige Chromophorsystem des kobalthaltigen Corrin-Liganden mit den direkt verknüpften A- und D-Ringen aufzubauen → **Figur 20, links.**



Figur 20

Vereinfachte, schematische Darstellung der beiden Zürcher Corrin-Modellsynthesen nach der A/B- und A/D-Route (Eschenmoser, 1974). Sie dienten als Vorlage für beide Vitamin B_{12} Totalsynthesen nach der Harvard/ETH Variante (A/B-Route) und der ETH Variante (A/D-Route). Die beiden Routen unterscheiden sich vor allem in der stereochemisch komplexen, direkten Verknüpfung der Ringe A und D.

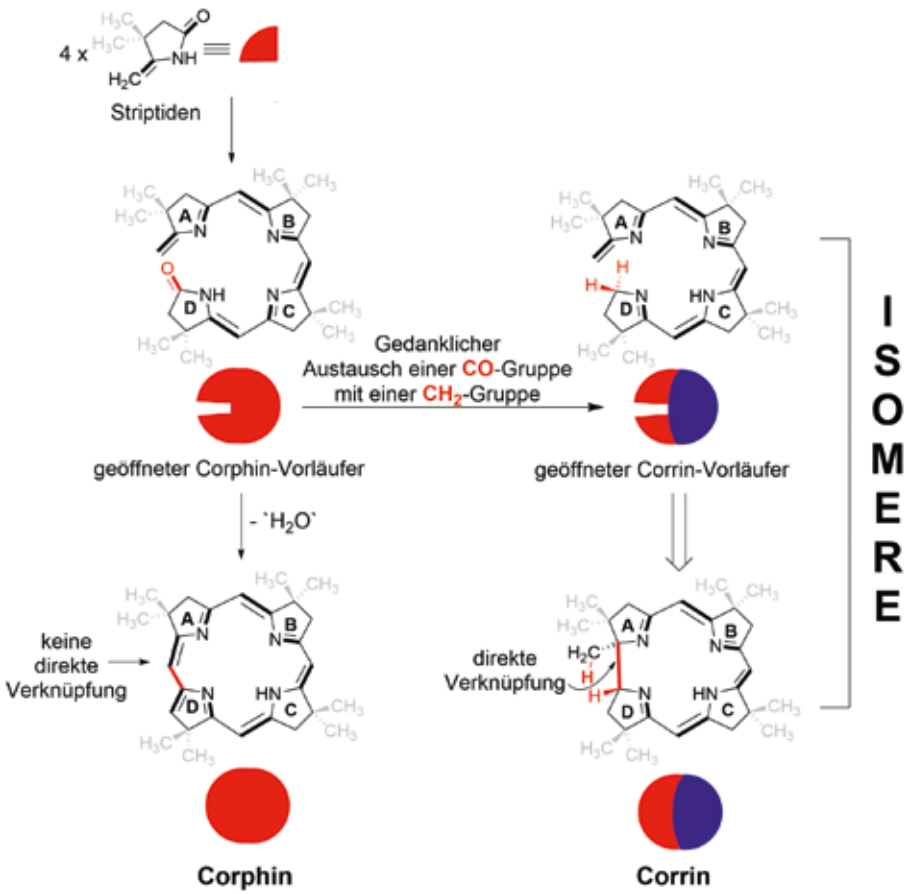
Bild: F. Zelder

Für die chemische Konstruktion des neuartigen Corrin-Ligandensystems war insbesondere die Entwicklung der Iminoester/Enamin-Kondensationsmethode zur Kohlenstoff-Kohlenstoff Bindungsknüpfung von herausragender Bedeutung. Auf das Einfügen der peripheren Seitenketten der natürlichen B_{12}-Bausteine wurde zunächst verzichtet, um anschließend die Corrin-Synthese als Vorlage für die Totalsynthese zu nutzen **(Eschenmoser, 1974)**. Im Verlauf der Totalsynthese waren jedoch weitere wichtige Optimierungen und Adaptionen unumgänglich, da kleine aber bedeutende Reaktivitätsunterschiede zwischen dem Corrin-Modell und Vitamin B_{12} trotz enger Verwandtschaft vorhanden waren.

Die grundlegende Idee zum Aufbau des ersten Corrin-Systems war — *sehr vereinfacht dargestellt* — einen «westlichen» und einen «östlichen» Teil des Naturstoffes zu synthetisieren und diese Bausteine anschließend schrittweise miteinander zu verknüpfen, wie in → **Figur 20, links** schematisch dargestellt. Diese Vorgehensweise wird A/B Route genannt und unterscheidet sich von der später diskutierten A/D-Route der ETH Gruppe, die 1969 veröffentlicht wurde → **Figur 20, rechts (Yamada et al., 1969)**.

Ein Jahr nach dem Startschuss zur Entwicklung der ersten Corrin-Synthese in Zürich begann auch die Woodward Gruppe in Harvard in einem zunächst unabhängigen Ansatz mit der Totalsynthese von Vitamin B_{12}. Die Bostoner Gruppe wagte sich an die sehr schwierige Aufgabe des strategisch komplexen Aufbaus einer A/D Komponente. Diese stereospezifische, 37-stufige Synthese des «westlichen» Bausteins von Vitamin B_{12} stellt eines der herausragendsten Beispiele der organischen Synthesekunst dar. Aufgrund der verblüffenden Komplementarität mit der ersten Zürcher Corrin-Synthese → **Figur 20, links** beschlossen Eschenmoser und Woodward 1965 die Totalsynthese gemeinsam nach dem Vorbild der Zürcher A/B Route zu vollenden → **Figur 20, links.** In dieser Zusammenarbeit (Harvard/ETH Variante) war die Zürcher Gruppe für den Aufbau des «östlichen» Teils (B/C Komponente) und die Harvard Gruppe für die Synthese des «westlichen» Teils (A/D Komponente) der Cobyrsäure zuständig.

Parallel zu diesen Entwicklungen beschäftige sich jedoch Albert Eschenmoser unabhängig und intensiv mit der Idee einer alternativen Corrin Synthese → **Figur 20, rechts (Eschenmoser, 2020)**. Diese sollte zwei Merkmale radikal miteinander vereinen. Einerseits sollte der Makrozyklus aus einem einzigen Ausgangsmaterial hergestellt werden, wie dies auch in der Biosynthese des Vitamins beobachtet wird → **Figur 13**. Andererseits sollten die



Ringe A und D anstelle von A und B beim ultimativen Ringschluss miteinander verknüpft werden → **Figur 20, rechts.** Diese Herangehensweise ist bemerkenswert und riskant, weil die Synthese dieses Strukturelements lange Zeit als die schwierigste synthetische Aufgabe in der Totalsynthese galt. Daher wurde diese enorme synthetische Herausforderung im A/B Ansatz der Totalsynthese auch sehr früh angegangen, um ein spätes Scheitern aller Anstrengungen zu vermeiden.

Folgende Entwicklungen trugen nun maßgeblich dazu bei, dass es von der Idee einer möglichen A/D Verknüpfung tatsächlich zur verblüffenden Bewältigung dieses scheinbar unlösbaren Syntheseproblems kam. Zunächst gelang es der Eschenmoser Gruppe ein Corphin aus einem einzigen Startmaterial, dem Striptiden in wenigen Schritten aufzubauen → **Figur 21 (Johnson et al., 1968).**

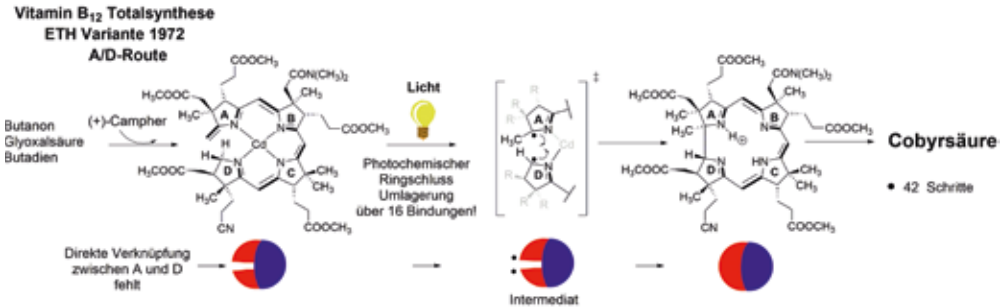
Figur 21

Gedankenexperimente zum Aufbau eines Corphins aus einem einzigen molekularen Baustein, dem Striptiden (linke Spalte) und zur Umwandlung eines geöffneten Corphin-Vorläufers zu einem Corrin über einen isomeren, geöffneten Corrin-Vorläufer (Eschenmoser, 2020).

Bild: F. Zelder

Dem Corphin fehlt im Gegensatz zum Corrin die entscheidende direkte Verknüpfung im «westlichen Teil» des Makrozyklus → **Figur 21.** Trotz dieses elementaren Unterschieds fielen Albert Eschenmoser jedoch wichtige Merkmale einer strukturellen Verwandtschaft beider Makrozyklen sowie ihrer Vorläufermoleküle auf → **Figur 21.** Würde man in einem Gedankenexperiment in dem Corphin-Vorläufermolekül die Carbonylgruppe am D-Ring formal durch eine CH_2-Gruppe ersetzen → **Figur 21; rote Markierung der Gruppen,** erhielte man eine alternative Verbindung, die ein Isomer des geschlossenen Corrin-Komplexes wäre → **Figur 21.** Da ein Isomer bei gleicher Summenformel eine unterschiedliche Struktur besitzt, müsste man es jetzt nur noch schaffen, ein Proton von Ring D auf die CH_2-Gruppe an Ring A zu verschieben, um den Ringschluss auszulösen und somit zum Zielkomplex zu gelangen. Aber wie sollte sich der Wasserstoff über 16 Bindungen verschieben? Eine solche Umlagerungsreaktion erschien zunächst völlig ausgeschlossen und die Darstellung des benötigten geöffneten Corrin-Vorläufers wäre nach dem damaligen Kenntnisstand einem gefährlichen Auftrag gleichgekommen. Die Situation änderte sich jedoch fundamental mit der Einführung der «Woodward-Hoffmann» Regeln. Dieses neue Konzept beschrieb unter anderem genau solche Wasserstoffverschiebungen, nach denen Albert Eschenmoser lange suchte **(Eschenmoser, 2020).** Nach diesen Regeln sollte die vorher für unmöglich gehaltene Verschiebung des Wasserstoffs über den gesamten Makrozyklus durch Licht (photochemisch) ausgelöst werden können und über ein hochreaktives Intermediat → **Figur 22, Mitte** zu dem Corrin-Komplex in der richtigen stereochemischen Anordnung des neugebildeten Strukturelements abreagieren. Aufbauend auf diesen Erkenntnissen wagte sich die Eschenmoser Gruppe an dieses neue Abenteuer und berichtete in Rekordzeit schon 1969 über die zweite Corrin-Synthese (A/D Ansatz), die der ersten Corrin-Synthese weit überlegen war → **Figur 22 (Yamada et al., 1969).**

Aufbauend auf den Corrin-Synthesen wurden in sehr anspruchsvollen Arbeiten, die im Rahmen dieses Neujahrsblattes nicht näher besprochen werden können, die benötigten Vitamin B_{12} Ringbausteine dargestellt und beide Totalsynthesen gleichzeitig im Jahr 1972 abgeschlossen **(Eschenmoser & Wintner, 1977; Eschenmoser, 1974; Woodward, 1973).** In der Totalsynthese der Eschenmoser Gruppe (ETH Variante, → **Figur 22**) wurde ausgehend von einfachen Startmaterialien wie Glyoxal in nur 42 Reaktionsschritten die Cobyrsäure synthetisiert. Den Schlüsselschritt dieser äusserst effizienten Reaktionsführung stellte die neuartige



Figur 22

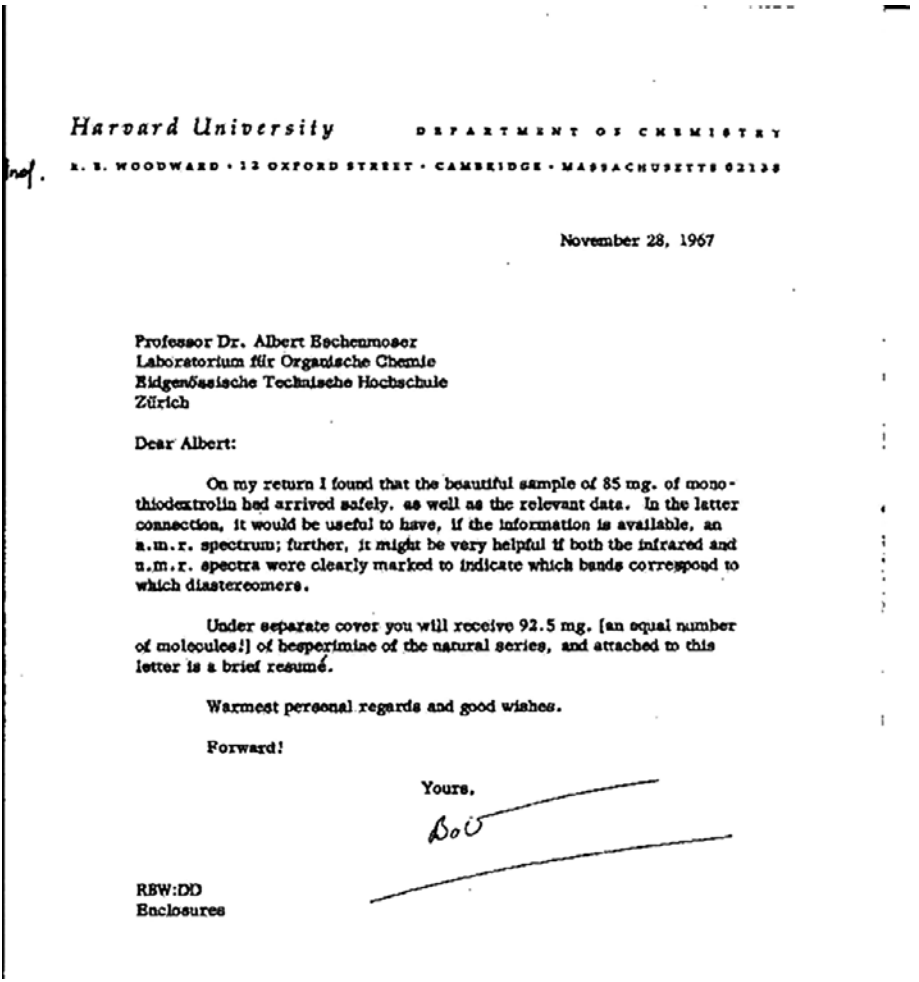
Vereinfachte, schematische Darstellung und Schlüsselschritt der Zürcher Vitamin B_{12} Totalsynthese (ETH Variante) nach dem A/D Ansatz (Eschenmoser, 1971; Eschenmoser & Wintner, 1977; Yamada et al., 1969). Für diese Route wurden ausgehend von einfachen Startmaterialien wie Glyoxalsäure (links) nur 42 Reaktionsschritte bis zur Darstellung von Cobyrsäure benötigt. Vom Reaktionsintermediat ist nur das «westliche» Molekülfragment gezeigt.

Bild: F. Zelder

photochemische Ringschlussreaktion zum stereoselektiven Aufbau des A-D Strukturteils dar, die während der 2. Zürcher Corrin-Synthese entwickelt wurde → **Figur 20, rechts,** → **Figur 22.** Neben dem Ringschluss war für den Erfolg der A/D-Route jedoch auch der glückliche Umstand entscheidend, dass Dr. Jakob Schreiber in der Zwischenzeit eine HPLC-Säule konstruierte, die die Isolierung des gewünschten Produktes nach dem photochemischen Ringschluss ermöglichte **(Schreiber, 1971).** In der Tat war es wieder einmal die Eschenmoser-Gruppe, die mit der eigens entwickelten «Schreiber-Säule» eine neue Methode erstmalig in der Naturstoffsynthese einsetzte und etablierte. Heutzutage sind HPLC Geräte und Säulen in unterschiedlichsten Ausführungen kommerziell erhältlich und als Standard-Trennmethode in den meisten Syntheselaboren unersetzlich.

Im Gegensatz zur Totalsynthese nach der ETH Variante, wurde die Cobyrsäure in der Harvard/ETH Variante nach dem A/B Ansatz in einer einzigartigen transatlantischen Kooperation angefertigt. Im Zusammenhang dieser Arbeiten wurde der «westliche» Molekülvorläufer in Boston und der «östliche» Baustein in Zürich synthetisiert und die Bausteine nach der Zürcher Sulfidkontraktionsmethode in Harvard miteinander verkoppelt. Während dieser über 60 Reaktionsstufen andauernden chemischen Herausforderung wurden zwischen den Gruppen offen und intensiv Ideen und Erfahrungen diskutiert und Syntheseprodukte ausgetauscht, wie ein Brief von R. B. Woodward an Albert Eschenmoser eindrücklich belegt → **Figur 23.**

Über Fortschritte zu den Arbeiten der Totalsynthese nach der Harvard/ETH Variante berichteten Eschenmoser und Woodward in regelmässigen Abständen auf wissenschaftlichen Vorträgen und Konferenzen. Als R. B. Woodward die «Totalsynthese von Vitamin B_{12}» 1972 während des Weltkongresses der «International Union of Pure and Applied Chemistry» (IUPAC) in New



Harvard University DEPARTMENT OF CHEMISTRY

Prof. R. B. WOODWARD • 12 OXFORD STREET • CAMBRIDGE • MASSACHUSETTS 02138

November 28, 1967

Professor Dr. Albert Eschenmoser
Laboratorium für Organische Chemie
Eidgenössische Technische Hochschule
Zürich

Dear Albert:

On my return I found that the beautiful sample of 85 mg. of monothiodextrolin had arrived safely, as well as the relevant data. In the latter connection, it would be useful to have, if the information is available, an n.m.r. spectrum; further, it might be very helpful if both the infrared and n.m.r. spectra were clearly marked to indicate which bands correspond to which diastereomers.

Under separate cover you will receive 92.5 mg. [an equal number of molecules!] of hesperimine of the natural series, and attached to this letter is a brief resumé.

Warmest personal regards and good wishes.

Forward!

Yours,

RBW:DD
Enclosures

Figur 23

Brief von R. B. Woodward an A. Eschenmoser zum Austausch der Harvard A/D-Komponente («Hesperimin») und der ETH B/C-Komponente («Thiodextrolin») während ihrer Kooperation zur Vitamin B_{12} Totalsynthese nach der Harvard/ETH Variante (A/B-Route).

Grosszügige Zurverfügungstellung: A. Eschenmoser, Zürich.

Delhi erstmals offiziell verkündete, wurde jedoch ausschliesslich die Harvard/ETH Variante (A/B-Route) besprochen. (Vitamin B_{12} Total Synthesis 2020). Die photochemische ETH Variante von der Totalsynthese hatte Albert Eschenmoser bereits 1971 beim 23. IUPAC Kongress in Boston vorgestellt. **(Eschenmoser, A. 1971)**

Obwohl beide Synthesevarianten gleichzeitig im Jahr 1972 abgeschlossen wurden, hält sich bis heute der fehlerhafte Eindruck, es gäbe eine frühe, erste ETH/Harvard Synthese und eine spätere, zweite nach der ETH Variante. Dieses Missverständnis ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass es nicht zu einer gemeinsamen Publikation beider Protagonisten kam, die beide Routen gegenüberstellt und entsprechend ihrer Bedeutung während der erstmaligen Darstellung der Cobyrsäure diskutiert. In der Publikation «The Total Synthesis of Vitamin B_{12}» **(Woodward, 1973)** beschreibt R. B. Woodward im Jahr 1973 die Totalsynthese der Harvard/ETH Variante und hebt explizit die enge Zusammenarbeit und Leistung beider kooperierender Gruppen hervor. Trotz mehrerer Initiativen Albert Eschenmosers kam es anschliessend nicht mehr zu einer gemeinsamen Publikation mit R. B. Woodward, die beide Varianten der Totalsynthesen gegenüberstellt **(Eschenmoser, 2020)**. Daher entschied sich Albert Eschenmoser erst 1977, also fünf Jahre nach Vollendung, die ETH Variante zusammen mit Wintner im Fachmagazin Science zu publizieren **(Eschenmoser & Wintner, 1977)**.

In Kürze feiern die Totalsynthesen von Vitamin B_{12} ihren 50. Geburtstag. Sie sind Meisterleistungen der chemischen Syntheseplanung und Synthesekunst und leiteten einen Zeiten- und Paradigmenwechsel in der Naturstoffsynthese ein. Aus diesen Gründen prägten und inspirierten sie Generationen von Chemikern bis in die Gegenwart. Die Zürcher Leistungen des erstmaligen synthetischen Aufbaus eines Corrin-Ligandensystems und die Entwicklung der effizienteren und eleganteren Totalsynthese mit dem photochemischen Schlüsselschritt (ETH Variante) sind besonders hervorzuheben. Die Chemie der Corrine und die Vitamin B_{12} Totalsynthesen sind daher mit dem Namen Eschenmoser, seiner Forschungsgruppe und der Forschungsstätte Zürich eng verbunden.

Entdeckung von Vitamin B_{12}

Felix Zelder

Die Entwicklungen zur Entdeckung des Vitamin B_{12} und zur Aufklärung seiner biologischen Funktionen hingen unmittelbar mit Beobachtungen zu einer tödlich verlaufenden Blutarmut zusammen und der Erkenntnis, dass gewisse Nahrungsmittel dieses tödliche Leiden vollständig kurieren konnten. Die erste Beschreibung der Anämie geht auf den schottischen Arzt James Combe (1793—1860) zurück, der eine sonderbare, rasch fortschreitende Anämie bei dem 47-jährigen Patienten Alexander Haynes beobachte, die nach nur 7 Monaten zu seinem Tode führte. Behandlungsversuche mit Mineralwasser und stärkender Ernährung liessen den Patienten nicht wieder gesunden **(Combe, 1824)**.

Der Londoner Arzt Thomas Addison (1793—1860) beschrieb im Jahr 1848 weitere Details dieser merkwürdigen Krankheit. Er beobachtete Patienten mit wachsartigem Antlitz, die über Appetitlosigkeit und Störungen des Geschmacks-, Tast- und Geruchsinnes klagten. Die Blutarmut trat meist erst nach Erreichen des mittleren Alters auf und betraf beide Geschlechter gleichermassen. Der deutsche Mediziner Anton Biermer (1827—1892; **→ Figur 24**), der von 1867—1874 an der Universität Zürich lehrte, prägte 1872 den bis heute gebräuchlichen Begriff der perniziösen, also schädlichen Anämie, nachdem er den tödlichen Verlauf der Blutarmut bei 15 Patienten detailliert untersuchte **(Schneede, 2017)**.

In den folgenden Jahren wurden weitere Details der perniziösen Anämie aufgeklärt. Es fiel auf, dass die Krankheit mit auffallend grossen Blutzellen einherging und ausserdem Verkümmerungen des Rückenmarks hervorrief **(Cohnheim, 1876)**. Zu diesen Zeiten war die perniziöse Anämie eine unheilbare, tödliche Krankheit und ihr Auslöser unbekannt. An ihren Folgen starben alleine in den Vereinigten Staaten von Amerika bis zu 50 000 Personen jährlich **(Schneede, 2017; Ahrens, 1993)**. Daher wurden heilende Mixturen und Präparate fieberhaft gesucht und direkt am Patienten ausprobiert. Dieses Vorgehen führte fälschlicherweise zu der weitverbreiteten Annahme, dass arsenhaltige Verbindungen, wie beispielsweise die Fowler'sche Lösung, die Anämie linderten. Heute wird die Verabreichung arsenhaltiger Medikamente aufgrund ihrer Karzinogenität vermieden und führte vermutlich auch schon damals zu einem verfrühten Tod vieler Anämie Patienten.

Figur 24

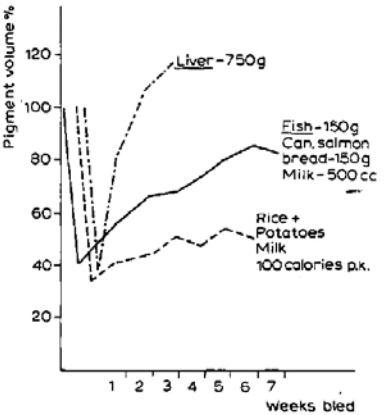
Porträt von Prof. Anton Biermer

Mit freundlicher Erlaubnis: Archiv für Medizingeschichte Universität Zürich (AfMUZH) PN 31.01:1065_21

Andere Wissenschaftler vermuteten hingegen schon recht früh eine falsche Ernährung als Auslöser der Blutarmut, konnten diesen Verdacht mit der Verabreichung sowohl fett- als auch proteinreicher Nahrung jedoch nicht bestätigen. Es dauerte daher noch weitere Jahre, bis man sich einer möglichen Therapie endlich entscheidend näherte. Experimente zur Regeneration des Blutes und zur Entwicklung von Blutersatzstoffen waren zu Zeiten des 1. Weltkrieges von grossem gesellschaftlichem und militärischem Interesse.

Im Zusammenhang dieser Studien untersuchte der amerikanische Mediziner George H. Whipple (1878—1976) die Regeneration von Blut bei Hunden, denen künstlich eine Anämie durch Blutentnahme zugefügt wurde **(Whipple, 1935)**.

Er stellte dabei fest, dass die Regeneration des Blutes sehr stark von der Diät der Tiere abhing → **Figur 25**. In diesem rudimentär anmutenden aber wichtigem Experiment wurde die Zunahme des sich im Blut befindlichen Sauerstoffbinders Hämoglobin, bestehend aus dem Protein Globin und vier Äquivalenten des



Figur 25

Effekt von verschiedenen Nahrungsmitteln auf die Regeneration des Blutes von Hunden

Mit freundlicher Genehmigung: © The Nobel Foundation. George H. Wipple 1934 Nobel Lecture «Hemoglobin regeneration as influenced by diet and other factors».

Eisenporphyrins Häm, mit dem Verzehr sehr grosser Mengen an Leber (750 Gramm pro Tag!) in Zusammenhang gebracht. Andere Nahrungsmittel wie Reis, Kartoffeln oder Milch zeigten hingegen kaum einen therapeutischen Effekt **(Whipple, 1934)**.

Inspiriert von dieser wegweisenden Arbeit folgten bald Therapieversuche am Menschen. Dem Mediziner George R. Minot (1885—1950) von der Harvard Medical School fiel zu dieser Zeit auf, dass eine beachtliche Anzahl anämischer Patienten in ihrer Ernährung gänzlich auf Fleisch verzichtete. Zusammen mit seinem Kollegen William P. Murphy (1892—1987) zeigte er 1926 in einer umfangreichen Studie **(Minot & Murphy, 1926)**, dass der tägliche Verzehr grosser Mengen Leber zu einer raschen Verbesserung der Symptome führte. Die empfohlene tägliche Diät bestand zu Beginn aus 120 bis 240 Gramm gekochter Leber, mindestens 120 Gramm Hammelfleisch, sowie Gemüse, Früchte, Eier und Milch. Aufgrund dieser speziellen Diät nahm die Konstitution und das Wohlbefinden der Patienten innerhalb von nur einer Woche entscheidend zu. Die beiden Forscher beherrschten ausserdem schon damals eine Methode, um junge, unreife Blutzellen (Retikulozyten) zu zählen und konnten somit die Wirkung ihrer Therapie effizient verfolgen. Diese Untersuchungen zeigten, dass die Regeneration der Blutzellen rasch einsetzte und nach nur ungefähr sechs weiteren Wochen abgeschlossen war.

In «Anerkennung ihrer Leistungen zur Entdeckung der Lebertherapie anämischer Patienten» wurden Whipple, Murphy und Minot im Jahr 1934 mit dem Nobelpreis für Physiologie und Medizin ausgezeichnet. Der heilende Bestandteil der Leber, das Vitamin B_{12}, war jedoch weiterhin unbekannt und wurde extrinsischer Faktor genannt.

Patienten mit perniziöser Anämie klagten oftmals über Magenschleimhautentzündungen (atrophische Gastritis) oder über fehlenden Magensaft (Achlorhydrie). Daher erschien es naheliegend, dass in der Magensäure gesunder Menschen ein intrinsischer Faktor vorliegen müsse, der für die Aufnahme des extrinsischen Faktors in die Zellen verantwortlich sei **(Castle, 1929)**. Der wissenschaftliche Beweis für diese Hypothese gelang dem amerikanischen Mediziner W. B. Castle (1897—1990) in einer Reihe bemerkenswerter Versuche. Er konnte anschaulich zeigen, dass weder der Verzehr von Fleisch noch von Magensäure zu einer Vermehrung der Retikulozyten bei Patienten führte. Erst nachdem das Fleisch für eine Stunde in Castle's eigenem Magen verweilte, erwürgt und anschliessend dem Patienten verabreicht wurde, zeigte sich der therapeutische Erfolg.

Die orale Lebertherapie war für die Patienten einerseits lebensrettend, andererseits war der tägliche Verzehr grosser Mengen Leber natürlich nicht jedermanns Sache. Alternativen wurden daher schon frühzeitig gesucht, wobei die Isolierung des Vitamin B_{12} (alias extrinsischer Faktor) aus der Leber früh im Vordergrund stand. Dies erforderte die Darstellung von Leberfraktionen mit angereichertem Vitamin B_{12} (Konzentraten), was jedoch durch zwei Faktoren wesentlich erschwert wurde. Einerseits waren die Natur und die Eigenschaften des extrinsischen Faktors unbekannt. Die einzig anwendbare Nachweismethode des extrinsischen Faktors in einem Konzentrat war zunächst das langwierige Auszählen von Retikulozyten beim Patienten während der Lebertherapie. Andererseits waren auch grosse Mengen an Leber nötig, um kleinste Mengen an Vitamin B_{12} anzureichern. Insgesamt wird mindestens eine Tonne Leber benötigt, um nur 1 Gramm Vitamin B_{12} zu isolieren.

Der entscheidende Durchbruch bei der Isolierung von Vitamin B_{12} gelang der amerikanischen Mikrobiologin Mary S. Shorb (1907—1990). Sie konnte eindrücklich zeigen, dass das Wachstum von *Lactobacillus lactis Dorner* vom extrinsischen Faktor abhing **(Olson, 2001)**. Dieses neue biologische Nachweisverfahren wurde mit leicht kultivierbaren Bakterien und nicht mit Patienten durchgeführt und war dadurch wesentlich schneller und unkomplizierter als die bisherige Methode.

Diese Entwicklung beschleunigte die Forschungsanstrengungen und ermöglichte es dem amerikanischen Biochemiker Karl A. Folkers (1906—1997) und seinem Team bei Merck, eine rötliche Substanz mit dem Namen Vitamin B_{12} im Jahr 1948 zu

isolieren. Interessanterweise gelang dieser Durchbruch zeitgleich Ernst L. Smith (1904—1992) von Glaxo Laboratories (England), weshalb beiden Teams gemeinsam diese Glanzleistung in der Naturstoffchemie zugesprochen wird.

Die von Minot und Murphy eingeführte Diät wurde aufgrund dieser Erkenntnisse schon bald durch effizientere Präparate ersetzt. Insbesondere wurden Mischungen von Leberkonzentraten und intrinsischem Faktor in Form verflüssigter Mageninhalte eingeführt (Schneede, 2017). Es ist leicht vorstellbar, dass diese Rezepturen gezwungenermassen schrecklich schmecken mussten. Daher wurden sie rasch durch neue Mischungen ersetzt, die intravenös anstatt oral verabreicht werden konnten. Aufgrund unterschiedlicher Herstellungs- und Reinigungsmethoden variierten jedoch die Wirkungsgrade der Konzentrate enorm. Ausserdem waren sie nicht frei von Nebeneffekten, die bis hin zum Tod der Patienten führen konnten.

Heutzutage kann auf das gefährliche Spritzen von Leberkonzentraten glücklicherweise verzichtet werden, da in den 1960er Jahren der biotechnologische Zugang zu reinem und daher ungefährlichem Vitamin B_{12} gesichert werden konnte.

Medizinische Bedeutung von Vitamin B_{12}

Felix Zelder

Ungefähr 60 % der schweren Fälle eines Vitamin B_{12} Mangels sind auf die perniziöse Anämie zurückzuführen **(Stabler, 2013)**. Dabei handelt es sich um eine Autoimmunkrankheit, bei der Antikörper zu einer Zerstörung der Belegzellen (Parietalzellen) im Ileum führen **(Biesalski, 2019)**. Diese Zellen sind für die Bildung des Vitamin B_{12} Transporters (Intrinsischer Faktor) verantwortlich. Bei dessen Fehlen kann das Vitamin nicht mehr die Darm-Blut Schranke überwinden und von den Zellen aufgenommen werden.

Häufig wird jedoch auch ein Vitamin B_{12} Mangel beobachtet, obwohl genügend Intrinsischer Faktor vorhanden ist und auch keine Mangelernährung vorliegt. Dieses Phänomen wird meist bei älteren Menschen beobachtet und hat folgende Ursache. In der Nahrung ist das Vitamin an Nahrungsproteine gebunden, die nicht zellgängig sind. Das Vitamin muss deshalb im Magen zunächst freigesetzt werden, um anschliessend vom bereits erwähnten zellgängigen Intrinsischen Faktor aufgenommen werden zu können. Bei der Freisetzung spielen Proteasen sowie das saure Darmmilieu eine entscheidende Rolle. Eine reduzierte Bildung der Magensäure aufgrund von Krankheit (z. B. Achlorhydrie) oder wegen des dauerhaften Gebrauchs von Medikamenten (z. B. Antazida) führt zu einer verzögerten oder verhinderten Freisetzung des Vitamins vom Nahrungsmittelkomplex. Folglich kann nicht genügend Vitamin die Darm-Blut Schranke überwinden, um die Zellen zu versorgen.

Bei einer ausgewogenen Mischkosternährung beträgt die tägliche Aufnahme eines ausgewachsenen Menschen an Vitamin B_{12} zwischen 4 und 6 Mikrogramm **(Biesalski, 2019)**. Diese Menge ist für den Metabolismus vollkommen ausreichend. Zur Absicherung ist Vitamin B_{12} ausserdem noch in der Leber gespeichert. Als potenzielles Risiko für einen Vitamin B_{12} Mangel kann sich jedoch eine einseitig vegane Ernährung erweisen. Insbesondere bei schwangeren Veganerinnen ist deshalb stets darauf zu achten, dass die Nahrung mit Vitamin B_{12} angereichert ist. Ansonsten können bei den Neugeborenen schwerwiegende Entwicklungsstörungen des Gehirns, eine Verlangsamung des Wachstums,

Lethargie oder Probleme bei der Nahrungsaufnahme als Folgeerscheinungen auftreten **(Biesalski, 2019)**.

Neben dem erworbenen Vitamin B_{12} Mangel können auch genetische Defekte zu Mangelerscheinungen führen. In diesen Fällen führen Mutationen zu einer gestörten Synthese der Koenzyme MeCbl und AdoCbl und folglich einer fehlerhaften Funktion der Cobalamin-abhängigen Enzyme MMCM und MetH. Dies führt zu einer Anreicherung an MM und HCys und einem Mangel an Methionin (Met) und SAM, dem wichtigsten biologischen Methylierungsreagenz. Die Folgen sind eine lebensbedrohliche Azidose sowie schwerwiegende hämatologische, dermatologische, kardiovaskuläre und neurologische Probleme. Zurzeit sind zehn Klassen an angeborenen Fehlern des Vitamin B_{12} Metabolismus bekannt. Über den ersten Fall wurde in den späten 1960er Jahren berichtet, wobei der Patient gängige Konzentrationen von Vitamin B_{12} im Blut, jedoch erhöhte Werte an MM im Serum und Urin aufwies. Die Krankheit konnte erfolgreich mit der Verabreichung von Cobalaminen behandelt werden **(Watkins & Rosenblatt, 2017)**.

Die Bestimmung des Blutspiegels an Vitamin B_{12} ist schwierig und oft fehlerhaft. Als gängige Biomarker haben sich HoloTC, ein Vitamin B_{12} Transportprotein, sowie MM und HCys ausgewiesen. Der Normalbereich des Biomarkers liegt zwischen 300 und 900 Mikrogramm pro Liter und ein Mangel tritt erst bei Konzentrationen unterhalb von 150 Mikrogramm pro Liter auf. Leider können verschiedenste Erkrankungen der Leber und des Blutes zu sowohl falsch positiven als auch falsch negativen Werten führen, was die Diagnostik erheblich erschwert **(Biesalski, 2019)**. Aus diesen Gründen wird weiterhin an der Entwicklung von zuverlässigeren Vitamin B_{12} Tests geforscht. → **Tabelle 1**

Tabelle 1

Bedeutung von Vitamin B_{12} für den Stoffwechsel.

	Grundlegende Funktionen	Beteiligte Prozesse	Symptome bei Mangelerscheinungen
1	DNA-Synthese	Zellteilung Blutbildung	Leistungsschwäche, Immunschwäche
2	Energiestoffwechsel	Synthese von wichtigen Metaboliten	Müdigkeit, chronische Erschöpfung, Antriebsschwäche, Konzentrationsschwierigkeiten
3	Lipidsynthese	Synthese von Biomembranen Synthese von Myelinscheiden	Gedächtnisstörungen, Taubheit, Kribbeln
4	Synthese von Botenstoffen und Hormonen	Meist über Synthese des Methylierungsreagenz SAMs	Psychische Störungen, Depressionen, Psychosen
5	Entgiftung	Zyanid Stickstoffmonoxid	Kopfschmerzen, Krämpfe, Tod

Neben Veränderungen des Blutbildes und des Rückenmarkes führt ein schwerer Mangel an Vitamin B_{12} bei Patienten mit perniziöser Anämie auch zu einer chronischen und progressiven Veränderung des zentralen und peripheren Nervensystems wie zum Beispiel der «weissen Substanz» der Nervenfasern **(McCaddon & Miller, 2017)**. Die daraus resultierenden Veränderungen des Tast-, Geschmack- und Geruchssinns wurden bereits 1848 von Thomas Addison beobachtet. Heute ist bekannt, dass als weitere Symptome der perniziösen Anämie Einschränkungen der kognitiven Fähigkeiten, Gedächtnisschwund, Konzentrationsschwierigkeiten und Depression auftreten können. Neben diesen klassischen neurologischen Auswirkungen eines starken Vitamin B_{12} Mangels sind subtilere Formen erst in den 1980er Jahren stärker in den Fokus der medizinischen Forschung gelangt **(Carmel, 1990)**. Verschiedene Studien zeigten, dass mit steigendem Alter die Konzentration an Vitamin B_{12} im Serum abnimmt **(Yao et al., 1992; Baik & Russell, 1999)**. Dieser subklinische Mangel an Vitamin B_{12} hängt mit der verminderten Aufnahme des Vitamins von der Nahrung und möglicherweise auch mit einem gesteigerten Bedarf von Kofaktoren zusammen. Als direkte Konsequenz werden ungewöhnlich hohe Konzentrationen der Metaboliten HCys und MM beobachtet. Die Edukte der beiden Cobalamin-abhängigen Enzyme MMCM und MetH, lassen auf eine unzureichende Enzymaktivität schließen, da die Substrate unverändert vorliegen. Zwischen 10 und 15 % der Bevölkerung über 60 Jahren weisen einen Vitamin B_{12} Mangel auf, ohne die klassischen, starken Mangelerscheinungen des Blutbildes zu zeigen **(McCaddon & Miller, 2017)**. Interessanterweise wurden auch bei Patienten mit Alzheimer oder Demenz sowohl geringere Konzentrationen an Vitamin B_{12} als auch höhere Konzentrationen an HC und MM im Serum und der Gehirn-Rückenmarksflüssigkeit (Cerebrospinalflüssigkeit) festgestellt **(van Tiggelen, 1983; Cole & Prchal, 1984; Joosten et al., 1997)**. Erstaunlicherweise wurde bei ihnen auch eine erhöhte Konzentration an inaktiven Corrinoiden beobachtet **(Carmel et al., 1988)**. Diese modifizierten Vitamin B_{12} Derivate werden auf noch unbekannte Weise im Körper aus intakten Cobalaminen produziert und sind untauglich für enzymatische Umsetzungen. Ihr Vorhandensein könnte möglicherweise im Zusammenhang mit den beobachteten erhöhten Konzentrationen an HCys und MM stehen und ein Marker der neurologischen Schädigungen oder gar für diese mitverantwortlich sein. Die Aufklärung dieser Zusammenhänge ist kompliziert, da momentan die Rolle von intaktem Vitamin B_{12} für das gesunde Nervensystem

sowie bei der Ausbildung von neurodegenerativen Veränderungen noch nicht vollständig verstanden ist **(Mutti, 2017)**. In der aktuellen Forschung wird vermutet, dass fehlerhafte enzymatische Funktionen der B_{12}-abhängigen Enzyme MMCM und MetH aufgrund eines Vitamin B_{12} Mangels zu einem gestörten Aufbau von Myelin, einer Biomembran der Nervenzellen, führt. Des weiteren wurde ein Zusammenhang zwischen den Konzentrationen an Cobalaminen und der Produktion von Zytokinen und Prionproteinen beobachtet, die einerseits für das Wachstum und Differenzierung der Nervenzellen, aber auch für ihren Aufbau und Funktion mitverantwortlich sind **(Scalabrino, 2001; Scalabrino et al., 2011)**. Obwohl all diese Faktoren eine gewisse Rolle in der Krankheitsbildung zu spielen scheinen, erscheint keiner dieser Prozesse allein für die beobachteten neurodegenerativen Veränderungen verantwortlich zu sein und komplexe Beziehungen werden vermutet. Weitere Forschungsanstrengungen für eine baldige Aufklärung dieser Zusammenhänge ist daher von grosser Bedeutung.

Niedrige Vitamin B_{12} Konzentrationen und hohe HCys Werte wurden auch bei Patienten mit der Parkinson Krankheit (PK) beobachtet **(Schaffner et al., 2019; Kuhn et al., 1998)**. Nach Alzheimer ist PK, die zweithäufigste neurodegenerative Erkrankung. Schätzungen zufolge leidet ungefähr 1% der Weltbevölkerung unter dieser nicht heilbaren Krankheit. Sie geht mit einem Verlust der Fähigkeit der Neuronen zur Synthese des Neurotransmitters Dopamin einher und PK kann mit dem Dopamin Vorläufer Levodopa (L-Dopa) behandelt werden. Dessen Stoffwechsel führt jedoch auch zu einer Erhöhung der HCys Konzentrationen, die ab einem Schwellenwert von 10 Nanomol pro Liter im Plasma zytotoxisch wirken und zu kardiovaskulären, kognitiven und neurologischen Problemen führen **(Lamberti et al., 2005; Haynes, 2002)**. Kommt noch ein Mangel an B-Vitaminen wie Vitamin B_{12} oder Folsäure hinzu, wird dieser Effekt noch zusätzlich verstärkt, da HCys durch das Vitamin B_{12}-abhängige Enzym MetH nicht weiter zu Met umgesetzt werden kann.

Leider sind neurodegenerative Schädigungen durch die Gabe von Vitamin B_{12} nicht reversibel zu heilen, jedoch zeigte eine Ernährungsstudie mit B-Vitaminen, dass die Konzentrationen an zellschädigendem HCys reduziert werden **(Lamberti et al., 2005)**. In einer anderen Zweijahresstudie konnten Smith und Mitarbeiter eindrücklich darlegen, dass Vitamin B Supplemente den altersbedingten Abbau des Gehirns und den dadurch bedingten kognitiven

Verlust verlangsamen (Smith et al., 2010). Dieser therapeutische Effekt wurde insbesondere bei Studienteilnehmern mit Vitamin B_{12} Mangelerscheinungen beobachtet, was den positiven Einfluss von Cobalaminen auf die Gesundheit des Gehirns und das Nervensystems deutlich macht.

Letztes Jahr wurde ein neuer Durchbruch in der Parkinson und Vitamin B_{12} Forschung erzielt. Schaffner und Kollegen identifizierten aus einer Bibliothek von über 2000 Verbindungen den Kofaktor AdoCbl als Inhibitor des *Leucine-Rich Repeat Kinase* 2 (LRKK2) Proteins (Schaffner et al., 2019). Es ist seit längerem bekannt, dass eine Mutation dieses Proteins zu einer Hyperaktivität des Enzyms führt, das für eine Phosphorylierungsreaktion unter Benutzung von Adenosintriphosphate (ATP) verantwortlich ist. Die erhöhte Aktivität wirkt neurotoxisch und hat daher bereits zur Entwicklung einer Vielzahl von Wirkstoffkandidaten geführt. AdoCbl sticht aus diesen Verbindungen heraus, da es interessanterweise auf einem gänzlich neuen Wirkmechanismus beruht. Die Anbindung des Cobalamins führt zu einer konformativen Veränderung der dreidimensionalen Struktur des aktiven Zentrums von LRKK2, so dass das ATP Substrat nicht mehr gebunden und umgesetzt werden kann («allosterische Kontrolle»). Es liegt daher nahe, dass speziell modifizierte Vitamin B_{12} Derivate in der nahen Zukunft zu neuartigen Parkinson Medikamenten weiterentwickelt werden.

Die gute Nachricht zuletzt. Obwohl viele ältere Menschen unzureichend Vitamin B_{12} aus der Nahrung aufnehmen, verläuft die Absorption von kristallinem Vitamin B_{12} hingegen problemlos. Bei Verdacht eines Mangels sollte daher unbedingt eine medizinische Abklärung erfolgen, da die Therapie sehr einfach ist.

Vitamin B_{12} Präparate sind heutzutage in Apotheken und in manchen Ländern sogar in Supermärkten erhältlich und werden bei einem Mangel oder als Prophylaxe für Risikogruppen verordnet. Die orale Einnahme reicht meist aus, wobei in bestimmten Fällen jedoch die parenterale Verabreichung nötig ist. Der tägliche Bedarf schwankt je nach Schwere des Mangels zwischen 250 und 1000 Mikrogramm. Im Vergleich zur einstigen Lebertherapie ein wahrer Fortschritt der Naturwissenschaften und der Medizin.

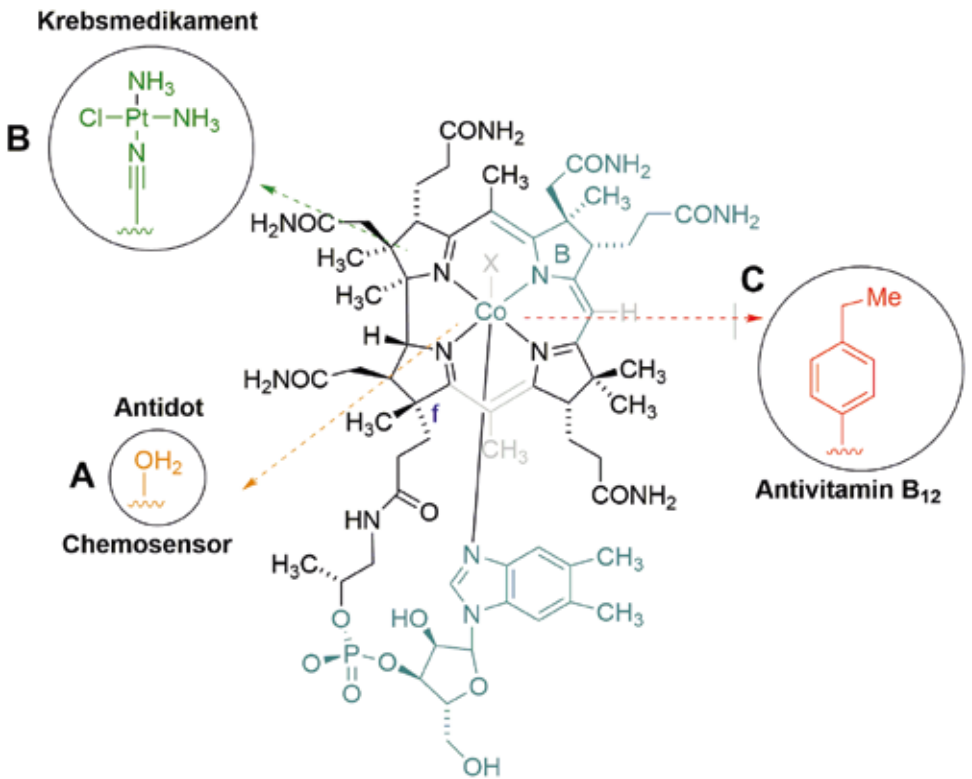
Diagnostische und therapeutische Anwendungen von B_{12}-Derivaten

Felix Zelder

Die Aufklärung der Struktur und der physiologischen Bedeutung von Vitamin B_{12} sind wichtige Meilensteine der naturwissenschaftlichen und medizinischen Forschung und wurden 1934 mit einem Nobelpreis der Medizin und Physiologie an Whipple, Minot und Murphy sowie 1964 mit einem Nobelpreis für überragende Leistungen im Fach Chemie an Dorothy Crowfoot Hodgkin ausgezeichnet **(Kräutler, 1998)**. Dieses Wissen und Verständnis inspirierte Wissenschaftler strukturell veränderte Vitamin B_{12} Derivative für gänzlich neue Anwendungen zu entwickeln. Diese Arbeiten gehen bis in die 1960er Jahre zurück und sind meist, aber nicht ausschliesslich im Bereich der medizinischen Therapie und Diagnostik aufzufinden **(Zelder et al., 2015; Kräutler, 2015; Zelder & Alberto, 2012)**. Eine Zusammenfassung dieser Arbeiten würde den Rahmen dieses Heftes sprengen und wir beschränken uns daher auf drei konkrete Beispiele → **Figur 26**. Diese spiegeln unterschiedliche Aspekte und neue Trends dieser facettenreichen Forschung wider. Neben Entwicklungen aus der aktuellen Forschung werden auch Vitamin B_{12}-Produkte vorgestellt, die ihre Tauglichkeit in der Praxis bereits erfolgreich bewiesen haben und heutzutage kommerziell erhältlich sind.

Zunächst werden Vitamin B_{12} Derivative als Gegengifte (Antidots) und Indikatoren für giftiges Zyanid beschrieben → **Figur 26A (Zelder, 2015; Männel-Croisé & Zelder, 2009; Männel-Croisé et al., 2009)**. Anschliessend wird ein neuer Ansatz zur Verwendung von Cobalaminen als Transportmoleküle von Medikamenten zur Krebstherapie vorgestellt → **Figur 26B (Ruiz-Sanchez et al., 2011; Mundwiler et al., 2005)**. Das letzte Beispiel diskutiert aktuelle Bestrebungen zur Darstellung von modifizierten Vitamin B_{12} Verbindungen als Antivitamin B_{12}, die auch in der gezielten Krebstherapie zum Einsatz kommen könnten → **Figur 26C (Zhou et al., 2012; Zhou & Zelder, 2010; Ruetz et al., 2013; Mutti et al., 2013)**.

Das negativ geladene Zyanid Ion → **Figur 27A** besteht aus einem Kohlenstoff- und einem Stickstoffatom, die über eine



Figur 26

Übersicht über Cobalamine für medizinische und diagnostische Anwendungen: Antidot gegen Zyanidvergiftungen oder als Chemosensor für Zyanid (A). Krebsmedikament (B) und Antivitamin B_{12} (C).

Bild: F. Zelder

Dreifachbindung miteinander verbunden sind. Nimmt dieses Ion ein Proton (positiv geladenes Wasserstoffatom) auf, entsteht Blausäure, die konjugierte Säure des basischen Zyanids. Der zweifelhafte Ruf der Blausäure und des Zyankalis (Kaliumsalz des Zyanid-Ions) ist vielen Lesern wahrscheinlich aus Kriminalgeschichten von Agatha Christie, Donna Leon und anderen bekannten Autoren bestens bekannt. Am Anfang des Krimis «Venezianisches Finale» begutachtet Commissario Brunetti den ermordeten Operndirigenten Helmut Wellauer in der Garderobe des Teatro La Fenice in Venedig. Er bemerkt sofort den auffallend charakteristischen Geruch nach Bittermandel und schliesst auf Zyankali als Todesursache. Tatsächlich können ungefähr 28% der Menschen geringste Spuren von Blausäure über den Geruch identifizieren.

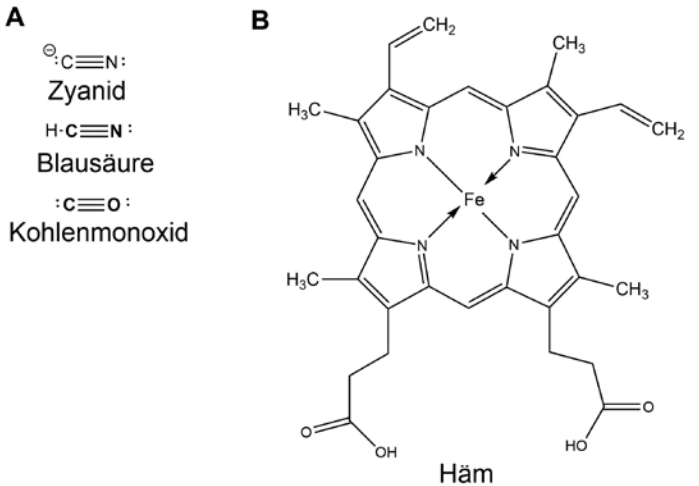
Die Giftigkeit des Zyanid-Ions beruht auf seiner Fähigkeit, sehr fest und schnell an biologisch essenzielle Metalle wie Eisen, Kupfer und Zink zu binden. Der ausgewachsene Körper eines Menschen enthält zwischen 4 und 5 Gramm Eisen, 2 Gramm Zink und 100 Milligramm Kupfer für wichtige enzymatische

Funktionen. Zu den wichtigsten Aufgaben dieser Elemente gehört der Transport und die Umwandlung von Disauerstoff, wofür Hämoglobin mit seinen vier eisenhaltigen Häm Kofaktoren benötigt wird. Binden diese Kofaktoren Zyanid anstelle Disauerstoff, kann letzteres im Stoffwechsel nicht mehr gebunden, transportiert und von den Zellen verarbeitet werden. Insbesondere die feste Bindung des Zyanids an Häm → **Figur 27** bewirkt eine fundamentale Störung der Sauerstoffumwandlung. Als direkte Folge tritt sowohl eine Übersäuerung als auch eine Unterversorgung der Zellen mit Energie in Form von Adenosintriphosphat auf. Der Stoffwechsel kann zwar temporär noch eine kurze Weile ohne Sauerstoff (anaerob) weiterlaufen, jedoch treten rasch Symptome wie Kopfschmerzen, Schwindel und Ohnmacht auf, die letztendlich zu Krämpfen und Tod durch innere Erstickung führen. Obwohl der Körper zwar noch genug Sauerstoff aufnimmt, kann er diesen nicht mehr für seinen Stoffwechsel nutzen. Dieser Wirkungsmechanismus des Zellgiftes unterscheidet sich grundsätzlich von einer Vergiftung durch Kohlenmonoxid (CO; → **Figur 27A**), bei der bereits die Sauerstoffaufnahme im Blut blockiert wird.

Vitamin B_{12} zur Detektion und Behandlung von Zyanid Vergiftungen

Das natürliche Eisenporphyrin Häm, der Hauptangriffspunkt des Zyanid Giftes, und Vitamin B_{12} sind strukturell recht ähnlich, worauf sich wahrscheinlich die hervorragende Fähigkeit von Cobalaminen zur Bindung, Detektion und Neutralisation von Zyanid erklären lässt.

Beide Moleküle besitzen ein zentrales Metallion, das in ein Porphyrinoidgerüst eingebettet ist **(Vergleich → Figur 1 und Figur 27)**. Dieser Ligand bindet in einer Ebene (äquatorial) über vier Stickstoffatome an das Zentralmetall. Ober- und unterhalb dieser Ebene ist noch Platz für die Bindung je eines weiteren Bindungspartners, z. B. für das Zyanid-Ion. Im Fall des Häms handelt es sich um die Kombination von Eisen (Fe) mit dem Porphyrinliganden, wohingegen beim Vitamin B_{12} der Corrinligand an das Metallion Kobalt (Co) koordiniert. Eisen und Kobalt sind direkte Nachbarn im Periodensystem und weisen daher trotz Unterschieden auch Gemeinsamkeiten in den Eigenschaften auf, beispielweise die hohe Affinität zum Zyanid. Die Ähnlichkeit der beiden Porphyringerüste mag auf den ersten Blick schwerer zu erkennen sein, lässt sich jedoch durch Vergleich der elementaren Grundköper der Ligandgerüste erahnen → **Figur 1**, → **Figur 27.**



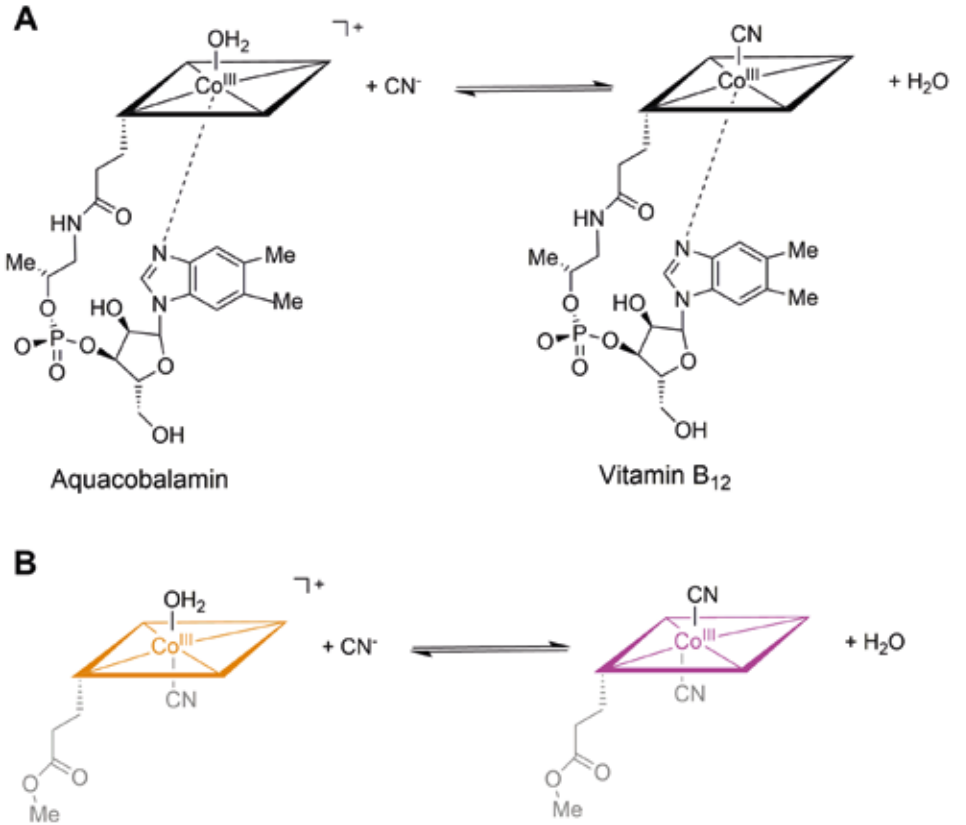
Figur 27

Strukturen von Zyanid, Blausäure und Kohlenmonoxid (A) sowie Häm (B).

Bild: F. Zelder

Die Affinität zwischen Zyanid und dem zentralen Kobaltion der Cobalamine → **Figur 26** fiel Wissenschaftlern bereits während Forschungen zur Isolierung und Charakterisierung dieses Naturstoffes auf **(Zelder, 2015)**. Tatsächlich hatte das erstmals durch die britische Wissenschaftlerin und Nobelpreisträgerin Dorothy Hodgkin (1910—1994; Nobelpreis in Chemie 1960) vollständig strukturell charakterisierte Vitamin B_{12} diesen speziellen kleinen Liganden oberhalb des Corrinliganden an das Cobaltion gebunden. Daher wird Vitamin B_{12} auch Cyanocobalamin genannt. Wie bereits erwähnt, wurde Zyanid den Reaktionsmischungen der bakteriellen Vitamin B_{12} Produktion zur Vereinfachung der Isolierung hinzugefügt. Da das Cyanocobalamin selbst keinerlei biologische Wirkung besitzt, wird dieses Provitamin erst im Körper zu den eigentlich aktiven Kofaktoren MeCbl und AdoCbl umgewandelt. Die Konzentrationen des freigesetzten Zyanids sind dabei so gering, dass der Körper damit problemlos fertig wird.

Trägt das Cobalamin anstelle des axial gebunden Zyanid-Ions jedoch ein Wassermolekül, spricht man von Aquacobalamin (AquaCbl; → **Figur 28A**). Dieses Molekül hat aufgrund seiner ausserordentlich hohen Affinität für Zyanid ideale Grundvoraussetzungen, um das Gift zu binden und in seiner Wirkung zu neutralisieren. Bei diesem Prozess wird das Zyanid mit dem Kobalt-gebundenen Wassermolekül ausgetauscht (chemisch: substituiert) → **Figur 28A**. Da das gebundene Zyanid nur eine geringe Tendenz hat, sich wieder vom Metall zu lösen, steht es für unerwünschte Reaktionen, wie zum Beispiel der Bindung an Häm, nicht mehr zur Verfügung.



Figur 28

Schematische Darstellung der Bindung von Zyanid an AquaCbl zum Vitamin B_{12} während des Detoxifizierungsprozesses (A). Farbänderung von Corrin-basierten Chemosensoren von orange nach violett während des Zyanidnachweises (B).

Bild: F. Zelder

Dieses enorme Potenzial zur Verwendung von AquaCbl als Gegengift bei Zyanidvergiftungen erkannten Mushett und Mitarbeiter bereits 1952 in Versuchen mit Mäusen (Mushett et al., 1952). Die vielversprechenden Ergebnisse dieser Pionierarbeit wurden in vielen anschliessenden toxikologischen Studien bestätigt und heutzutage wird AquaCbl unter dem Handelsnamen CyanoKit® in der Notfallmedizin als eines der effektivsten Antidots bei Zyanidvergiftungen verabreicht (Fortin et al., 2006). Das Produkt der Detoxifizierung ist ungefährliches Vitamin B_{12}, das entweder als Provitamin verwendet, gespeichert oder vom Körper ausgeschieden wird. Nachteilig sind die intravenöse Verabreichung recht hoher Mengen des Gegengiftes (1 Dosis entspricht 5 Gramm) und eine zeitweilige Rotverfärbung des Gewebes, das die Auswertung anderer diagnostischer Test stören kann.

Zyanidvergiftungen stellen aufgrund des weitverbreiteten Gerbrauchs von Zyanid in unterschiedlichen industriellen Prozessen wie der Goldgewinnung, Galvanik und Synthese von

Kunststoffen eine potenzielle Gefahrenquelle für Mensch und Umwelt dar. Im Jahr 2000 führte ein Dammbruch eines Abwasserbeckens einer Goldmine in der Region um Baia Mare in Nordrumänien zu einer Verunreinigung des Grundwassers, regionaler Flüsse und Bäche sowie der Theiss und Donau mit giftigen Zyanid- und Schwermetallabwässern **(Koenig, 2000)**. Die grossflächige Verschmutzung des Donaudeltas in Rumänien und Ungarn führte zu einem beispiellosen Fischsterben und wird als eine der grössten Umweltkatastrophen Europas seit dem Reaktorunfall von 1986 in Tchernobyl angesehen. Zyanide sind jedoch nicht nur wichtige Grundchemikalien, sondern kommen auch als natürliche Bestandteile in Enzymen und Pflanzen wie beispielsweise Mandeln, Kirschkernen und Maniok *(Manihot esculenta)* vor. Letztere Knolle ist Grundnahrungsmittel für mehr als eine halben Milliarde Menschen in Afrika und Südamerika, da es sich auch in nährstoffarmen Böden leicht anbauen lässt **(Männel-Croisé et al., 2009)**. Das Zyanid ist zunächst nicht frei, sondern in ein Zuckermolekül namens Linamarin integriert. Die Freisetzung des Giftstoffes erfolgt erst nach Beschädigung der Zelle durch das dadurch freigesetzte, zelleigene Enzym Linamarase → **Figur 29**.

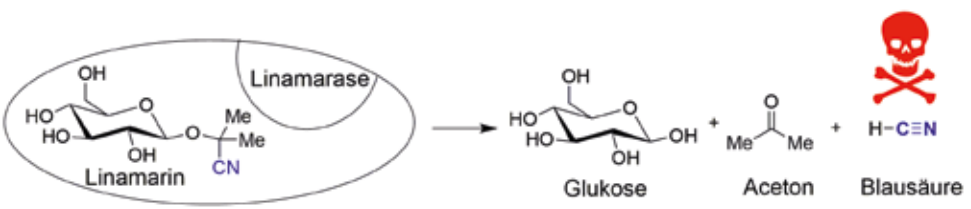
Es wird vermutet, dass dieser Mechanismus einen natürlichen Schutz vor Fressfeinden wie Insekten oder Affen darstellt. Vor dem menschlichen Verzehr von Maniokprodukten muss die Knolle daher fachgerecht aufgearbeitet und das gesamte Zyanid entfernt werden. Leider kommt es dabei immer wieder zu Problemen, was zu chronischen Zyanid Vergiftungen führen kann. Bei Kindern wird als Folge eine Verkrüppelung der Beine beobachtet, die mit dem Namen *Konzo* bezeichnet wird **(Nhassico et al., 2008; Padmaja, 1995)**.

In der westlichen Welt stellen hingegen Rauchgasvergiftungen bei Bränden die grösste Gefahrenquelle für eine Zyanid Vergiftung dar. Ungefähr 80% aller Opfer von Bränden sterben nicht direkt an den Folgen der Brandverletzungen, sondern aufgrund von Rauchgasvergiftungen **(Terrill et al., 1978)**. Bei Bränden entstehen Tausende teils hochtoxische Gase, wobei

Figur 29

Freisetzung von giftiger Blausäure (HCN) aus Linamarin durch das Enzym Linamarase. Als weitere Produkte entstehen Aceton und Glucose. Die Zyanidgruppe ist blau dargestellt.

Bild: F. Zelder



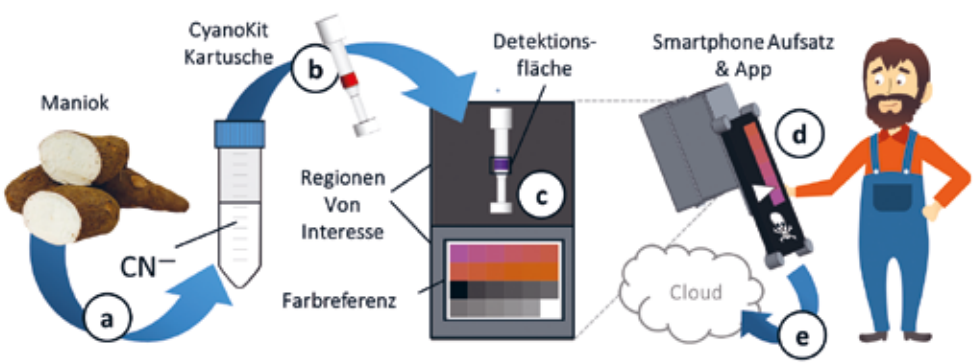
Kohlenmonoxid und Blausäure → **Figur 27A** die giftigsten Vertreter darstellen. Während Kohlenmonoxid Vergiftung von Notfallärzten routinemässig über die Pulsoxometrie ermittelt werden, fehlt bislang noch ein Schnelltest für den Nachweis von Zyaniden im Blut **(Eckstein, 2004; Lindsay et al., 2004)**.

Bei Verdacht auf eine Zyanid Vergiftung ist die rasche Gabe eines Zyanid-Antidots durch den Notfallarzt am Unfallort von lebensrettender Bedeutung für den Patienten. Um eine solche Behandlung zu ermöglichen, wäre eine schnelle ambulante Diagnostik wünschenswert **(Männel-Croisé & Zelder, 2012)**. Obwohl bislang ein solcher Test noch fehlt, bilden Arbeiten der Gruppe Zelder an der Universität Zürich einen wichtigen Ansatz zur Lösung dieses langjährigen Problems. Die Zürcher Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass AquaCbl nicht nur ein hervorragendes Antidot darstellt, sondern dass sich leicht veränderte Derivate auch vorzüglich zum schnellen Nachweis des Giftes in Wasser, Nahrungsmitteln und Blut eignen **(Männel-Croisé & Zelder, 2009, 2012, 2012; Männel-Croisé et al., 2009)**. Der Nachweis beruht auf einer Farbveränderung des Kobaltkomplexes von orange nach violett während der Bindung des Zyanids an den Kobaltkomplex → **Figur 28B**. Kürzlich konnte in Zusammenarbeit der Gruppen Karlen (ETH Zürich) und Zelder eindrücklich gezeigt werden, dass eine Quantifizierung von Zyaniden in Nahrungsmitteln wie Maniok oder bitteren Mandeln mit diesem Test auch unter Verwendung einer Smartphone Analytik möglich ist **(Cherbuin et al., 2018)**. Dabei dient der Fotoapparat des Smartphones als Spektrometer, der den Farbumschlag des Tests fotografiert und den Zyanidgehalt durch eine App quantifiziert → **Figur 30; Details s. Legende der Abbildung.**

Figur 30

Nachweis von Zyanid in Maniok mittels festphasengebundenen B_{12}-basierten Indikatoren (CyanoKit) und einem Smartphone: Eine flüssige Probe des Manioks (a) wird durch die CyanoKit Kartusche gegeben (b). Die Kartusche wird anschliessend in einen Smartphone Aufsatz (c, oben) fixiert und die Detektionsfläche wird fotografiert (d). Die App verrichtet automatische eine Farbkorrektur mit der Farbreferenz (c, unten) und zeigt auf dem Bildschirm des Smartphone die Konzentration von Zyanid an (d). Die Daten können bei Wunsch in einer Cloud gesammelt werden (e).

Leicht modifiziert nach grosszügiger Zurverfügungstellung: W. Karlen.



Entwicklung von Medikamenten zur Krebstherapie

In einem anderen aktuellen Gebiet der Vitamin B_{12} Forschung geht es um die Entwicklung von neuen Medikamenten zur gezielten Krebstherapie **(Zelder, 2015)**. Idealerweise sollen die zukünftigen Wirkstoffe einen höheren Wirkungsgrad und geringere Nebenwirkungen aufweisen als aktuelle Therapien. Um dieses Ziel zu erreichen, verfolgen Wissenschaftler unterschiedliche Ansätze. Ein beliebtes Konzept sieht vor, das Medikament an ein Transportmolekül wie beispielsweise Vitamin B_{12} zu koppeln, das bevorzugt von Krebszellen aufgenommen wird. Die Idee hinter dem Konzept ist die Folgende. Krebsmedikamente haben oft den Nachteil, dass sie nicht nur Krebszellen, sondern auch gesunde Zellen angreifen. Dieses Verhalten führt zu erheblichen Nebenwirkungen. Würde es jedoch gelingen, das Medikament an den gesunden Zellen vorbei gezielt in Krebszellen zu schleusen, würden nur kranke Zellen adressiert und zerstört. Die gesunden Zellen blieben intakt. Die resultierende Selektivität würde zu einer enormen Effizienzsteigerung des Medikamentes und zur Erhöhung der Lebensqualität der Patienten führen. Die Ursache für die bevorzugte Aufnahme des Transporters in Krebszellen könnte beispielsweise die Tatsache sein, dass ein bestimmter Rezeptor ausschliesslich oder in sehr viel grösseren Mengen auf der Oberfläche von Krebszellen im Vergleich zu gesunden Zellen vorkommt. Der Rezeptor verhält sich wie das Einfallstor in die Zelle und der Transporter wie der richtige Schlüssel. Nur wenn beide passen, kann das an den Transporter gebundene Medikament in die Krebszelle gelangen. Ein solches «Trojanisches Pferd» als Transportmolekül für Medikamente ist Vitamin B_{12}. Für dieses Vitamin ist seit langem bekannt, dass schnell wachsende Krebszellen einen besonders hohen Bedarf an diesem Naturstoff besitzen und bestimmte Rezeptoren, die die Aufnahme des Vitamins in die Zelle kontrollieren, in grossen Mengen an der Oberfläche von Krebszellen vorkommen **(Petrus et al., 2009; Banerjee et al., 2009)**.

Um ein Medikament mittels Vitamin B_{12} in Krebszellen zu schleusen, darf die Zellaufnahme jedoch nicht durch das angebrachte Medikament gestört werden. Kenntnisse über den Mechanismus der Aufnahme sind daher von grossem Interesse **(Petrus et al., 2009)**. Vitamin B_{12} wird durch einen ausgeklügelten Aufnahmemechanismus über Nahrung, Magen, Darm und Blut in die Zellen geschleust. Insgesamt sind an diesem Prozess drei weitere Proteine und verschiedene Rezeptoren involviert.

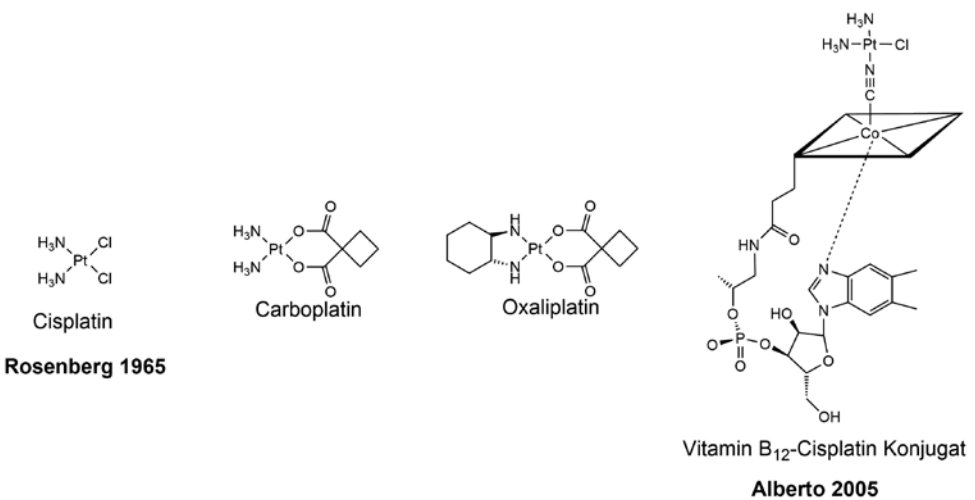
Vielzählige Forschungsarbeiten haben eindrucksvoll gezeigt, dass Vitamin B_{12} nur an ganz bestimmten Stellen mit einem Medikament chemisch verändert werden darf, um ungestört in die Zelle zu gelangen. Ein besonders schönes Beispiel für diesen Ansatz kommt wiederum aus Zürich. Die Arbeitsgruppe um Roger Alberto berichtete vor einiger Zeit über die Möglichkeit, Metallkomplexe direkt an die Cyanogruppe von Vitamin B_{12} zu koppeln **(Mundwiler et al., 2005; Zelder & Alberto, 2012)**. Dieses neue Verfahren nutzte die Gruppe aus, um das Krebsmedikament *cis*-Diammindichloridoplatin (Cisplatin) mit dem Vitamin chemisch zu verbinden → **Figur 31**. Cisplatin und verwandte Komplexe wie Carboplatin und Oxaliplatin sind typische anorganische Metallkomplexe und bestehen aus dem Übergangsmetall Platin, zwei Aminliganden und zwei weiteren anionischen Liganden (z. B. Chloride oder Carboxylate). Die Geometrie dieser Komplexe ist quadratisch, wobei die vier Liganden an das zentrale Platin binden und dieses umspannen. Dabei sind die beiden Amine nebeneinander angeordnet (*cis*-Stellung).

Cisplatin und seine Derivate zählen zu den meistverkauften Medikamenten zur Behandlung von Hoden-, Prostata, Eierstock- und Gebärmutterhalskarzinomen. Interessanterweise wurde das therapeutische Potenzial dieser Substanzklasse vom amerikanischen Biophysiker Barnett Rosenberg (1926—2009) rein zufällig entdeckt und in der Fachzeitschrift Nature publiziert **(Rosenberg et al., 1969)**. Bei Untersuchungen zum Einfluss von Wechselstrom auf das Wachstumsverhalten von *Escherichia coli (E. Coli)* beobachte er die Bildung von dünnen, fadenförmigen Bakterienzellen. Anscheinend konnten die Bakterien zwar wachsen, hatten dabei aber die Fähigkeit zur Zellteilung verloren. Dieser zytostatische Effekt hatte in keiner Weise etwas mit dem angelegten Strom zu tun, sondern wurde durch die Bildung von geringsten Spuren von Cisplatin ausgelöst. Der Komplex hatten sich durch Oxidation der Platinelektroden mit Sauerstoff aus der Luft und anschliessender Reaktion mit Ammoniak und Chloridionen zum Cisplatinkomplex verbunden. Die beiden Liganden waren in ausreichenden Mengen im Reaktionspuffer der Elektrolyselösung vorhanden. Ausgehend von dieser epochalen Beobachtung wurde Cisplatin 1978 zum Medikament zugelassen und später zu Oxaliplatin oder Carboplatin mit verbesserten Eigenschaften weiterentwickelt. Der Wirkungsmechanismus dieser interessanten Substanzklasse soll kurz erläutert werden. Nachdem das ungeladene Cisplatin in die Zellen diffundiert, verliert es nacheinander seine beiden

Chloridoliganden. Das resultierende, positiv geladene Platinkomplex-Fragment diffundiert nun zur negativ geladenen Desoxyribonukleinsäure (DNA) und bindet irreversibel an die Stickstoffdonatoren der Nukleobasen Adenosin und Guanosin. Dabei verknüpft es zwei Basen innerhalb eines Einzelstranges oder intermolekular in einem Doppelstrang. Die resultierenden verzerrten Strukturen, können von Enzymen nicht mehr richtig abgelesen oder repariert werden. Das Ablesen der genetischen Information (Transkription) sowie die Zellteilung (Replikation) ist damit unterbunden → **Figur 32 rechts**. Obwohl der resultierende Effekt die therapeutische Grundlage für die Krebstherapie darstellt, ist es ersichtlich, dass Cisplatin für gesunde Zellen reines Gift ist. In der Tat binden platinhaltige Medikamente nicht nur an die Ziel-DNA der Krebszellen, sondern auch an DNA gesunder Zellen oder auch gerne an schwefelhaltige Proteine. Die Folgen sind Schwindel, Nierenschäden und Probleme im Magen-Darm-Trakt.

Das in Zürich entwickelte Vitamin B_{12}-Platinmedikament sollte aufgrund der bevorzugten Aufnahme in Krebszellen zu einer erhöhten Selektivität und damit geringeren Nebeneffekten führen. In ersten Versuchen konnte bereits gezeigt werden, dass das neue Vitamin B_{12}-Platinkonjugat → **Figur 31 rechts** tatsächlich zytostatische Wirkung gegenüber gewissen Krebszellen besitzt.

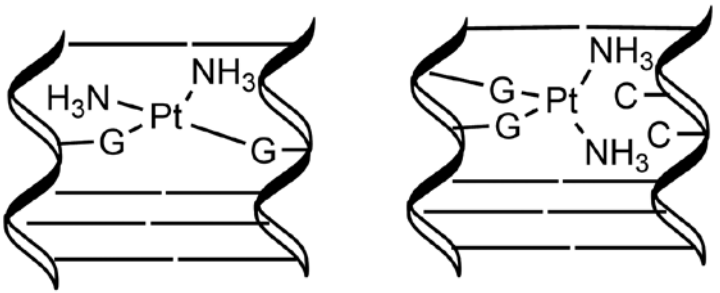
Die beobachtete Wirkung des Konjugates war gegenüber dem nicht-veränderten Cisplatin jedoch leicht reduziert. Dieser Nachteil würde bei einer erhöhten Selektivität und geringeren Nebenwirkungen jedoch locker wettgemacht. Weitere Untersuchungen müssen nun zeigen, ob Krebszellen in Gegenwart



Figur 31

Strukturformeln von Cisplatin, Carboplatin, Oxaliplatin und einem Vitamin B_{12}-Cisplatin Konjugat.

Bild: F. Zelder



Figur 32

Schematische Darstellung der Vernetzung von Oligonukleotidsträngen in DNA mittels Cisplatin.

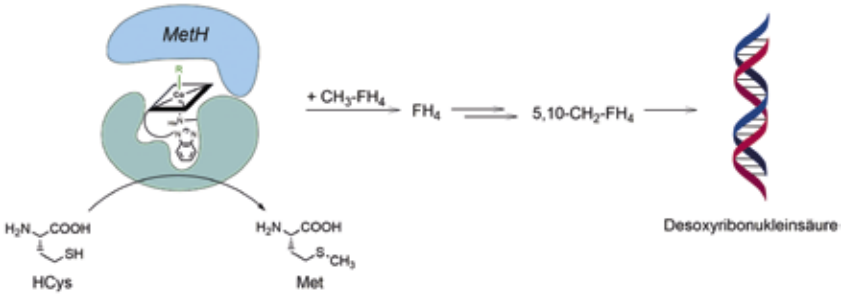
Bild: F. Zelder

gesunder Zellen gezielt angegriffen werden und das Konjugat tatsächlich einen therapeutischen Mehrwert besitzt. Nur in diesem Fall wäre die neue Verbindung ein aussichtsreicher Wirkstoffkandidat und es wäre die Aufgabe der Pharmaindustrie oder eines Start-ups, das Vitamin B_{12}-Platin-Konjugat mit viel Energie, Zeit und Geld zu einem reifen Medikament mit geringeren Nebenwirkungen weiterzuentwickeln.

Forschung für Krebsmedikamente in Zürich

Anstelle Vitamin B_{12} als Transporter für Krebsmedikamente zu nutzen, können chemisch veränderte Cobalaminverbindungen auch selbst potenzielle Krebsmedikamente darstellen. Dieser Ansatz, der unter anderem auch von den beiden Autoren dieses Neujahrsblattes in den letzten Jahren erforscht wurde, soll nun abschliessend erläutert werden. Wie bereits erwähnt, besitzen Krebszellen einen erhöhten Bedarf an Vitamin B_{12} für ihr schnelles Wachstum.

Wie in → **Figur 33** ersichtlich, ist insbesondere die MeCbl abhängige MetH über den Folatstoffwechsel (CH_3-FH_4 und FH_4 in → **Figur 33**) für die Synthese von Thymidin, einem DNA-Baustein, verantwortlich. Gelingt es, die Bindungsstelle der MetH für den Kofaktor mit einem chemisch modifizierten, aber funktionsuntüchtigen Vitamin B_{12} Derivat zu blockieren, so ist neben der Synthese von Met aus HCys auch die Herstellung von Thymidin unterbunden. Dies führt zu Störungen in der Verdoppelung der genetischen Information und die Zellen können sich nicht mehr teilen. Die Arbeitsgruppe Zelder konnte Vitamin B_{12} Derivate herstellen, in denen die *f*-Seitenkette durch einen peptischen Linker ausgetauscht wurden **(Zhou & Zelder, 2010)**. Untersuchungen mit Bakterien zeigten, dass die Derivate von den Zellen aufgenommen und zu den entsprechenden Kofaktoren umgewandelt werden, diese jedoch ihre Funktionstüchtigkeit weitgehend verloren haben. Nur geringe Konzentrationen (2 Mikromol pro Liter) dieser



Figur 33

Kopplung der MeCbl-abhängigen MetH mit der Synthese der Desoxyribonukleinsäure über den Folat-Stoffwechsel (CH_3-FH_4 und FH_4).

Bild: F. Zelder

Verbindung waren nötig, um das Wachstum der Bakterien auf die Hälfte zu reduzieren (Zhou et al., 2012).

Die Arbeitsgruppe Kräutler schlug vor, dass der Austausch der Cyanogruppe in Vitamin B_{12} mit einem 4-Ethylphenylliganden → Figur 26C zu Antivitamin B_{12} führen könnte, die in der Zelle nicht mehr enzymatisch zu den Kofaktoren MeCbl und AdoCbl umgewandelt werden können (Ruetz et al., 2013). In der Tat konnten die Forscher erfolgreich zeigen, dass sich diese Verbindungen als Antivitamin B_{12} verhalten, da sie einerseits noch von menschlichen Vitamin B_{12} Transportproteinen gebunden werden, aber in Mäusen einen Vitamin B_{12} Mangel auslösen (Mutti et al., 2013). Letzterer wurde durch erhöhte Konzentrationen von MM und HCys im Plasma, den beiden Edukten der Cbl-abhängigen Enzyme, angezeigt. Arbeiten mit einem verwandten Antivitamin B_{12} Derivat und einem Protein, das an der Umwandlung von B_{12} zu den organometallischen Kofaktoren MeCbl und AdoCbl beteiligt ist, belegten die Hypothese der Autoren, dass das Antivitamin B_{12} im Stoffwechsel nicht mehr zu einem funktionstüchtigen Kofaktor metabolisiert werden kann (Ruetz et al., 2017). Zukünftige Studien mit diesen Antivitaminen B_{12} müssen jedoch noch zeigen, ob die Verbindungen eine zytotoxische Wirkung in Krebszellen hervorrufen. Bislang ist noch kein Krebsmedikament auf Basis von Vitamin B_{12} zugelassen. Hoffnung geben jedoch die neuen Entwicklungen, sowie die Tatsache, dass der Einsatz von chemisch modifizierten Vitamin B_9 Derivaten, wie das Methotrexat, schon seit Jahrzehnten erfolgreich in der Krebstherapie eingesetzt werden (Jukes, 1987). Auch wenn der Ausgang dieser Forschungen noch ungewiss ist, wurde auf dem bisherigen Weg schon viel gelernt und neues Grundlagenwissen geschaffen. Die Erforschung des Vitamin B_{12} bleibt somit auch 180 Jahre nach dem Bericht von James Combe über Alexander Haynes ein aktuelles und spannendes Gebiet der modernen Chemie.

Referenzen zu Bernhard Kräutler:

Vitamin B_{12} ein komplexer Naturstoff

B_{12}-Kofaktoren als biologisch wichtige Kobaltkomplexe

Auer, L., C. Weymuth, and R. Scheffold. 1993. Vitamin-B_{12}-Catalyzed C,C-Bond Formation — Synthesis of a California Red Scale Pheromone. *Helv. Chim. Acta.* 76:810—818.

Banerjee, R. 2003. Radical Carbon Skeleton Rearrangements: Catalysis by Coenzyme B_{12}-Dependent Mutases. *Chem. Rev.* 103:2083—2094.

Banerjee, R., C. Gherasim, and D. Padovani. 2009. The Tinker, Tailor, Soldier in Intracellular B_{12} Trafficking. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 13:484—491.

Banerjee, R., and S. W. Ragsdale. 2003. The Many Faces of Vitamin B_{12}: Catalysis by Cobalamin-Dependent Enzymes. *Ann. Rev. Biochem.* 72:209—247.

Bernhauer, K., F. Wagner, and O. Müller. 1963. Neuere Chemische und Biochemische Entwicklungen auf dem Vitamin-B_{12}-Gebiet. *Angew. Chem. Int. Ed.* 75:1145.

Bommer, M., C. Kunze, J. Fesseler, T. Schubert, G. Diekert, and H. Dobbek. 2014. Structural basis for organohalide respiration. *Science.* 346:455—458.

Bonhote, P., and R. Scheffold. 1991. Asymmetric Catalysis by Vitamin-B_{12} — the Mechanism of the Cob(I)Alamin-Catalyzed Isomerization of 1,2-Epoxycyclopentane to *(R)*-Cyclopent-2-Enol. *Helv. Chim. Acta.* 74:1425—1444.

Brenig, C., L. Prieto, R. Oetterli, and F. Zelder. 2018. A Nickel(II)-Containing Vitamin B_{12} Derivative with a Cofactor-F430-type π-System. *Angew. Chem. Int. Ed.* 57:16308—16312.

Bridwell-Rabb, J., T. A. J. Grell, and C. L. Drennan. 2018. A Rich Man, Poor Man Story of S-Adenosylmethionine and Cobalamin Revisited. *Ann. Rev. Biochem.* 87:555—584.

Bryant, D. A., C. N. Hunter, and M. J. Warren. 2020. Biosynthesis of the modified tetrapyrroles — the pigments of life. *Journal of Biological Chemistry.* 295:6888—6925.

Buckel, W., and B. T. Golding. 2012. Radical Enzymes. *In* Encyclopedia of Radicals in Chemistry, Biology and Materials. S.A. Chatgilialoglu C., editor. John Wiley & Sons.

Cheng, Z., H. Yamamoto, and C. E. Bauer. 2016. Cobalamin's (Vitamin B-12) Surprising Function as a Photoreceptor. *Trends in Biochemical Sciences.* 41:647—650.

Eschenmoser, A. 1988. Vitamin-B_{12} — Experiments Concerning the Origin of Its Molecular-Structure. *Angew. Chem. Int. Ed.* 27:5—39.

Eschenmoser, A., and C. E. Wintner. 1977. Natural Product Synthesis and Vitamin-B_{12}. *Science.* 196:1410—1426.

Friedrich, W. 1975. Vitamin B_{12} und verwandte Corrinoide. *In Fermente, Hormone und Vitamine.* Vol. III/2. R. Ammon and W. Dirscherl, editors. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

Gherasim, C., M. Lofgren, and R. Banerjee. 2013. Navigating the B_{12} Road: Assimilation, Delivery, and Disorders of Cobalamin. *J. Biol. Chem.* 288:13186—13193.

Giedyk, M., K. Goliszewska, and D. Gryko. 2015. Vitamin B_{12} catalysed reactions. *Chem. Soc. Rev.* 44:3391—3404.

Glod, G., U. Brodmann, W. Angst, C. Holliger, and R. P. Schwarzenbach. 1997. Cobalamin-mediated reduction of cis- and trans-dichloroethene, 1,1-dichloroethene, and vinyl chloride in homogeneous aqueous solution: Reaction kinetics and mechanistic considerations. *Environ. Sci. Technol.* 31:3154—3160.

Green, R., L. H. Allen, A. L. Bjorke-Monsen, A. Brito, J. L. Gueant, J.W. Miller, A. M. Molloy, E. Nexo, S. Stabler, B. H. Toh, P. M. Ueland, and C. Yajnik. 2017. Vitamin B-12 deficiency. *Nature Reviews Disease Primers* 3, 17040.

Halpern, J. 1985. Mechanisms of coenzyme B_{12}-dependent rearrangements. *Science.* 227:869—875.

Hodgkin, D. C. 1965. X-ray Analysis of Complicated Molecules. *Science.* 150:979—988.

Hodgkin, D.C., J. Kamper, M. Mackay, J. Pickworth, K. N. Trueblood, and J. G. White. 1956. Structure of Vitamin-B_{12}. *Nature.* 178:64—66.

Isler, O., G. Brubacher, S. Ghisla, and B. Kräutler. 1988. Vitamins II: Water-Soluble Vitamins (Vitamine II: Wasserlösliche Vitamine). Georg Thieme, Stuttgart. 472 pp.

Kieninger, C., J. A. Baker, M. Podewitz, K. Wurst, S. Jockusch, A.D. Lawrence, E. Deery, K. Gruber, K. R. Liedl, M. J. Warren, and B. Kräutler. 2019a. Zinc Substitution of Cobalt in Vitamin B_{12}: Zincobyric acid and Zincobalamin as Luminescent Structural B_{12} -Mimics. *Angew. Chem. Int. Ed.* 58:14568—14572.

Kieninger, C., E. Deery, A. D. Lawrence, M. Podewitz, K. Wurst, E. Nemoto-Smith, F.J. Widner, J.A. Baker, S. Jockusch, C.R. Kreutz, K. R. Liedl, K. Gruber, M. J. Warren, and B. Kräutler. 2019b. The Hydrogenobyric Acid Structure Reveals the Corrin Ligand as an Entatic State Module Empowering B_{12}-Cofactors for Catalysis. *Angew. Chem. Int. Ed.* . 58:10756—10760.

Kieninger, C., K. Wurst, M. Podewitz, M. Stanley, E. Deery, A. Lawrence, K. R. Liedl, M. J. Warren, and B. Kräutler. 2020. Replacement of the Cobalt-Center of Vitamin B_{12} by Nickel — Nibalamin and Nibyric Acid Prepared from Metal-Free B_{12}-Ligands Hydrogenobalamin and Hydrogenobyric Acid. *Angew. Chem. Int. Ed.*: 59: 20129-20136.

Koppenhagen, V. B. 1982. Metal-Free Corrinoids and Metal Insertion. *In* B_{12}. Vol. 2, Biochemistry and Medicine. D. Dolphin, editor. John Wiley & Sons. 105—150.

Kräutler, B. 2015. Antivitamins B_{12} — A Structure- and Reactivity-Based Concept. *Chem. Eur. J.* 21:11280—11287.

Kräutler, B. 2019. Biological Organometallic Chemistry of Vitamin B_{12}-Derivatives. *In* Advances in Bioorganometallic Chemistry T. Hirao and T. Moriuchi, editors. Elsevier, Cambridge, USA. 399—429.

Kräutler, B. 2020. Antivitamins B_{12} — Some Inaugural Milestones. *Chem. — A Europ. J.* 26, 15438—15445.

Kräutler, B., D. Arigoni, and B. T. Golding. 1998. Vitamin B_{12} and B_{12}-Proteins. John Wiley VCH, Weinheim.

Kräutler, B., W. Fieber, S. Ostermann, M. Fasching, K. H. Ongania, K. Gruber, C. Kratky, C. Mikl, A. Siebert, and G. Diekert. 2003. The Cofactor of Tetrachloroethene Reductive Dehalogenase of *Dehalospirillum multivorans* is Norpseudo-B_{12}, a New Type of a Natural Corrinoid. *Helv. Chim. Acta.* 86:3698—3716.

Kräutler, B., W. Keller, and C. Kratky. 1989. Coenzyme B_{12}-Chemistry: The Crystal and Molecular Structure of Cob(II) alamin *J. Am. Chem. Soc.* 111:8936—8938.

Kräutler, B., and B. Puffer. 2012. Vitamin B_{12}-Derivatives: Organometallic Catalysts, Cofactors and Ligands of Bio-Macromolecules *In* Handbook of Porphyrin Science. Vol. 25. K.M. Kadish, Smith, K. M., Guilard, R., editor. World Scientific. 133—265.

Lexa, D., and J. M. Savéant. 1983. The Electrochemistry of Vitamin B_{12}. *Acc. Chem. Res.* 16:235—243.

Matthews, R. G. 2001. Cobalamin-dependent methyltransferases. *Acc. Chem. Res.* 34:681—689.

Matthews, R. G., M. Koutmos, and S. Datta. 2008. Cobalamin-dependent and cobamide-dependent methyltransferases. *Curr. Op. Struct. Biol.* 18:658—666.

Mosimann, H., and B. Kräutler. 2000. Methylcorrinoids methylate radicals — Their second biological mode of action? *Angew. Chem. Int. Ed.* 39:393—395.

Mutti, E., M. Ruetz, H. Birn, B. Kräutler, and E. Nexo. 2013. 4-Ethylphenyl-Cobalamin Impairs Tissue Uptake of Vitamin B_{12} and Causes Vitamin B_{12} Deficiency in Mice. *Plos One.* 8:e75312.

Obeid, R. 2017. Vitamin B_{12} — Advances and Insights. CRC Press, Taylor & Francis Group.

Padmanabhan, S., R. Perez-Castano, and M. Elias-Arnanz. 2019. B-12-based photoreceptors: from structure and function to applications in optogenetics and synthetic biology. *Current Opinion in Structural Biology*. 57:47—55.

Proinsias, K., M. Giedyk, and D. Gryko. 2013. Vitamin B_{12}: chemical modifications. *Chem. Soc. Rev.* 42:6605 — 6619.

Rickes, E. L., N. G. Brink, F. R. Koniuszy, T. R. Wood, and K. Folkers. 1948. Crystalline Vitamin B_{12}. *Science.* 107:396—397.

Ruetz, M., C. Gherasim, S. N. Fedosov, K. Gruber, R. Banerjee, and B. Kräutler. 2013a. Radical Synthesis Opens Access to Organometallic Aryl-Cobaltcorrins — 4-Ethylphenyl-cobalamin, a Potential «Antivitamin B_{12}». *Angew. Chem. Int. Ed.* 52:2606—2610.

Ruetz, M., R. Salchner, K. Wurst, S. Fedosov, and B. Kräutler. 2013b. Phenylethynylcobalamin: A Light-Stable and Thermolysis-Resistant Organometallic Vitamin B_{12} Derivative Prepared by Radical Synthesis. *Angew. Chem. Int. Ed.* 52:11406—11409.

Salerno, E. V., N. A. Miller, A. Konar, R. Salchner, C. Kieninger, K. Wurst, K. G. Spears, B. Kräutler, and R. J. Sension. 2020. Exceptional Photochemical Stability of the Co-C Bond of Alkynyl Cobalamins, Potential Antivitamins B_{12} and Core Elements of B_{12}-Based Biological Vectors. *Inorg. Chem.* 59:6422—6431.

Schaffner, A., X. T. Li, Y. Gomez-Llorente, E. Leandrou, A. Memou, N. Clemente, C. Yao, F. Afsari, L. T. Zhi, N. N. Pan, K. Morohashi, X. L. Hua, M. M. Zhou, C. Wang, H. Zhang, S. G. Chen, C. J. Elliott, H. Rideout, I. Ubarretxena-Belandia, and Z. Y. Yue. 2019. Vitamin B-12 modulates Parkinson's disease LRRK2 kinase activity through allosteric regulation and confers neuroprotection. *Cell Res.* 29:313—329.

Schrauzer, G. N., E. Deutsch, and R. J. Windgassen. 1968. The nucleophilicity of vitamin B_{12s}. *J. Am. Chem. Soc.* 90(9):2441—2442.

Smith, E. L., and L. F. J. Parker. 1948. Purification of Anti-Pernicious Anaemia Factor. *Biochem. J.* 43:R8-R9.

Stubbe, J. 1994. Binding-Site Revealed of Natures Most Beautiful Cofactor. *Science.* 266:1663—1664.

Tahara, K., L. Pan, T. Ono, and Y. Hisaeda. 2018. Learning from B-12 enzymes: biomimetic and bioinspired catalysts for eco-friendly organic synthesis. *Beilstein J Org Chem.* 14:2553—2567.

Todd, L. 1979. Introductory Remarks for Opening of 3rd European Symposium on Vitamin B_{12}. *In* Vitamin B_{12}. B. Z. W. Friedrich, editor. Walter de Gruyter, Berlin.

Troxler, T., and R. Scheffold. 1994. Asymmetric Catalysis by Vitamin B_{12} — the Isomerization of Achiral Cyclopropanes to Optically-Active Olefins. *Helv. Chim. Acta.* 77:1193—1202.

Weissbach, H., J. Toohey, and H. A. Barker. 1959. Isolation and properties of B_{12} coenzymes containing benzimidazole or dimethylbenzimidazole. *Biochem.* 45:521—525.

Widner, F., A. D. Lawrence, E. Deery, D. Heldt, S. Frank, K. Gruber, K. Wurst, M. J. Warren, and B. Kräutler. 2016. Totalsynthese, Struktur und Biologische Aktivität von Adenosylrhodibalamin — dem Unnatürlichen Rhodium Homolog von Coenzym B_{12}. *Angew. Chem..* 128:11451—11456.

Widner, F. J., C. Kieninger, K. Wurst, E. Deery, M. J. Warren, and B. Kräutler. 2020. Synthesis, Spectral Characterization and Crystal Structure of Chloro-Rhodibalamin – A Synthesis Platform for Rhodium Analogues of Vitamin B_{12} and for Rh-Based Antivitamins B_{12}. *Synthesis,* DOI: 10.1055/s-0040-1707288.

Winkler, W. C., and R. R. Breaker. 2005. Regulation of bacterial gene expression by riboswitches. *Ann. Rev. Microbiol.* 59:487—517.

Woodward, R. B. 1979. Synthetic Vitamin B_{12}. *In* Vitamin B_{12}, Proceedings of the Third European Symposium on Vitamin B_{12} and Intrinsic Factor. B. Zagalak and W. Friedrich, editors. Walter de Gruyter, Berlin. 37.

Zagalak, B., and B. Friedrich. 1979. Vitamin B_{12}. Proceedings of the 3rd European Symposium on Vitamin B_{12} and Intrinsic Factor. Walter de Gruyter, Berlin. 1212.

Zelder, F., and R. Alberto. 2012. Vitamin B_{12} Derivatives for Spectroanalytical and Medicinal Applications *In* Handbook of Porphyrin Science Vol. 25. K. M. Kadish, Smith, K. M., Guilard, R., editor. World Scientific. 84—132.

Zhang, Q., W. van der Donk, and W. Liu. 2012. Radical-Mediated Enzymatic Methylation: A Tale of Two SAMS. *Acc. Chem. Res.* 45:555.

Referenzen zu Felix Zelder:

Totalsynthese von Vitamin B_{12}

Entdeckung von Vitamin B_{12}

Medizinische Bedeutung von Vitamin B_{12}

Diagnostische und therapeutische Anwendungen von B_{12}-Derivaten

Ahrens R. A. 1993. *J. Nutr.* 123: 791—796.

Baik H. W. & Russell R. M. 1999. *Annu. Rev. Nutr.* 19: 357—377.

Banerjee R., Gherasim C. & Padovani D. 2009. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 13: 484—491.

Bernhauer K., Dellweg H., Friedrich W., Gross G. & Wagner F. 1960. *Z. Naturforsch. B* 15B: 336—337.

Bertele E., Gschwend H., Boos B. H., Elsinger F., Dunitz J. D., Meyer E. F., Pesaro M., Eschenmoser A., Scheffol R., Gribi H. P. & Felner I. 1964. *Angew. Chem. Int. Edit.* 3: 490ff.

Bertele E., Scheffold R., Gschwend H., Pesaro M., Fischli A., Roth M., Schossig J. & Eschenmoser A. 2015. *Helv. Chim. Acta* 98: 1755—1844.

Biesalski H. K. 2019. In: *Vitamine, Spurenelemente und Minerale*, ed. H. K. Biesalski, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2 edn.: 79—131.

Carmel R. 1990. *Am. J. Hematol.* 34: 108—114.

Carmel R., Karnaze D. S. & Weiner J. M. 1988. *J. Lab. Clin. Med.* 111: 57—62.

Castle W. B. 1929. *Proc. R. Soc. Med.* 22: 1214—1216.

Cherbuin M., Zelder F. & Karlen W. 2018. *Analyst* 40: 130—136.

Cohnheim J. F. 1876. *Virchows Archiv für Pathologische Anatomie und Physiologie und für Klinische Medizin* 68: 291—293.

Cole M. G. & Prchal J. F. 1984. *Age Ageing* 13: 101—105.

Combe J. S. 1824. *Trans. Med. Chir. Soc. Edinb.* 1: 194—204.

Eckstein M. 2004. *JEMS Comm.* 29: 22—31.

Eschenmoser A. 1971. Studies on Organic Synthesis In 23rd Int. Congress of Pure and Applied Chemistry, Boston, Pure & Appl. Chem., Supplement Vol. 2, Butterworths, London, 69—106.

Eschenmoser A. 1974. *Naturwissenschaften* 61: 513—525.

Eschenmoser A. & Wintner C. E. 1977. *Science* 196: 1410—1426.

Eschenmoser A. 2020. *Persönliche Mitteilung an den Autor*.

Fortin J. L., Desmettre T., Peureux J., Giocanti J. P., Luporsi P. & Capellier G. 2012. *Clin. Toxicol.* 50: 301—301.

Fortin J. L., Giocanti J. P., Ruttimann M. & Kowalski J. J. 2006. *Clin. Toxicol.* 44: 37—44.

Götschi E., Hunkeler W., Wild H. J., Schneider P., Fuhrer W., Gleason J. & Eschenmoser A. 1973. *Angew. Chem. Int. Edit.* 12: 910—912.

Haynes W. G. 2002. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 16: 391—399.

Johnson, A. P., Wehrli, P., Fletcher, R. & Eschenmoser A. 1968. Angew. Chem. 80: 622.

Joosten E. , Lesaffre E., Riezler R., Ghekiere V., Dereymaeker L., Pelemans W. & Dejaeger E. 1997. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 52: M76—M79.

Jukes T. H. 1987. *Cancer Res.* 47: 5528—5536.

Koenig R. 2000. *Science* 287: 1737—1738.

Kräutler B. 2015. *Chem. Eur. J.* 21: 11280—11287.

Kräutler B., Arigoni D. & Golding B. 1998. *Vitamin B_{12} and B_{12}-Proteins*, Wiley-VCH, Weinheim.

Kuhn W., Roebroek R., Blom H., van Oppenraaij D., Przuntek H., Kretschmer A., Buttner T., Woitalla D. & Muller T. 1998. *Eur. Neurol.* 40: 225—227.

Lamberti P., Zoccolella S., Armenise E., Lamberti S. V., Fraddosio A., de Mari M., Iliceto G. & Livrea P. 2005. *Eur. J. Neurol.* 12: 365—368.

Lindsay A. E., Greenbaum A. R. & O'Hare D. 2004. *Anal. Chim. Acta* 511: 185—195.

Männel-Croisé C. & Zelder F. 2012. *ACS Appl. Mat. Interf.* 4: 725—729.

Männel-Croisé C. & Zelder F. 2012. *Anal. Methods* 4: 2632—2634.

Männel-Croisé C. & Zelder F. 2009. *Inorg Chem* 48: 1272—1274.

Männel-Croisé C., Probst B. & Zelder F. 2009. *Anal Chem* 81: 9493—9498.

McCaddon A. & Miller J. W. 2017. In: *Vitamin B_{12} Advances and Insights*, ed. R. Obeid, CRC Press, Weinheim: 151—177.

Minot G. R. & Murphy W. P. 1926. *JAMA* 87: 470—476.

Mundwiler S., Spingler B., Kurz P., Kunze S. & Alberto R. 2005. *Chem. Eur. J.* 11: 4089—4095.

Mushett C. W., Kelley K. L., Boxer G. E. & Rickards J. C. 1952. *Exp. Biol. Med.* 81: 234—237.

Mutti E. 2017. In: *Vitamin B_{12} Advances and Insights*, ed. R. Obeid, CRC Press, Weinheim: 178—188.

Mutti E., Ruetz M., Birn H., Kräutler B. & Nexo E. 2013. *Plos One* 8.

Nhassico D., Muquingue H., Cliff J., Cumbana A. & Bradbury J. H. 2008. *J. Sci. Food Agric.* 88: 2043—2049.

Olson R. E. 2001. *J. Nutr.* 131: 2227—2230.

Padmaja G. 1995. *Crit. Rev. Food Sci.* 35: 299—339.

Pesaro M., Elsinger F., Boos H., Felner-Cabogy I., Gribi H., Wick A., Und H. G. & Eschenmoser A. 2015. *Helv. Chim. Acta* 98: 1683—1754.

Petrus A. K., Fairchild T. J. & Doyle R. P. 2009. *Angew. Chem. Int. Edit* 48: 1022—1028.

Rosenberg B., Vancam L., Trosko J. E. & Mansour V. H. 1969. *Nature* 222: 385ff.

Ruetz M., Gherasim C., Gruber K., Fedosov S., Banerjee R. & Kräutler B. 2013. *Angew. Chem. Int. Ed.* 52: 2606—2610.

Ruetz M., Shanmuganathan A., Gherasim C., Karasik A., Salchner R., Kieninger C., Wurst K., Banerjee R., Koutmos M. & Kräutler B. 2017. *Angewandte Chemie-International Edition* 56: 7387—7392.

Ruiz-Sanchez P., König C., Ferrari S. & Alberto R. 2011. *J. Biol. Inorg. Chem.* 16: 33—44.

Scalabrino G. 2001. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 60: 109—120.

Scalabrino G., Mutti E., Veber D., Menendez V. R., Novembrino C., Calligaro A. & Tredici G. 2011. *Muscle Nerve* 44: 957—967.

Schaffner A., Li X. T., Gomez-Llorente Y., Leandrou E., Memou A., Clemente N., Yao C., Afsari F., Zhi L. T., Pan N. N., Morohashi K., Hua X. L., Zhou M. M., Wang C., Zhang H., Chen S. G., Elliott C. J., Rideout H., Ubarretxena-Belandia I. & Yue Z. Y. 2019. *Cell Res.* 29: 313—329.

Schneede J. 2017. In: *Vitamin B_{12} Advances and Insights*, ed. R. Obeid, CRC Press, Weinheim: 1—29.

Schreiber J. 1971. *Chimia* 25 (12): 405–407.

Smith A. D., Smith S. M., de Jager C. A., Whitbread P., Johnston C., Agacinski G., Oulhaj A., Bradley K. M., Jacoby R. & Refsum H. 2010. *Plos One* 5.

Stabler S. P. 2013. *N. Engl. J. Med.* 368: 2041—2042.

Terrill J. B., Montgomery R. R. & Reinhardt C. F. 1978. *Science* 200: 1343—1347.

van Tiggelen C. J. M. 1983. *J. Orthomol. Psychiatry* 13: 97—104.

Vitamin B_{12} Total Synthesis, https://en.wikipedia.org/wiki/Vitamin_B12_total_synthesis.

Watkins D. & Rosenblatt D. S. 2017. In: *Vitamin B_{12} Advances and Insights*, ed. R. Obeid, CRC Press, Weinheim: 94—114.

Whipple G. H. 1934. *https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1934/whipple/lecture/*, DOI: 10.1039/c5ay02600h.

Whipple G. H. 1935. *Cal. West Med.* 43: 1—4.

Woodward R. B., Hoffmann R. 1969. *Angew. Chem. Int. Edit.* 8: 781 ff.

Woodward R. B. 1973. *Aromaticity:* 217–249.

Woodward R. B. 1973. *Pure Appl. Chem.* 33: 145—178.

Yamada Y., Miljkovic D., Wehrli P., Golding B., Loliger P., Keese R., Müller K. & Eschenmoser A. 1969. *Angew. Chem. Int. Edit.* 8: 343ff.

Yao Y. L., Yao S. L., Yao S. S. , Yao G. & Lou W. 1992. *J. Fam. Pract.* 35: 524—528.

Zelder F. & Alberto R. 2012.

Handb. Porphyr. Sci. 25: 83—130.

Zelder F. & Alberto R. 2012. In: *The Porphyrin Handbook*, eds. K. M. Kadish, K. M. Smith and R. Guilard, Elsevier Science, San Diego, vol. 25: 83—130.

Zelder F. 2015. *Chem. Commun.* 51: 14004—14017.

Zelder F., Sonnay M. & Prieto L. 2015. *ChemBioChem* 16: 1264—1278.

Zhou K. & Zelder F. 2010. *Angew. Chem. Int. Ed.* 49: 5178—5180.

Zhou K., Oetterli R. M., Brandl H., Lyatuu F. E., Buckel W. & Zelder F. 2012. *ChemBioChem* 13: 2052—2055.

Felix Zelder

Felix Zelder ist Titularprofessor an der Universität Zürich. Seine Forschungsinteressen fokussieren sich auf die Chemie des Vitamins B_{12} und die Entwicklung von neuen analytischen Schnelltests. Für die grundlegenden und angewandten Forschungsarbeiten seiner Gruppe wurde er 2009 mit dem Mercator Preis der Universität Zürich und mit einem 2. Preis «Emerging Technologies 2016 Food and Water» der Royal Society of Chemistry ausgezeichnet.

Dank

Dank gilt meinen aktuellen und ehemaligen Mitarbeitern und Förderern, insbesondere Roger Alberto. Ohne die Unterstützung meiner Kooperationspartner wäre interdisziplinäre Forschung nicht möglich. Die Forschungsprojekte meiner Gruppe wurden in den letzten 10 Jahren grosszügig durch den Schweizer Nationalfonds und den Forschungskredit der Universität Zürich unterstützt. Vitamin B_{12} wurde von DSM Nutritional Products und Prof. B. Jaun dankend erhalten.

Bernhard Kräutler

Bernhard Kräutler ist Professor Emeritus für Organische Chemie an der Universität Innsbruck. Er studierte Chemie an der ETH, wo er seine Dissertation bei Professor Albert Eschenmoser durchführte und sich 1985 habilitierte. Im Herbst 1991 wurde er als Ordentlicher Universitätsprofessor für Organische Chemie an die Universität Innsbruck berufen, wo er sich seither vor allem mit porphyrinoiden Verbindungen beschäftigte. In der letzten Zeit widmete er sich schwerpunktmäßig der strukturellen, synthetischen und biologischen Chemie von Vitamin B_{12} und von Antivitaminen B_{12}, sowie den Phyllobilinen, Chlorophyll Katabolite aus höheren Pflanzen.

Dank

Unsere Arbeiten über Vitamin B_{12} und Antivitamine B_{12} verdanke ich talentierten und einsatzfreudigen Doktoranden und Postdoktoranden, deren Namen (zusammen mit jenen von wichtigen Forschungspartnern) in der Liste der Referenzen angeführt sind. Unsere Studien auf dem B_{12}-Gebiet wurden bis 1991 von der ETH-Zürich und vom Schweizer Nationalfonds (SNF) großzügig unterstützt, sowie (nach 1991) von der Europäischen Union und vom Österreichischen Wissenschaftsfonds (FWF), gegenwärtig vom Projekt P-33059.