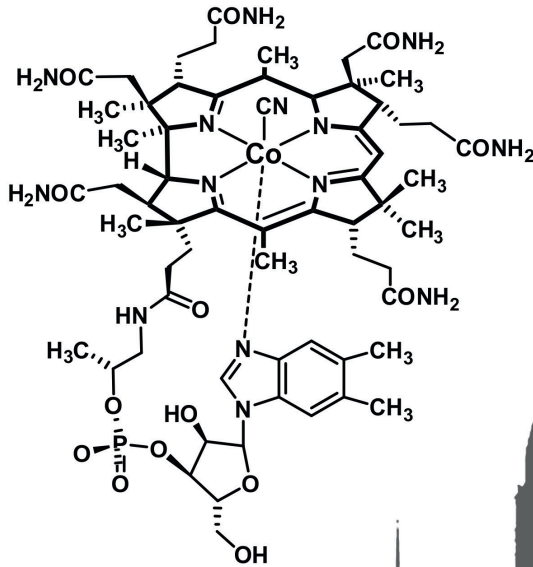


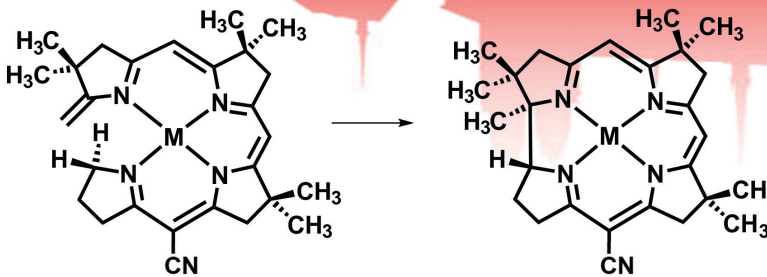
# Vitamin B<sub>12</sub>

Ein kobalthaltiges molekulares Geschenk aus der Welt der Bakterien



VITAMIN B<sub>12</sub> TOTALSYNTHESE

CORRIN SYNTHESE



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<sub>12</sub>  
Moleküls.**

**René Oetterli (CC BY-NC-SA 4.0)**

Vitamin B<sub>12</sub>  
Ein kobalthaltiges molekulares Geschenk  
aus der Welt der Bakterien

Felix Zelder und Bernhard Kräutler

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

**ngzh**

Naturforschende  
Gesellschaft in Zürich  
[www.ngzh.ch](http://www.ngzh.ch)

sc | nat 

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](http://www.felix-zelder.net)

Bernhard Kräutler  
Institut für Organische Chemie  
und Centrum für Molekulare  
Biowissenschaften  
Universität Innsbruck  
[www.uibk.ac.at/organic/kraeutler](http://www.uibk.ac.at/organic/kraeutler)

### Gestaltung und Satz

Barbara Hoffmann  
[www.barbara-hoffmann.com](http://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](mailto: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 Verände-  
rungen 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<sub>12</sub>

Ein kobalthaltiges molekulares Geschenk  
aus der Welt der Bakterien

Felix Zelder und Bernhard Kräutler

# Summary

Vitamin B<sub>12</sub> represents the structurally most complex and only metal-containing vitamin. Its discovery dates back to the 19<sup>th</sup> 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<sub>12</sub> 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<sub>12</sub>. In this context, the chemical synthesis of vitamin B<sub>12</sub> 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<sub>12</sub> (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<sub>12</sub> are well explored, but important metabolic dependencies and fascinating new vitamin B<sub>12</sub>-dependent biological transformations were only discovered in recent years. Several research studies suggest that vitamin B<sub>12</sub> is associated with important neurological diseases such as Parkinson and Alzheimer. In contrast, the strong demand of rapidly dividing cancer cells for vitamin B<sub>12</sub> has been known for long, but stimulated only in the last years the development of new B<sub>12</sub>-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<sub>12</sub>. They report in six chapters from its discovery and chemical total synthesis to current research activities.

## Keywords

vitamin B<sub>12</sub>, corrin, cobalamin, cofactor, cobalt, pernicious anemia, Alzheimer, Parkinson, liver therapy, antivitamins, cancer therapy, bacteria

## **Inhalt**

<b>Einleitung</b> Bernhard Kräutler	<b>6</b>
<b>Vitamin B<sub>12</sub> — ein komplexer Naturstoff</b> Bernhard Kräutler	<b>9</b>
<b>B<sub>12</sub>-Kofaktoren als biologisch wichtige Kobaltkomplexe</b> Bernhard Kräutler	<b>25</b>
<b>Totalsynthese von Vitamin B<sub>12</sub></b> Felix Zelder	<b>34</b>
<b>Entdeckung von Vitamin B<sub>12</sub></b> Felix Zelder	<b>44</b>
<b>Medizinische Bedeutung von Vitamin B<sub>12</sub></b> Felix Zelder	<b>49</b>
<b>Diagnostische und therapeutische Anwendungen von B<sub>12</sub>-Derivaten</b> Felix Zelder	<b>54</b>
<b>Referenzen</b>	<b>66</b>
<b>Autoren und Dank</b>	<b>72</b>

# Einleitung

Bernhard Kräutler

Vitamin B<sub>12</sub>, 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. Jhd. geleistet, u. a. in Zürich. In den letzten etwa 60 Jahren wurde Vitamin B<sub>12</sub> in Zürich zum Gegenstand einmaliger Forschungsleistungen, das deshalb auch ein speziell hervorragendes Thema für ein Neujaahrsblatt der Naturforschenden Gesellschaft Zürich sein sollte.

Das 1948 erstmals beschriebene Cobalamin Vitamin B<sub>12</sub> gehört zu den weitverbreiteten und für alle irdischen Lebensbereiche wichtigen Cobamiden, deren biologische Bedeutung heute erst in einer volleren Masse erkannt wird. Nicht nur Mensch und höhere Tiere, wie Säugetiere, benötigen die speziellen Cobalaminne 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<sub>12</sub>-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<sub>12</sub> 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<sub>12</sub>-Kofaktoren in der heutigen Welt sind womöglich «Überbleibsel» ähnlicher Rollen der vorgeschlagenen B<sub>12</sub>-Frühformen in den hypothetisch sauerstoffarmen frühen irdischen Lebenssphären. Einzigartige B<sub>12</sub>-katalysierte Radikalreaktionen haben in diesem Zusammenhang eine speziell bemerkenswerte Position. Das organometallische Koenzym B<sub>12</sub> («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<sub>12</sub>-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<sub>12</sub>-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<sub>12</sub>-abhängigen Genregulation in Mikroorganismen.

Vitamin B<sub>12</sub> und Koenzym B<sub>12</sub> 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<sub>12</sub> 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<sub>12</sub> (Eschenmoser, 1988). Die damit einhergehende Aufklärung von B<sub>12</sub>-Biosynthesen und wichtiger biologischer Wirkungsweisen der B<sub>12</sub>-Kofaktoren (teils unter namhafter Beteiligung von Wissenschaftlern an der ETH) sind weitere B<sub>12</sub>-Highlights, die unser naturwissenschaftliches Weltbild fächerübergreifend erweitert und mitgeprägt haben. Die Züricher Pionierarbeiten haben die weltweite Forschung auf dem B<sub>12</sub>-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<sub>12</sub>-Wissenschaft entwickelt. Neben den oben rekapitulierten Höhepunkten in der B<sub>12</sub>-Wissenschaft und nach den ersten beiden <Europäischen

Symposien über Vitamin B<sub>12</sub> und den Intrinsischen Faktor (1957 und 1962) in Hamburg, fand das (dritte) «Europäische Symposium über Vitamin B<sub>12</sub> und den Intrinsischen Faktor» 1979 in Zürich (an der Universität) statt (Zagalak and Friedrich, 1979), gefolgt vom (vierten) «Europäischen Symposium über Vitamin B<sub>12</sub> und B<sub>12</sub>-Proteine» 1996 an der Universität Innsbruck (Kräutler et al., 1998) sowie späterer, international organisierter Tagungen zum Thema Vitamin B<sub>12</sub>.

Vitamin B<sub>12</sub> und die ebenfalls leuchtend roten organometallischen B<sub>12</sub> Kofaktoren Koenzym B<sub>12</sub> 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 unabhömmliche Vitamin B<sub>12</sub> in manchen medizinischen Belangen noch immer mysteriös. Vitamin B<sub>12</sub> und B<sub>12</sub>-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.

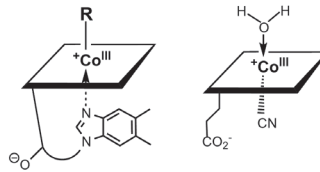
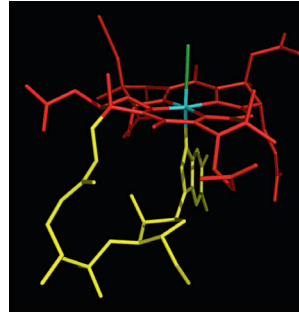
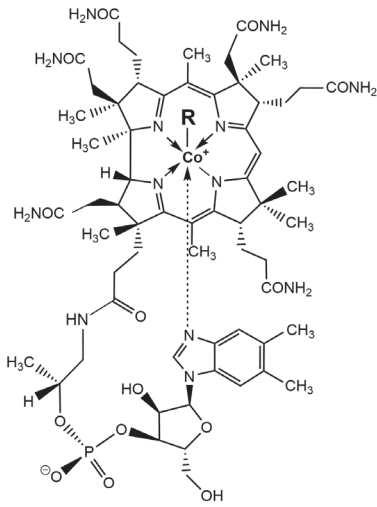
# Vitamin B<sub>12</sub> – ein komplexer Naturstoff

Bernhard Kräutler

Vitamin B<sub>12</sub> 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 unbekanntem 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<sub>12</sub> gegeben wurde (Smith and Parker, 1948). Dabei stellte sich heraus, dass der gut kristallisierbare Cyano-Komplex Vitamin B<sub>12</sub> = 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<sub>12</sub>-Vitaminformen im Gebrauch (Green et al., 2017).

## Struktur

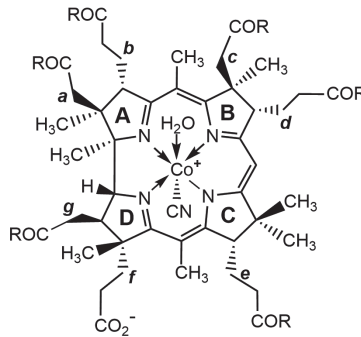
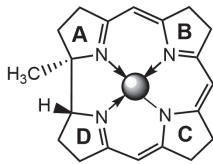
Die chemische Struktur von Vitamin B<sub>12</sub> liess sich mit den um 1950 vorhandenen chemischen Methoden nicht aufklären. Durch Elementaranalysen konnte zunächst neben Kobalt auch Phosphor nachgewiesen und schliesslich seine Summenformel als C<sub>63</sub>H<sub>88</sub>CoN<sub>14</sub>O<sub>14</sub>P ermittelt werden. Durch kontrollierten Abbau von Vitamin B<sub>12</sub> 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<sub>12</sub> (R = CN, CNCbl), Koenzym B<sub>12</sub> (R = 5'-Deoxyadenosyl, AdoCbl), Methylcobalamin (R = Methyl, MeCbl); Strukturmodell von Vitamin B<sub>12</sub>; Symbolik für Cobalamine und Co<sub>β</sub>aquo-Cobyrinsäure (Strukturformel in → Figur 2).

Bild: B. Kräutler



Figur 2

Grundgerüst des Corrin Liganden in einem Metallo-Corrin und Strukturformeln von Co<sub>α</sub>cianoCo<sub>β</sub>aquo-Cobyrinsäure (R = OH) und Co<sub>α</sub>cianoCo<sub>β</sub>aquo-Cobyrinsäure (R = NH<sub>2</sub>) mit der üblichen Bezeichnung der pyrrolischen Ringe und der Seitenketten.

Bild: B. Kräutler

Kristallisationstendenz des Vitamins B<sub>12</sub> (CNCbl) und der etwas einfacher aufgebauten Cobyrinsäure erlaubte es aber im Labor von Dorothy C. Hodgkin (England) die Struktur von Vitamin B<sub>12</sub> in einer kristallographischen Pionierleistung vollständig zu ermitteln. Bei diesen Untersuchungen wurde der für B<sub>12</sub>-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 Cobyrinsäure 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<sub>12</sub> ist der Cobyrinsäure-Kern mit einer am Ring D an der Corrin-Peripherie kovalent