

**Sterischer Verlauf der Ringbildung  
in der Biosynthese  
der Cyclopropanfettsäuren**

ABHANDLUNG

zur Erlangung

des Titels eines Doktors der Naturwissenschaften

der

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZUERICH

vorgelegt von

JEAN-PIERRE OBRECHT

dipl.Natw.ETH

geboren am 21.April 1952

von Zürich

angenommen auf Antrag von

Prof.Dr.D.Arigoni, Referent

Prof.Dr.D.Seebach, Korreferent

1982

### Zusammenfassung

Der sterische Verlauf der Ringbildung in der Biosynthese der Lactobacillinsäure wurde wie folgt ermittelt:

1. Nach bekannter Vorschrift wurde aus chiraler Essigsäure Methionin mit einer chiralen Methylgruppe hergestellt.
2. Das Methionin mit der (S)-Methylgruppe wurde in Zellkulturen von *Lactobacillus plantarum* eingebaut, aus welchen Lactobacillinsäure in Form ihres Methylesters isoliert wurde.
3. Durch eine Abbausequenz, deren stereochemische Eindeutigkeit durch Vorversuche mit deuterierten Substanzen überprüft worden war, wurde die Methylengruppe des Cyclopropanringes der Lactobacillinsäure über eine Hydroxymethylverbindung in die Methylgruppe der Essigsäure verwandelt.  
Aufgrund der Tatsache, dass bei der Oxidation des Lactobacillinsäuremethylesters zwei trennbare  $\alpha$ -Cyclopropylketone erhalten wurden, konnte die Abbausequenz zweigleisig durchgeführt werden.  
Die Analyse der chiralen Acetate ergab komplementäre F-Werte von 68 bzw. 35. Daraus kann abgeleitet werden, dass die doppelt markierte Methylengruppe des Cyclopropanringes der Lactobacillinsäure überwiegend (R)-Konfiguration hatte.  
Die Analyse der Konfiguration der Hydroxymethylgruppe von 1-Octanol durch Aequilibrierung mit Mefealkoholdehydrogenase ergab zusätzlich, dass sich in der Methylengruppe des Cyclopropanringes 71% des Tritiums in der Re-Lage befand.

Diese Resultate erlauben die Folgerung, dass die Deprotonierung des bei der Alkylierung der ungesättigten Fettsäuren durch SAM entstehenden Carbokations auf stereospezifische Weise in Richtung des Kettenendes hin erfolgt.

Die erhaltenen Resultate zeigen zudem, dass im Verlauf der Cyclopropanierung ein Teil der stereochemischen Information verloren geht. Zur Erklärung dieses Sachverhaltes werden mechanistische Möglichkeiten diskutiert aufgrund derer für den Isotopeneffekt Werte von 1.5 bzw. 3.4 ermittelt werden können.

Abstract

The stereochemical course of the cyclopropane ring formation step in the biosynthesis of lactobacillic acid was elucidated as follows:

1. Methionine with a chiral methyl group was synthesized by a known procedure from chiral acetic acid.
2. The methionine bearing a (S)-methyl group was incorporated into cell cultures of *Lactobacillus plantarum* from which lactobacillic acid was isolated as its methyl ester.
3. Through a stereochemically unambiguous degradation procedure, the validity of which was checked by the use of deuterated substrates, the methylene group of lactobacillic acid was transformed into the methyl group of acetic acid via the intermediacy of a hydroxy methyl compound.

Because of the fact that the oxidation of lactobacillic acid yielded two separable  $\alpha$ -cyclopropyl ketones, the degradation was carried out in two series.

The analysis of the two sets of chiral acetate samples gave complementary F-values of 68 and 35 respectively thus indicating, that the double labelled methylene group of lactobacillic acid had predominately (R)-configuration.

The analysis of the the configuration of the hydroxy methyl group of 1-octanol (a degradation product of one series) by means of the yeast alcohol dehydrogenase reaction indicates moreover that 71% of the tritium was located in the H<sub>Re</sub>-position of the methylene bridge of lactobacillic acid.

These results lead to the following conclusion:

The deprotonation of the cation formed by the alkylation of vaccenic acid by SAM proceeds stereospecifically towards the methyl terminus of the fatty acid carbon chain.

The results also indicate that stereochemical information is lost during the cyclopropane ring formation and mechanisms are proposed to explain this phenomenon. Depending on the choice of mechanism primary deuterium isotope effects of 1.5 and 3.4 respectively can be calculated.