

**Diss. ETH 6739**

**Untersuchung des stereochemischen Verlaufs  
biologischer Methylierungen mit Hilfe  
chiraler Methylgruppen**

**ABHANDLUNG**

zur Erlangung  
des Titels eines Doktors der Naturwissenschaften  
der  
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZÜRICH

vorgelegt von  
PHILIPP NICOLAS HUGUENIN VIRCHAUX  
dipl. Natw. ETH  
geboren am 11. September 1947  
von Le Locle (NE)

Angenommen auf Antrag von  
Prof. Dr. D. Arigoni, Referent  
Prof. Dr. W. Keller, Korreferent

Druck: Wittwer-Service Bern  
1981

## ZUSAMMENFASSUNG

1. Ausgehend von chiralen Acetatproben wurde über vier Stufen (S)-Methionin mit (R)- bzw. (S)-Methylgruppe chemisch hergestellt.
2. Die chirale Methylgruppe von Methionin wurde in einer Sequenz von vier chemischen Schritten in diejenige von Essigsäure überführt.  
Die Einbuße an enantiomerer Reinheit der chiralen Methylgruppe während Synthese und Abbau von Methionin war gering.  
Die Konfiguration der Acetate aus dem Abbau stand im Einklang mit dem erwarteten sterischen Verlauf der einzelnen Reaktionsstufen.
3. Es wurden die folgenden biologischen Transmethylierungen durchgeführt:
  - a) Die chirale Methylgruppe wurde enzymatisch von S-Methylmethionin auf Homocystein übertragen.  
Die Homocysteinmethyltransferase, EC 2.1.1.10, isolierte man aus einem käuflichen Extrakt von *Canavalia ensiformis*.
  - b) Nach Einbau von Methionin mit chiraler Methylgruppe in *Menyanthes trifoliata* wurde markiertes Loganin als Pentaacetylderivat 55A isoliert.
  - c) Normetanephrin 58 wurde am Stickstoffatom enzymatisch methyliert. Das dazu erforderliche S-Adenosylmethionin mit chiraler Methylgruppe wurde in situ enzymatisch hergestellt.  
Die S-Adenosylmethionin-Synthetase, EC 2.5.1.6, wurde aus *Saccharomyces cerevisiae* und die Noradrenalin-N-Methylferase, EC 2.1.1.28, aus Rindernebnieren isoliert.

Um die Konfiguration am Kohlenstoffatom der chiralen Methylgruppe nach erfolgter Transmethylierung zu bestimmen, wurden die methylierten Verbindungen mit geeigneten chemischen Methoden zu chiraler Essigsäure abgebaut.

Man fand, dass in jedem Fall die biologische Methylübertragung mit Inversion der chiralen Methylgruppe einhergeht.

SUMMARY

- 1) (S)-methionine bearing a chiral methyl group was synthesized in four steps from chiral acetate.
- 2) A method was elaborated for the back conversion of the labelled methionine to chiral acetate.  
The enantiomeric purity of the acetate samples obtained was only slightly less than the enantiomeric purity of the starting acetates. The overall stereochemical outcome was consistent with the predicted stereochemical course of the individual steps.
- 3) With the help of such samples of methionine the following investigations were carried out:
  - a) The chiral methyl group was transferred by means of the homocysteine methyltransferase, EC 2.1.1.10, isolated from jack bean meal, to homocysteine.
  - b) After incorporation of methionine with chiral methyl group into *Menyanthes trifoliata*, labelled loganin was isolated as the pentaacetyl derivative 58A.
  - c) Normetanephrine was methylated enzymatically on the nitrogen atom. The required SAM with chiral methyl group was prepared enzymatically in situ by the S-adenosylmethionine synthetase, EC 2.5.1.6, from *Saccharomyces cerevisiae*.  
The norepinephrine-N-methyltransferase, EC 2.1.1.28, was isolated from bovine adrenal glands.

The products of the methylation were degraded by chemical procedures of predictable stereospecificity to chiral acetates. Analysis of these acetate samples indicated that in each of the three cases the biological methylation occurs with inversion of the methyl group. This substantiates the idea that the methyl group transfer is taking place in a single step which precedes through the typical linear transition state.