

Tetrapyrrole – Biokatalysatoren der ersten Stunde?

Zahlreiche Schlüsselfunktionen im Ablauf von physiologischen Vorgängen heutiger Organismen werden von zyklischen Molekülen übernommen, die als Tetrapyrrol-Makrozyklen bezeichnet werden. Daher besteht großes Interesse an der Formulierung einer schlüssigen Hypothese für deren Abiogenese*. Bisherige Versuche der Simulation von Vorgängen, die zur Bildung dieser Verbindungen geführt haben sollen, ergeben jedoch keine gute Basis für ein plausibles Modell der erstmaligen Bildung von Tetrapyrrol-Makrozyklen.

Boris Schmidtgall

Abiogenese

Hypothetische erstmalige natürliche Entstehung von Leben durch bloße physikalisch-chemische Prozesse, ohne Voraussetzung von schon vorhandenem Leben.

Relevanz von Tetrapyrrol-Makrozyklen

Aufgrund ihres häufigen Vorkommens in unterschiedlichen biochemischen Funktionseinheiten, ihrer auffälligen Geometrie und der faszinierenden chemischen und physikalischen Eigenschaften sind Tetrapyrrole seit langem Gegenstand intensiver Untersuchungen. Zu den bekanntesten Beispielen gehören die Aufklärung der Struktur des grünen Blattfarbstoffs Chlorophyll (WILLSTÄTTER & FISCHER 1913) und des „roten Blutfarbstoffs“ Hämoglobin (FISCHER & ZEILE 1929). Bei Tetrapyrrolen handelt es sich um flache (planare), ringförmige Moleküle, die aus vier gleichen Untereinheiten zusammengesetzt sind. Zu den in der Natur am häufigsten vorkommenden Makrozyklen dieses Typs zählen Porphin **1**, Chlorin **2** und Corrin **3** (Abb. 1).

Aufgrund ihrer Stabilität kommen diese Verbindungen in größerer Menge in Sedimenten,

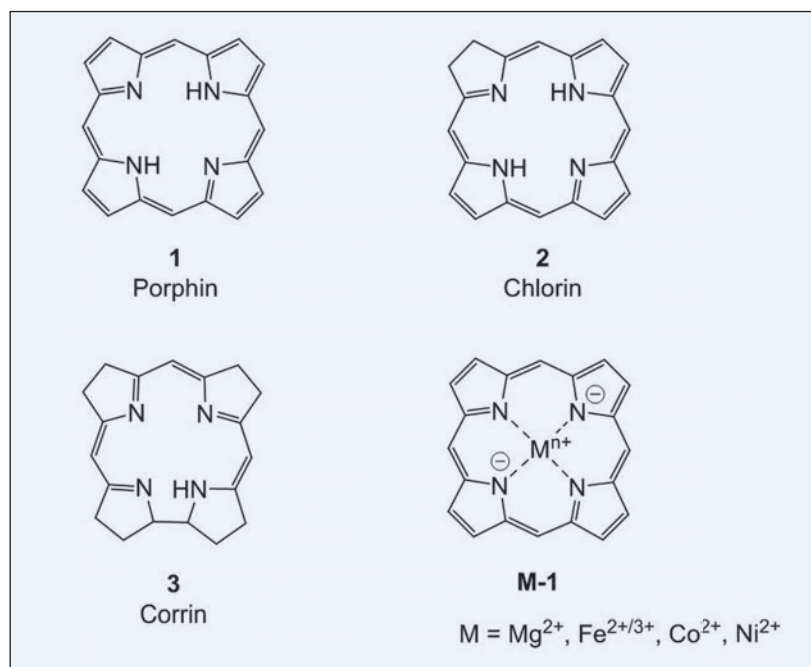
Kohle und Erdöl vor (SCHAEFFER et al. 1993). Ihre ringförmige Struktur ermöglicht das Binden bestimmter Metallionen (Abb. 1), die einen Radius von 60–70 pm aufweisen (z. B. Mg^{2+} im Chlorophyll oder Co^{2+} im Vitamin B_{12}). Größere Metallionen wie Pb^{2+} (Blei) passen nicht ins Zentrum der zyklischen Verbindungen, während zu kleine Ionen wie Be^{2+} (Beryllium) oder Al^{3+} (Aluminium) nicht fest gebunden werden. Verbindungen aus Tetrapyrrolen und Metallionen werden als „Komplexe“ bezeichnet und spielen bei zahlreichen physiologischen Vorgängen in Organismen eine zentrale Rolle.

Das Tetrapyrrolgerüst kommt als zentraler Bestandteil in biologisch relevanten Stoffen wie dem „grünen Blattfarbstoff“ Chlorophyll oder dem „roten Blutfarbstoff“ Hämoglobin vor.

Für die Photosynthese ist das Chlorophyll (Mg^{2+} -Porphyrin-Komplex) als Bestandteil des Lichtsammelkomplexes unverzichtbar. Der Sauerstoff-Transport im Blut vieler Lebewesen erfolgt durch das Hämoglobin, ein Enzym, in dessen Zentrum ein Fe^{2+} -Porphyrin-Komplex als Bindestelle für molekularen Sauerstoff fungiert. Weitere wichtige Funktionen von Metall-Tetrapyrrol-Komplexen sind die Beteiligung an Entgiftungsprozessen in der Leber (Monooxygenasen) und der Elektronentransport in der Atmungskette (Q-Cytochrom-c-Oxidoreduktase und Cytochrom-c-Oxidase).

Das Vorkommen porphinoide Ni^{2+} -Komplexe bei Archaeobakterien gilt als Indiz dafür, dass diese Verbindungen bereits in einem frühen Stadium der angenommenen schrittweisen Lebensentstehung eine wichtige Rolle gespielt haben könnten (ESCHENMOSER 1988). Der Weg zur Entstehung von Tetrapyrrolen galt jedoch lange Zeit als ungeklärt. In den vergangenen Jahren hat die Forschungsgruppe um LINDSEY

Abb. 1 In Organismen häufig vorkommende Tetrapyrrol-Makrozyklen und der Metallion-Komplex M1.

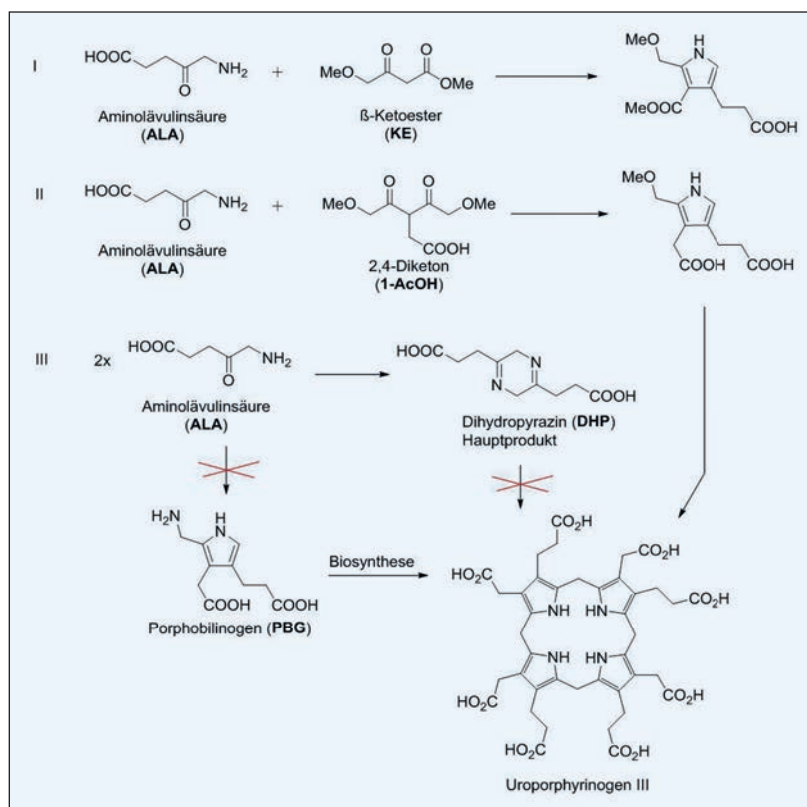


Hypothesen für die präbiotische Entstehung dieser Verbindungen auf der Basis von experimentellen Untersuchungen etabliert (LINDSEY et al. 2009, LINDSEY et al. 2011).

Analyse der Plausibilität des Modells zur Biogenese von Tetrapyrrol-Makrozyklen

Schon die gezielte Laborsynthese von Porphin **1** (Abb. 1) stellte bis vor kurzem noch eine beträchtliche Herausforderung dar. Im Jahr 1959 wurde eine Porphin-Synthese mit einer Ausbeute von mageren 5% in einer Publikation des *Journal of Organic Chemistry* beschrieben (KROL 1959). Vermutlich galten deshalb experimentelle Arbeiten zu Hypothesen über die präbiotische Entstehung dieser Verbindungen lange als wenig attraktiv. Erst im Jahr 2007 gelang es der Arbeitsgruppe um LINDSEY, den Magnesium-Komplex **Mg-1** des Porphins in einer Ausbeute von 30% herzustellen (LINDSEY 2007). Allerdings handelte es sich dabei um eine reine Laborsynthese, die für eine Diskussion potentieller präbiotischer Vorgänge ungeeignet ist. Der erste Versuch, eine Entstehung von Tetrapyrrol-Verbindungen unter als präbiotisch bezeichneten Bedingungen zu simulieren, wurde von MAUZERALL durchgeführt (MAUZERALL 1960). Bei diesen Versuchen wurde jedoch eine organische Verbindung (Porphobilinogen **PBG**) eingesetzt, deren abiogenetische Entstehung nicht als gegeben betrachtet werden kann. Zudem wurde nur eine Vorstufe (Uroporphyrinogen III, Abb. 3) der physiologisch relevanten Makrozyklen Porphin **1**, Chlorin **2** und Corrin **3** erhalten. In einer Reihe von aktuellen Publikationen beschrieb die Gruppe um LINDSEY nun Ergebnisse ihrer experimentellen Arbeiten, die eine mögliche Lösung für das zuerst genannte Problem der früheren Arbeiten (Entstehung von **PBG**) darstellen sollen.

Als Rahmenbedingungen für die Simulationen wurden eine anaerobe Atmosphäre, die Abwesenheit von Enzymen und das Vorhandensein höherer Konzentrationen an Aminolävulinsäure (**ALA**) und eines β -Ketoesters (**KE**) (Reaktion I, Abb. 2) oder eines 2,4-Diketons (**1-AcOH**) (Reaktion II, Abb. 2) in einer wässrigen Lösung angenommen. **ALA** wurde als Ausgangsverbindung in den Experimenten gewählt, da dieses Molekül auch in der Biosynthese (in lebenden Zellen) stets der Ausgangspunkt für die Bildung von Tetrapyrrol-Makrozyklen ist (MARKS 1966). Auf diese Weise sollte demonstriert werden, dass heutige physiologische Vorgänge ihren Ursprung in chemischen Reaktionsabläufen ohne Beteiligung von Enzymen haben. Allerdings sind weder **KE** noch **1-AcOH** in der Biosynthese von Por-



phyrinen involviert. Diese Verbindungen wurden bei den Simulationsexperimenten eingesetzt, da die Kondensation von **ALA** mit sich selbst ohne Steuerung durch Enzyme hauptsächlich zum Dihydropyrazin (**DHP**) führt und nicht zum **PBG** (Reaktion III, Abb. 2).

Die Reaktionsbedingungen wurden hinsichtlich der Parameter Temperatur (70–100 °C bzw. 28–85 °C), pH-Wert (5–7) und Konzentration der Reaktionspartner (2–40 mM bzw. 5–240 mM) variiert, um zu belegen, dass diese Reaktionen keiner allzu spezifischen Bedingungen bedürfen (robuste Reaktion). Bei den durchgeführten Reaktionen konnte in einer maximalen Ausbeute von 10% der Makrozyklus Uroporphyrinogen III (Abb. 2) als Gemisch mit einigen Nebenprodukten erhalten werden. In diesen Versuchen wurde folglich die spontane Organisation von acht einfachen, azyklischen Molekülen zu einer relativ komplexen Verbindung (Tetrapyrrol) nachgewiesen. Nach Ansicht der Autoren eignen sich diese Befunde als Indiz für die Plausibilität der spontanen Selbstorganisation von Katalysatoren, metabolischen Zyklen und Vorläufern von Photosynthese-Systemen.

Gemäß LINDSEY handelt es sich bei der untersuchten Reaktion um ein beeindruckendes Beispiel der Selbstorganisation von acht azyklischen Molekülen (4 x **ALA** + 4 x **KE** oder 4 x **ALA** + 4 x **1-AcOH**) zu einem Tetrapyrrolgerüst (LINDSEY 2011). Allerdings deutet die Ausbeute von maximal 10% an, dass die Reaktion nicht der hauptsächlich ablaufende Prozess ist. Die tatsächliche Hauptreaktion ist die Polymerisation. Zudem ist mit diesen Befunden keinesfalls der

Abb. 2 Von LINDSEY untersuchte Reaktionen zur Bildung von **PBG** und dessen struktureller Analoga.

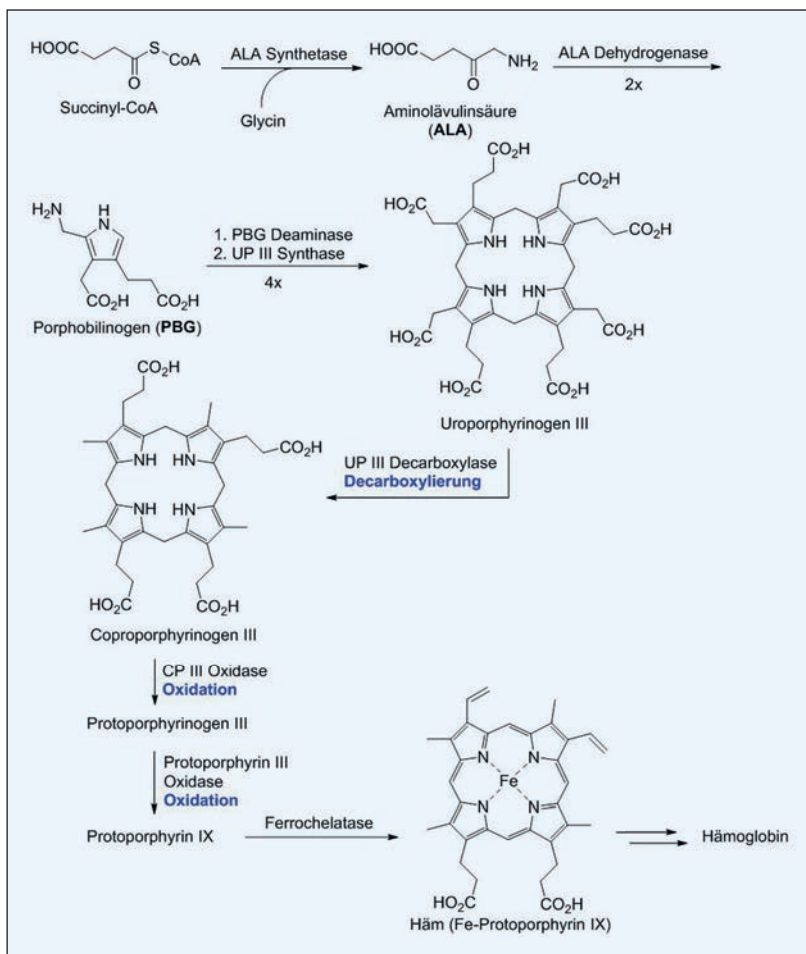


Abb. 3 Biosynthese des Häm-Systems als Beispiel für die biologische Entstehung von Porphyrinen.

Nachweis für die Abiogenese von Tetrapyrrolen erbracht, die in den bereits erwähnten biologischen Funktionseinheiten vorkommen. Bei allen beschriebenen Experimenten wurde kein Protoporphyrin IX (Abb. 2) erhalten, sondern nur die metabolische Vorstufe Uroporphyrinogen III (Abb. 3). Für die Weiterreaktion zum Protoporphyrin IX (unmittelbare Vorstufe vom Häm bzw. Chlorophyll) wären noch einige weitere Schritte notwendig, darunter vier regioselektive Decarboxylierungen und zwei Oxidationsschritte (Abb. 3).

Diese Reaktionen verlaufen in Zellen in unterschiedlichen Kompartimenten und unter Beteiligung von Enzymen. Besonders die Katalyse der Decarboxylierungen durch das Enzym Uroporphyrinogen III-Decarboxylase erweist sich als spektakulär, denn die Beschleunigung der Reaktionsgeschwindigkeit beträgt $6 \cdot 10^{24} \text{ M}^{-1}$. Es handelt sich dabei um die effizienteste Reaktionsbeschleunigung durch ein Enzym, die bisher bekannt geworden ist (LEWIS 2008). Das bedeutet aber auch im Umkehrschluss, dass die entsprechende unkatalysierte Reaktion extrem langsam ist. Folglich ist dieser Vorgang auf die Katalyse angewiesen. Dazu passt auch der Befund (WITH 1975), dass die unkatalysierte Decarboxylierung nur unter sehr harschen Bedingungen abläuft (200 °C, 5 min). Auch die darauf folgenden Oxidationen von Coproporphyrinogen

III und Protoporphyrin IX sind unter den von LINDSEY gewählten Bedingungen problematisch, da in Gegenwart oxidierender Reagenzien die Ausgangsverbindung **ALA** nicht beständig wäre. Überhaupt ist die chemische Verbindung **ALA** nur bei niedrigem pH-Wert (2.3) und unter anoxischen Bedingungen wenige Monate haltbar. Auch LINDSEY und Mitarbeiter berichteten, dass diese Verbindung bei einer Temperatur von -15 °C aufbewahrt werden musste (LINDSEY 2009). Diese Eigenschaft zeichnet sie als hochgradig ungeeignet für eine längere Verweildauer in einer präbiotischen Welt aus. Zumindest kann **ALA** nicht in einer von LINDSEY vorausgesetzten „warmen Welt“ als Ausgangsverbindung angenommen werden.

Völlig unklar ist, wie porphinoide Verbindungen sich mit anderen Makromolekülen zu den eigentlich wirksamen biologischen Strukturen verknüpfen könnten.

Das entscheidende Problem ist jedoch die nicht einmal im Ansatz behandelte Fragestellung, wie porphinoide Verbindungen sich mit anderen Makromolekülen zu den eigentlich wirksamen biologischen Strukturen (Photosysteme, Hämoglobin, Porphyrin-haltige Enzyme) verknüpfen haben könnten. Enzyme, die z. B. Häm-Einheiten enthalten, sind auf die Proteinhülle angewiesen, da anderenfalls die Spezifität der Reaktionen nicht gegeben wäre. Im Zusammenhang mit der Stoffwechsel-zuerst-Hypothese bezeichnete ORGEL das Fehlen der Spezifität einfacher Vorgänger von späteren komplexeren Enzymen als das ungelöste Kernproblem (ORGEL 2008): „Die größte Herausforderung für Verfechter von Metabolismus-zuerst-Hypothesen – die durch das Fehlen der Spezifität nichtenzymatischer Katalysatoren verursachten Probleme – sind generell nicht berücksichtigt worden.“¹ Verknüpfende Reaktionen mit porphinoide Verbindungen dürften allerdings ohne geeignete Katalysatoren äußerst schwer zu realisieren sein, da Porphyrine aufgrund ihrer hohen thermodynamischen Stabilität ausgesprochen reaktionsträge sind. Sie stellen folglich eher eine Sackgasse auf dem Weg zu komplexen biologischen Strukturen dar als eine realistische Zwischenstufe.

Die Bildung porphinoide Verbindungen bedarf einer spezifischen Katalyse

Zusammenfassend gesagt kann auf der Grundlage bisheriger Experimente kein schlüssiges Modell für die Entstehung porphinoide Verbindungen

formuliert werden. Trotz ihrer thermodynamischen Stabilität bedarf es einer gezielten Steuerung der chemischen Reaktionen durch komplexe und spezialisierte Enzyme, damit aus einfachen Vorläufern wie **ALA** die Tetrapyrrole **1-3** gebildet werden können.

Anmerkung

- ¹ „The most serious challenge to proponents of metabolic cycle theories – the problems presented by the lack of specificity of most nonenzymatic catalysts – has, in general, not been appreciated.“

Literatur

- ESCHENMOSE A (1988) Vitamin B₁₂: Experimente zur Frage nach dem Ursprung seiner molekularen Struktur. *Angew. Chem.* 100, 5–40.
- FISCHER H & ZEILE K (1929) Synthese des Hämatoporphyrins, Protoporphyrins und Haemins. *Justus Liebig's Ann. Chem.* 468, 98–116.
- KROL S (1959) A new synthesis of porphyrin. *J. Org. Chem.* 24, 2065–2067.
- LEWIS CA & WOLFENDEN R (2008) Uroporphyrinogen decarboxylation as a benchmark for the catalytic proficiency of enzymes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105, 17328–17333.
- DOGUTAN DK, PTASZEK M & LINDSEY JS (2007) Direct synthesis of magnesium porphine via 1-formyldipyrromethane. *J. Org. Chem.* 72, 5008–5011.
- LINDSEY JS et al. (2009) Simple formation of an abiotic porphyrinogen in aqueous solution. *Orig. Life Evol. Biosph.* 39, 495–515.
- LINDSEY JS et al. (2011) Abiotic formation of uroporphyrinogen and coproporphyrinogen from acyclic reactants. *New J. Chem.* 35, 65–75.
- MARKS GS (1966) The biosynthesis of heme and chlorophyll. *Bot. Rev.* 32, 56–94.
- MAUZERALL D (1960) The condensation of porphobilinogen to uroporphyrinogen. *J. Am. Chem. Soc.* 82, 2605–2609.
- ORGEL LE (2008) The implausibility of metabolic cycles on the prebiotic earth. *PLoS Biology* 6, e18.
- SCHAEFFER P et al. (1993) Extraction of bound porphyrins from sulfur-rich sediments and their use for reconstruction of palaeoenvironments. *Nature* 364, 133.
- WILLSTÄTTER R & FISCHER M (1913), Untersuchungen über Chlorophyll XXIII. Die Stammsubstanzen der Phyllyne und Porphyrine. *Justus Liebig's Ann. Chem.* 400, 182–194.
- WITH TK (1975) Decarboxylation of uroporphyrin by heating at atmospheric pressure. *Biochem J.* 147, 249–251.

Evolution vom Wasser ans Land: gar nicht so schwer?

Lebewesen sind in der Lage, auf Umweltänderungen durch Veränderungen im Bau, in der Physiologie oder im Verhalten zu reagieren (Plastizität). Das Erbgut enthält also Variationsprogramme, die bei Bedarf abgerufen werden. Diese Fähigkeit machten sich Forscher zunutze und ließen lungenatmende Flösselhechte auf Land aufwachsen. In der ungewohnten Umgebung zeigten die Fische als plastische Reaktion veränderte Verhaltensweisen und Änderungen im Bau einiger Knochen, die auf dem Land eine Verbesserung der Fortbewegung ermöglichen. Könnte diese plastische Fähigkeit in der angenommenen Evolution von Fischen zu Vierbeinern eine wichtige Rolle gespielt haben?

Reinhard Junker

Lebewesen haben die faszinierende Fähigkeit, sich unterschiedlichen Umweltbedingungen individuell anpassen zu können. Bestimmte Umweltreize können Veränderungen im Körperbau, in der Physiologie oder im Verhalten auslösen, die das Überleben ermöglichen oder erleichtern. Das Erbgut wird dabei nicht geändert, vielmehr sind im Erbgut Variationsprogramme verankert, die bei Bedarf abgerufen werden können. Diese Fähigkeit nennt man Plastizität („Formbarkeit“) oder (im deutschen Sprachraum) Modifikation und sie gehört sozusagen zur Standard-Ausstattung von Lebewesen. Ein typisches Beispiel ist die Bildung von Hornschwielen an Händen oder Füßen aufgrund verstärkter mechanischer Beanspruchung der Haut.

Plastizität und Evolution

In der Evolutionsforschung hat das Phänomen Plastizität in den letzten Jahren vermehrt Aufmerksamkeit gefunden. Dabei wird der Frage nachgegangen, ob plastische Reaktionen das Potential beinhalten könnten, zu evolutionären Neuheiten zu führen. Auf den ersten Blick erscheint das wenig plausibel, denn plastische Änderungen sind keine Merkmale, die erst neu erworben wurden, sondern gehören bereits zum (zeitweise) verborgenen Repertoire der Lebewesen. Dennoch lautet eine Idee in Bezug auf Evolution wie folgt: In Extremumwelten (unter stark stressenden Bedingungen) könnten aufgrund einer plastischen Reaktion Merkmale