

Vitamina B₁₂

De fármaco contra la anemia perniciosa a monte Everest de la síntesis orgánica

J. Alberto Marco

Resumen: se hace una revisión de las dos aproximaciones sintéticas más importantes a la vitamina B₁₂, una de las cuales fue culminada con éxito. Se discuten asimismo los mecanismos de los pasos clave de dichas secuencias sintéticas. Se presentan finalmente los mecanismos de dos reacciones biológicas de importancia clave para el ser humano que implican cofactores de tipo corrinoides relacionados con la vitamina B₁₂.

Palabras clave: vitamina B₁₂, pigmentos tetrapirrólicos, corrinas, cobamidas, mecanismos biológicos.

Abstract: a review is made of the two main synthetic approaches to vitamin B₁₂, one of which was successfully accomplished. The mechanisms of some key steps in the synthetic sequences are also discussed. In addition, the mechanisms of two biological reactions involving corrinoid factors related to vitamin B₁₂ of foremost importance for human beings are presented.

Keywords: vitamin B₁₂, tetrapyrrole pigments, corrins, cobamides, biological mechanisms.

INTRODUCCIÓN

La historia de este importante factor vitamínico comienza en los años 20 del pasado siglo, cuando G. R. Minot, W. P. Murphy y G. H. Whipple demostraron la capacidad de extractos crudos de hígado de curar la anemia perniciosa, enfermedad de evolución casi siempre fatal. A partir de la década de los 40, los grupos de K. Folkers, E. L. Smith y A. R. Todd impulsaron avances continuados en el aislamiento e investigación de la estructura y propiedades del compuesto responsable de la mencionada acción farmacológica.^[1] La estructura completa del compuesto, al cual se denominó vitamina B₁₂, fue establecida finalmente en 1956 como **1** (Figura 1) por Dorothy C. Hodgkin, utilizando la por entonces aún novedosa técnica de difracción de rayos X.^[2] De hecho, la elucidación de esta y otras complejas estructuras con dicha técnica fue elemento clave en la consecución del Premio Nobel que obtuvo dicha investigadora en 1964.



J. A. Marco

Departamento de Química Orgánica
Universidad de Valencia
c/Dr. Moliner, 50, 46100 Burjassot, Valencia
C-e: alberto.marco@uv.es

Recibido: 19/10/2020. Aceptado: 07/01/2021.

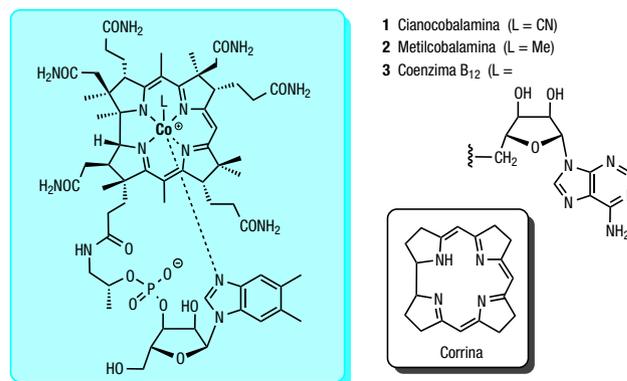


Figura 1. Estructuras de la vitamina B₁₂ (**1**, cianocobalamina) y de los cofactores enzimáticos **2** y **3**

Estrictamente hablando, la estructura **1** no es la del verdadero cofactor enzimático natural sino la forma en que se aisló inicialmente el compuesto a partir de fuentes naturales. Es asimismo la sustancia contenida en muchos suplementos vitamínicos comerciales. Los verdaderos factores coenzimáticos *in vivo* son fundamentalmente dos, cada uno con misiones biológicas distintas, representados en la Figura 1 como **2** (metilcobalamina, MeCbl) y **3** (coenzima B₁₂ o también adenosilcobalamina, AdoCbl). Ambos comparten una característica estructural muy poco usual en la Naturaleza: la posesión de enlace covalentes metal-carbono (*Csp³*), hecho por el cual cabe calificarlos justificadamente como compuestos organometálicos. Al examinar dichas estructuras, resulta difícil no compartir la opinión expresada hace tiempo

de que son los cofactores de mayor belleza estructural generados en la Naturaleza.^[3]

La coenzima B₁₂ y demás factores coenzimáticos que contienen cobalto se conocen también con el nombre genérico de cobamamidas.^[4] Se trata de unas moléculas con un esqueleto atómico cíclico denominado corrina (Figura 1), incluido dentro de la clase general de los pigmentos tetrapirrólicos. Otros miembros importantes de dicha clase son, por ejemplo, las porfirinas, las clorinas y las bacterioclorinas (Figura 2).^[5] Representantes arquetípicos de estas tres clases de sistemas son el heme, constituyente de la hemoglobina, la clorofila, pigmento fotosintético de las plantas, y la bacterioclorofila, que ejerce idéntica función en las bacterias fotosintéticas (los colores de la Figura intentan reproducir de manera aproximada los de los compuestos representados). En todos los casos, el sistema tetrapirrólico actúa de ligando tetradentado que coordina a un átomo metálico central (cobalto en las cobamamidas, hierro en el heme y magnesio en las clorofilas).^[6] Conviene resaltar el hecho de que las moléculas representadas en la Figura 2, aunque difieren en el grado de insaturación global, contienen todas un sistema conjugado de 18 electrones, es decir, aromático según la regla de Hückel (se han resaltado en azul los carbonos que constituyen el sistema aromático). Como puede verse, la principal diferencia entre el sistema de corrina (Figura 1) y el de los otros pigmentos pirrólicos de la Figura 2 es que en aquella dos de los anillos de pirolo están directamente conectados por un enlace C-C.

Cofactores como **2** o **3** desempeñan papeles vitales en el metabolismo animal, incluyendo naturalmente el ser humano. Es interesante el hecho de que ningún organismo eucariota (animales, plantas, hongos y protistas) es capaz de biosintetizar estos compuestos, pues únicamente pueden hacerlo ciertos tipos de procariotas (bacterias). De hecho, las plantas no solamente no biosintetizan estos cofactores sino que tampoco los precisan para su metabolismo.^[7] Los animales, en cambio, sí los necesitan y deben por tanto incorporarlos mediante la dieta.

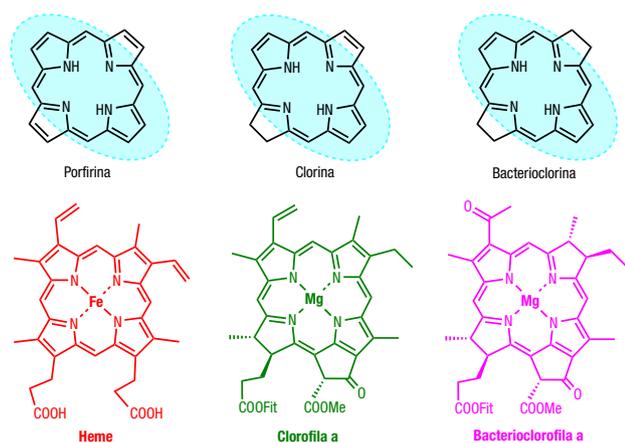


Figura 2. Tipos principales de sistemas tetrapirrólicos y ejemplos representativos (Fit corresponde al fragmento diterpénico de fitol)

En lo que sigue se van a discutir en primer lugar los esfuerzos desplegados para conseguir una síntesis total de la vitamina B₁₂ (**1**). La atención se centrará sobre todo en dos grupos, el constituido por la unión de Robert Burns Woodward y Albert Eschenmoser, quienes, junto con alrededor de un centenar de colaboradores, llegaron a completar dicha síntesis con éxito, y el de Robert V. Stevens, que estuvo cerca de conseguirlo. A continuación, se dedicará también una breve atención a los mecanismos de dos reacciones biológicas de importancia esencial para el ser humano, en las que están implicados los arriba mencionados cofactores **2** y **3**.

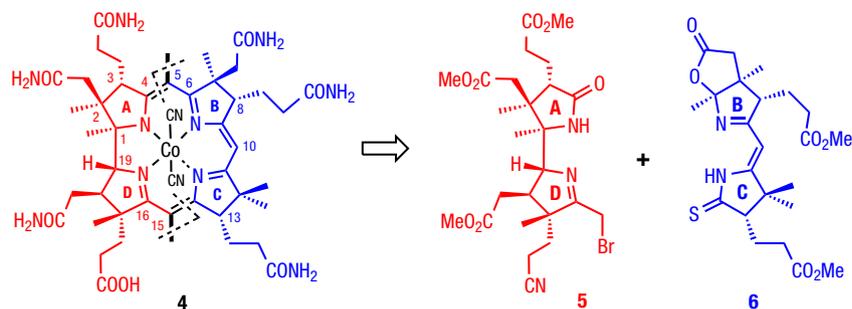
ASPECTOS SINTÉTICOS

Síntesis mediante la estrategia conjunta de Woodward-Eschenmoser

Dada la complejidad y belleza estructural de todos estos compuestos, no es de extrañar que atrajeran desde pronto la atención de los químicos sintéticos, y no precisamente de los menos relevantes. R. B. Woodward, de la Universidad de Harvard, premio Nobel de química en 1965, publicó en 1960 la primera y hasta ahora única síntesis total de la clorofila.^[8] Por otra parte, el propio Woodward^[9] y Eschenmoser,^[10] de la Escuela Politécnica Federal de Zúrich (ETH), llevaron a cabo a partir de los primeros años 60, inicialmente por separado y luego conjuntamente, la síntesis total de la vitamina B₁₂, culminada finalmente en los 70 como se describirá más adelante.

En términos estrictos, la diana sintética de ambos grupos no fue **1** sino la molécula algo más simple de ácido cobárico **4** (Esquema 1, con los carbonos de la periferia numerados y los cuatro anillos rotulados del modo usual como A-D), que se diferencia de **1** en la ausencia del bucle de tipo nucleotídico que conecta el átomo de cobalto con una de las cadenas laterales del sistema corrinoide.^[11] Ello se debió a que la conversión de **4** en **1** ya había sido llevada a cabo anteriormente por un grupo suizo.^[12]

Un aspecto importante es que la molécula de **4** contiene un total de 7 cadenas de ácido acético (2 carbonos) o propiónico (3 carbonos), de las que 6 están como amidas primarias mientras que la última, en el anillo D, está en forma de ácido libre, ya que es la que se une al bucle nucleotídico presente en **1**. Es evidente que cualquier plan sintético que se proponga para **4**, con vistas a una síntesis total de **1**, deberá mantener dicha diferenciación entre las cadenas laterales del sistema corrinoide. A la vista de ello se planteó lo que en términos actuales se llamaría un análisis retrosintético (Esquema 1) que divide la molécula de **4**, de un modo ciertamente no obvio a primera vista, en las dos mitades **5** (anillos AD) y **6** (anillos BC). Los grupos de amida primaria aparecen ahora como ésteres metílicos, mientras que la cadena lateral del anillo D está en forma de nitrilo por el motivo antes expresado de la diferenciación de las cadenas laterales. En la estructura **4**, los carbonos C-5 y C-15 aparecen con un código



Esquema 1. Desconexión retrosintética de 4 en las dos mitades 5 (segmento AD) y 6 (segmento BC)

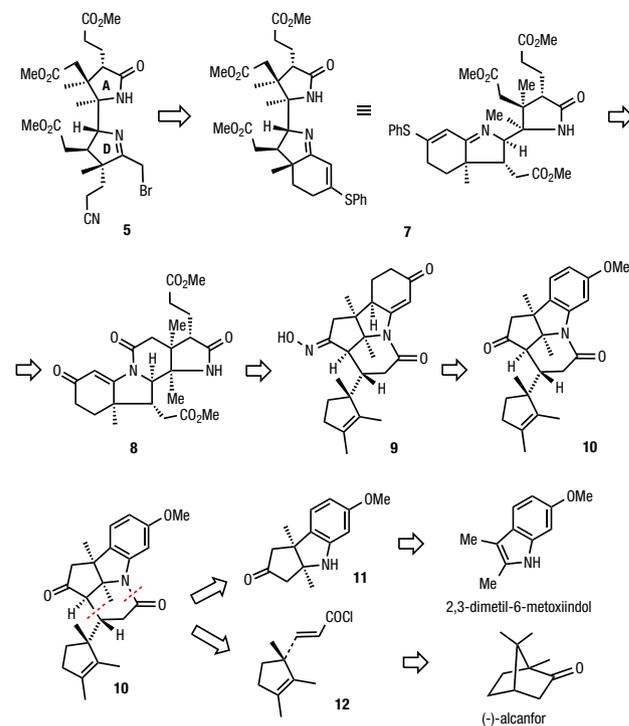
de color diferente, azul o rojo, resaltando el hecho de que proceden de los fragmentos 5 y 6, respectivamente, mientras que los dos metilos unidos a dichos carbonos aparecen en color negro, porque son incorporados en una fase más tardía de la síntesis. Dichos fragmentos 5 y 6 fueron los objetivos sintéticos respectivos de los grupos de Woodward y Eschenmoser.

Una diferencia estructural llamativa entre moléculas como 1-4, por un lado, y el heme y la clorofila, por otro es la ausencia o modesta presencia de estereocentros en estas dos últimas y la marcada abundancia de los mismos en las primeras. Incluso en el ejemplo más simple de 4, se puede observar la presencia de 9 estereocentros en la periferia del sistema corrinoide. El fragmento 5, asignado al grupo de Harvard, contiene 6 de dichos estereocentros, todos ellos consecutivos y situados en los dos anillos A y D, conectados por un enlace simple. Este último hecho y la flexibilidad rotacional que ello supone llevaron a descartar cualquier estrategia que implicase crear parte de los estereocentros en uno de los anillos y formar luego los del otro mediante transmisión de quiralidad. La estrategia aquí aplicada, muy frecuente en Woodward en síntesis tanto anteriores como posteriores a ésta, consistía en crear un sistema policíclico rígido sobre el cual las reacciones estereoselectivas pudieran llevarse a cabo de manera predecible. A continuación se procedía a romper los enlaces necesarios para dar el esqueleto atómico deseado. No se describirán en detalle todos y cada uno de los pasos del proceso sintético, lo cual requeriría más espacio del disponible, sino a marcar los puntos esenciales de la estrategia seguida. Algunos aspectos mecanísticos considerados particularmente significativos se describen con mayor detalle en las notas y referencias finales.

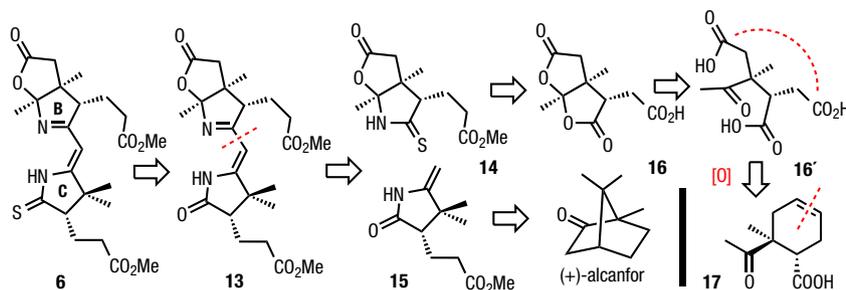
Para el fragmento 5, la estrategia viene descrita en la retrosíntesis del Esquema 2. Como puede verse, el bromonitrilo 5 fue obtenido a partir de la amina tricíclica 11 y el cloruro de ácido 12 mediante una serie de transformaciones funcionales a través de los intermedios 7-10. La amina 11 fue obtenida como racemato en dos pasos a partir de 2,3-dimetil-6-metoxiindol y luego fue resuelta en sus enantiómeros. El cloruro de ácido 12, ya descrito previamente, fue obtenido en forma enantiopura a partir de (-)-alcanfor.^[9a]

Como muestra el Esquema 2, la lactama 10 fue obtenida por acilación de 11 con 12 seguida de adición de

Michael intramolecular en medio básico, reacción que dio lugar a dos nuevos estereocentros de manera totalmente diastereoselectiva.^[13] La conversión de 10 en 9 implicó la reducción de Birch del anillo aromático,^[14] hidrólisis del enol éter resultante y conversión selectiva en oxima^[15] del carbonilo de ciclopentanona. Por su parte, 9 se transformó en la imida viníloga 8 mediante *O*-mesilación de la oxima, ruptura oxidante de los dos enlaces olefínicos (i: O_3 ; ii: HIO_4 ; iii: CH_2N_2), aldolización intramolecular de la dicetona resultante dando una ciclohexenona, ruptura oxidante del enlace C=C de la misma manera que antes y transposición de Beckmann, que convierte la oxima de ciclopentanona en δ -lactama.^[16] La conversión de 8 en 7 se llevó a cabo por apertura metanólica selectiva del anillo de δ -lactama (más reactivo por formar parte de una imida viníloga) en presencia de tiofenol. Se forma así una β -aminoenona



Esquema 2. Secuencia retrosintética desde 5 hacia los precursores 2,3-dimetil-6-metoxiindol y (-)-alcanfor



Esquema 3. Secuencia retrosintética desde **6** a los precursores simples **17** y (+)-alcanfor

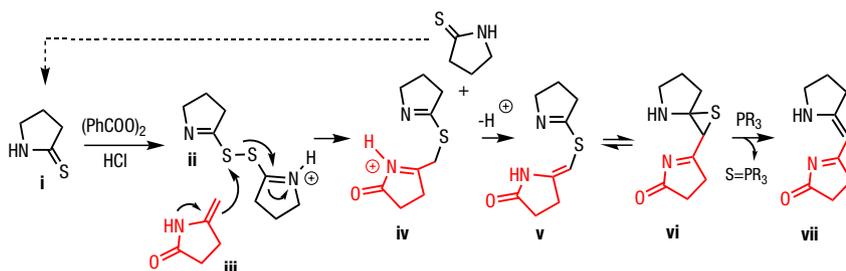
intermedia que reacciona con tiofenol en su grupo carbonilo dando, tras eliminación de agua, el vinil tioéter **7**.^[17] Finalmente, éste último se convirtió en **5** mediante ozonólisis del enlace olefínico, amonólisis del tioléster resultante para dar una amida primaria y conversión del grupo aldehído en bromometilo con métodos standard (i: reducción del aldehído a alcohol primario; ii: mesilación de éste último con anhídrido metanosulfónico; iii: tratamiento del mesilato con LiBr).^[17] Las condiciones de la mesilación causaron adicionalmente la deshidratación de la amida primaria para dar un nitrilo.^[9]

La síntesis del estereoquímicamente menos complejo segmento BC **6** corrió a cargo del grupo de la ETH.^[10] La retrosíntesis se detalla en el Esquema 3. El compuesto **6** se preparó mediante tionación (conversión de un carbonilo en tiocarbonilo) selectiva del carbonilo de lactama de **13**,^[18] obtenido a su vez por acoplamiento de la tiolactama **14** y la lactama **15** (ver comentarios más adelante). Esta última se obtuvo en forma enantiopura a partir de (+)-alcanfor siguiendo líneas ya establecidas previamente por J. W. Cornforth. Por su parte, **14** se sintetizó a partir del ácido **16** mediante homologación de Arndt-Eistert (SOCl₂; CH₂N₂; Ag₂O, MeOH, Δ), tratamiento con amoníaco en metanol para dar una monolactama y tionación selectiva con P₂S₅ del carbonilo lactámico. Finalmente, **16** fue obtenido (via **16'**, no aislado) por ruptura oxidante con CrO₃ del enlace olefínico en **17**, que es a su vez el aducto Diels-Alder de butadieno y ácido (*E*)-3-metil-4-oxobut-2-enoico (el aducto fue obtenido como racemato y resuelto luego en sus dos formas enantioméricas).

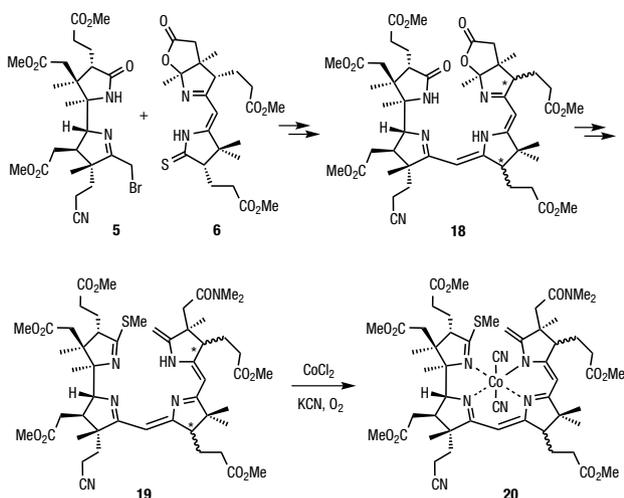
La formación de **13** a partir de **14** y **15** no es un paso mecanísticamente obvio y constituye una metodología original del grupo de la ETH, denominada por ellos

sulfide contraction method.^[10] La reacción implica el tratamiento de una mezcla de **14** y **15** con peróxido de benzoilo y HCl, seguida de desulfuración del producto intermedio con un reactivo de fósforo trivalente (fosfina o fosfito). El Esquema 4 representa sobre el ejemplo de un modelo simplificado el mecanismo propuesto para el proceso. La dimerización oxidante de la tiolactama **i** con peróxido de benzoilo en presencia de HCl da el disulfuro protonado **ii**. Uno de los átomos de azufre de éste es atacado por el carbono nucleofílico de la enamida **iii** para dar el sulfuro intermedio **v** (via **iv**) en equilibrio con el episulfuro **vi**. La desulfuración de éste con el derivado de fósforo trivalente da el producto final **vii**.

La conexión de los fragmentos **5** y **6** se llevó a cabo según se muestra en el Esquema 5. El tratamiento alcalino de una mezcla de dichos compuestos causó un desplazamiento S_N2 del bromo por el azufre de la tiolactama, dando un tioéter. La desulfuración de éste con una fosfina dio lugar al compuesto **18** de modo similar al expuesto en el Esquema 4, formándose así uno de los enlaces C-C entre ambas mitades. Una circunstancia desafortunada que acompañó desde entonces la síntesis fue la gran tendencia a la epimerización de determinados estereocentros del anillo de corrina (marcados abajo con asteriscos), lo cual obligó a llevar a cabo en más de una ocasión laboriosas separaciones de epímeros por medio de HPLC, una por entonces (1960-1975) muy novedosa técnica cromatográfica (casi cabría afirmar que inventada allí). Unas pocas modificaciones funcionales en **18** (doble tionación con P₂S₅ de los anillos lactámico y lactónico, S-metilación de la tiolactama con Me₃O⁺ BF₄⁻ y aminólisis del anillo tiolactónico por tratamiento con dimetilamina) dieron lugar al compuesto **19**.^[19] Este fue el



Esquema 4. Mecanismo propuesto para el acoplamiento de la tiolactama **i** con la enamida **iii** (*sulfide contraction method*)

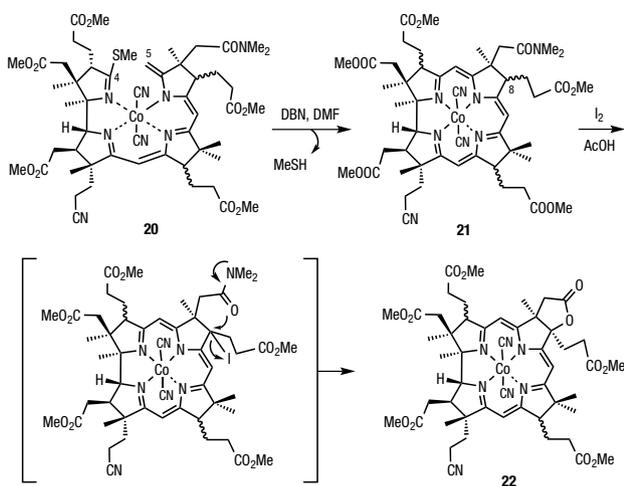


Esquema 5. Conversión de los precursores **5** y **6** en el complejo de cobalto **20**

momento elegido para la inserción del átomo de cobalto, cuya complejación obliga al sistema tetrapirrólico a adoptar una geometría fija (preorganización), apta para la posterior ciclación. Obsérvese que, si bien se añade al medio una sal de cobalto (II), al hacer la reacción al aire se forma por oxidación espontánea el complejo secocorrinoide de cobalto (III) **20**, más estable.

La formación del segundo enlace C-C y cierre del sistema corrinoide se llevó a cabo en el complejo **20** (Esquema 6). Tratamiento de éste último con base (DBN) produjo la unión del carbono electrofílico del imino-éter (C-4) con el nucleofílico de la enamina (C-5) dando, tras eliminación de MeSH, el intermedio **21**. Éste, tratado con I₂ en ácido acético,^[20] dio **22**. Como ya se ha comentado antes, siguió siendo preciso llevar periódicamente a cabo separaciones de diastereoisómeros por medio de HPLC.

Con el sistema corrinoide ya construido, uno de los aspectos que falta por completar es la introducción de los



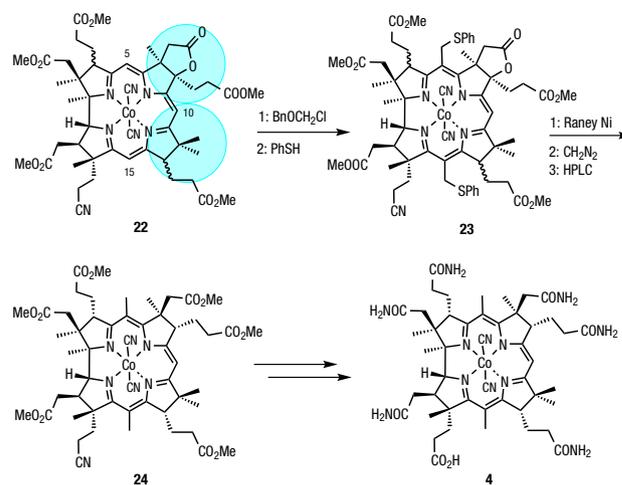
Esquema 6. Ciclación de **20** para dar el derivado corrinoide **22** via **21** y un mecanismo plausible para la conversión de **21** en **22**

dos grupos metilo unidos a las posiciones C-5 y C-15 de dicho sistema. Esto se llevó a cabo mediante alquilación de **22** con bencil clorometiléter (BnOCH₂Cl) para dar un bis-5,15-(clorometil) derivado intermedio. Éste no se aisló sino que se trató *in situ* con PhSH, causando la sustitución de los restos benciloxi por PhS y dando **23**.^[21] Obsérvese que la alquilación no afecta al carbono C-10, de reactividad en principio similar a la de C-5 y C-15 desde el punto de vista electrónico. Ello se atribuye a la mayor congestión estérica que afecta a dicha posición (véase la estructura **22** en el Esquema 7).

El tratamiento de **23** con níquel Raney causó la esperada desulfuración reductora así como también la hidrogenólisis del enlace C-O del anillo lactónico. El grupo carboxilo así liberado fue metilado (CH₂N₂) para dar, tras separación de diastereoisómeros con HPLC, el hexaéster **24**. La conversión selectiva del grupo nitrilo en carboxilo, seguida de amonólisis de los grupos éster dio finalmente el ácido cobárico **4**. Como ya se ha comentado antes, la conversión de éste último en vitamina B₁₂ había sido descrita previamente en la bibliografía,^[12] con lo cual la síntesis total de ésta última quedaba ya formalmente completada.

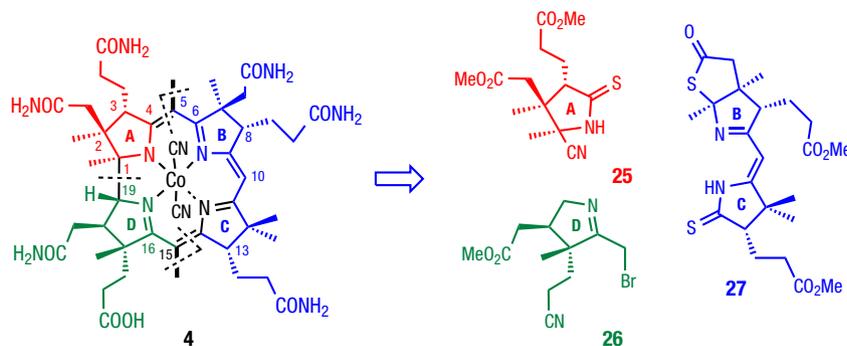
Síntesis mediante la estrategia de Eschenmoser

Aunque todo lo que acaba de describirse fue llevado a cabo conjuntamente en Harvard y Zürich, éste último grupo desarrolló paralelamente otra aproximación adicional a **4** por una vía algo distinta, plasmada en formato



Esquema 7. Pasos finales de la síntesis del ácido cobárico **4** (nótese el bloqueo estérico en C-10)

retrosintético en el Esquema 8. Al igual que en el Esquema 1, los carbonos C-5 y C-15 aparecen con un código de color diferente, rojo, verde o azul, para indicar el hecho de que proceden de los fragmentos **25**, **26** y **27**, respectivamente. Nuevamente, los dos metilos unidos a dichos carbonos aparecen en negro, por el mismo motivo que se

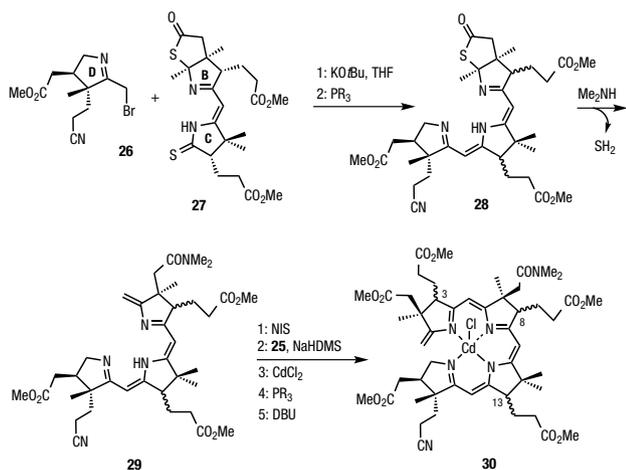


Esquema 8. Desconexión retrosintética alternativa de 4

comentó entonces. Obsérvese que el precursor **27** es casi idéntico al compuesto **13**, ya utilizado por el grupo de Zürich en la otra síntesis (Esquema 3). De hecho, **27** se obtuvo a partir de **13** mediante tionación doble con P₂S₅ de las funciones de lactona y lactama.^[18] Los precursores **25** y **26** se prepararon a su vez mediante metodologías parecidas a las antes vistas.

La conexión secuencial de los fragmentos **25**, **26** y **27** se llevó a cabo asimismo según líneas similares a las ya vistas en la síntesis anterior con uso del antes mencionado *sulfide contraction method*, tal como se describe en el Esquema 9.

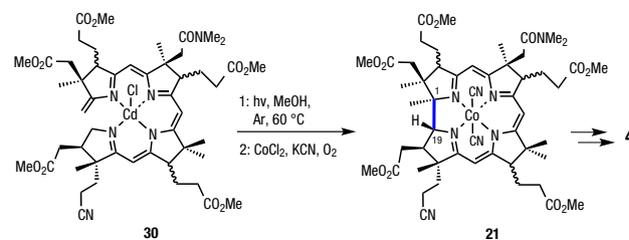
El desplazamiento S_N2 del bromo en **26** por el azufre de la tiolactama en **27**, seguido de desulfuración dio un intermedio tripirrólico **28** que contenía los anillos B, C y D del sistema corrinoide. La reacción guarda evidentes similitudes con la reacción de **5** y **6** para dar **18**, vista en el Esquema 5. El tratamiento de **28** con dimetilamina causó apertura aminolítica del anillo de tiolactona y eliminación de SH₂, dando **29**. La construcción del anillo pirrólico A se llevó a cabo mediante activación electrofílica del metileno exocíclico del anillo B con N-yosuccinimida (NIS) y sustitución del yoduro resultante por el átomo nucleofílico de azufre de la tiolactama **25**. Sobre la base del mismo concepto anteriormente comentado de bloqueo conformacional del sistema abierto, se insertó



Esquema 9. Construcción del sistema A/D-secocorrinoide 30

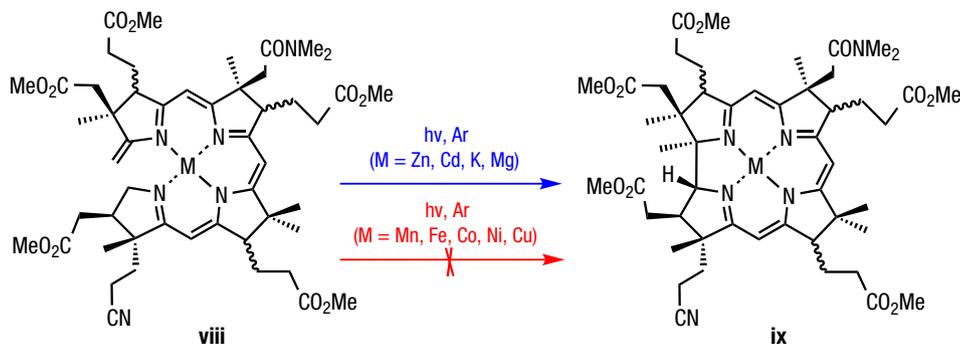
entonces un átomo metálico, que en este caso fue cadmio (ver más adelante comentarios sobre esto). Desulfuración del modo ya conocido (PR₃) y tratamiento básico con DBU causó eliminación de HCN dando el complejo A/D-secocorrinoide **30** con el metileno exocíclico en el anillo A, aspecto clave para la reacción que se va a comentar a continuación. Dicho sea de paso, esta secuencia sufre también de la misma pertinaz tendencia de determinados estereocentros (aquí C-3, C-8 y C-13) a experimentar epimerización bajo determinadas condiciones de reacción, obligando con ello a laboriosas separaciones por HPLC.

El paso realmente original de la síntesis del grupo de la ETH fue la conversión fotoquímica del complejo **30** en el ya conocido **21**, con el sistema corrinoide instalado. Bajo las condiciones empleadas (luz visible, argón, 60 °C) se produjo conexión de los carbonos C-1 y C-19 de modo altamente diastereoselectivo (Esquema 10). En estas condiciones se produjo también la descomplejación del átomo de cadmio. El intermedio resultante no se aisló sino que se trató directamente con CoCl₂/KCN/aire (ver Esquema 5) dando **21**, cuya conversión en ácido cobálico **4** se ha descrito ya en los Esquemas 6 y 7.



Esquema 10. Pasos finales de la síntesis alternativa del ácido cobálico 4

Este poco usual método de construir el sistema corrinoide merece ciertamente comentario. Para empezar, se constató tanto en experimentos con compuestos modelo simples como con precursores de corrinas naturales tales como **viii** (Esquema 11) la estrecha relación existente entre el éxito del proceso y la naturaleza del átomo metálico central. De entre los diversos metales ensayados para la ciclación **viii** → **ix**, los mejores resultados en cuanto a rendimiento y velocidad de reacción se observaron con



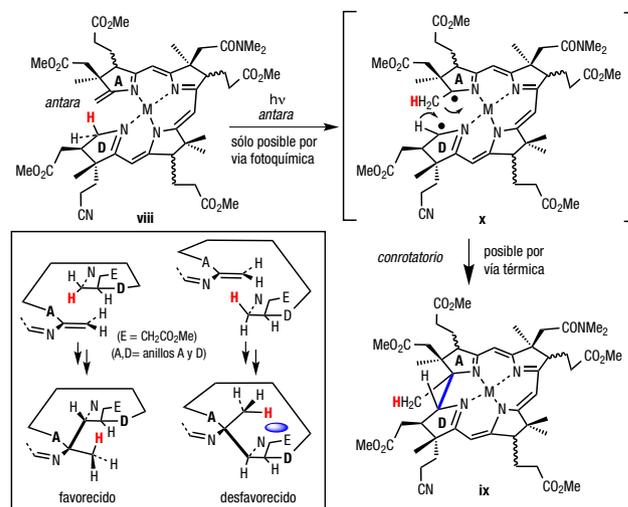
Esquema 11. Cierre fotoquímico del sistema de secocorrina viii a corrina ix (M = metal + ligandos)

complejos de zinc y cadmio, pero también con metales alcalinos o alcalinotérreos tales como K o Mg. El proceso se mostró muy sensible a la presencia de trazas de oxígeno, y tuvo que ser llevado a cabo bajo atmósfera de argón.

Notablemente, fallaron por completo los intentos de ciclación con complejos de metales de transición de la primera fila tales como Mn, Fe, Co, Ni o Cu. Una situación intermedia se dio en los complejos de Pd o Pt, que sí reaccionaron aunque más lentamente que los de Zn o Cd (además, y en contraste con las anteriores, estas reacciones con Pd y Pt mostraron ser poco sensibles a la presencia de oxígeno).^[22] Es de resaltar el hecho de que los metales que funcionan bien son metales electrónicamente inertes (capas *d* completas) mientras que los que no funcionan son los que muestran gran eficacia en procesos de paralización (*quenching*) de la excitación electrónica por poseer estados *d* de baja energía.

Como ya se ha dicho antes, la ciclación es altamente diastereoselectiva. No está de más recordar ahora que un utilísimo “subproducto lateral” del proyecto de la vitamina B₁₂ fue el desarrollo de las reglas de simetría orbital de Woodward-Hoffmann,^[23] que marcan el curso de las reacciones pericíclicas. En este caso, el cierre global fotoquímico del sistema secocorrinoide viii → ix se define como un proceso en dos pasos de tipo pericíclico: a) el primer paso, y limitante de la velocidad del proceso, es una transposición sigmatrópica 1,16 en la que un hidrógeno de la posición 19, en el anillo D, es transferido al carbono exo-metilénico del anillo A, que se convierte en metilo (Esquema 10). Se piensa que este paso tiene lugar a través de un estado excitado triplete, representado de manera aproximada como **x** (Esquema 12). Esta idea se ve apoyada por la fácil paralización del proceso por parte de diversas especies triplete tales como O₂. La reacción tiene lugar con un transcurso *antara*, hecho facilitado por la topología helicoidal del complejo secocorrinoide (el Esquema 12 muestra los dos transcurso estereoquímicos posibles de los cuales sólo se observa uno, precisamente el que conduce al producto natural, muy probablemente por razones estéricas). De acuerdo con las reglas de Woodward-Hoffmann, un proceso así sólo puede tener lugar por vía fotoquímica. b) el segundo paso es definido por los autores como un cierre electrocíclico en un sistema de 16 electrones con transcurso conrotatorio,^[24]

permitido por tanto por vía térmica. Ello no obstante, no existe aún total certidumbre sobre la naturaleza exacta de la especie intermedia, que puede ser **x** o alguna otra.



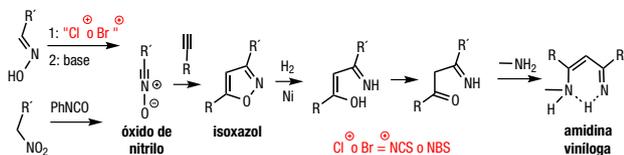
Esquema 12. Posible mecanismo para el cierre fotoquímico viii → ix

La estrategia de Stevens

Después de la monumental hazaña de Woodward y Eschenmoser con la síntesis total de la vitamina B₁₂, otros tres grupos al menos han afrontado la difícil tarea que supone esta intimidante, a la par que fascinante molécula. Ninguno lo consiguió si bien, en al menos en dos de ellos, no está del todo claro que la intención fuera realmente completar la síntesis total sino más bien el desarrollo de metodología adecuada para la conexión de los fragmentos pirrólicos.^[25] Quien sí se propuso la síntesis total y no anduvo muy lejos de conseguirla fue R. V. Stevens, por entonces en la Rice University y más tarde en la Universidad de California en Los Ángeles. Si bien el proyecto tuvo que ser abandonado por el prematuro fallecimiento de Stevens, su concepto estratégico era sumamente imaginativo y merece una discusión.

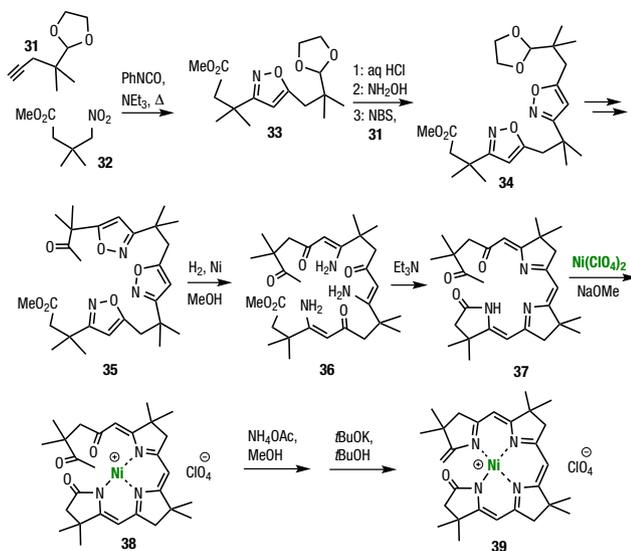
La síntesis de Woodward-Eschenmoser así como también resultados anteriores no publicados de Cornforth sirvieron indudablemente de fuente de inspiración para

el proyecto de Stevens. La idea central era crear los sistemas de amidina viníloga propios de la molécula objetivo por hidrogenólisis del enlace N–O en isoxazoles, creados a su vez mediante metodologías heterocíclicas standard, en este caso la cicloadición 1,3-dipolar de óxidos de nitrilo a alquinos (Esquema 13). Los óxidos de nitrilo se pueden obtener *in situ* bien a partir de oximas por halogenación electrofílica con una N-halosuccinimida (NCS o NBS) o con *t*BuOCl, seguida de tratamiento con una base, o también por deshidratación de nitroderivados con isocianato de fenilo.



Esquema 13. Formación de amidinas vinílogas

Usando compuestos modelo de estructura simple, Stevens llevó a cabo la secuencia de reacciones descrita en el Esquema 14, en donde cada nuevo anillo de isoxazol se añadió mediante una cicloadición 1,3-dipolar del tipo antes mencionado.



Esquema 14. Experimentos con compuestos modelo simples

Se obtuvo de este modo el tris(isoxazol) **35**, cuya hidrogenólisis generó **36**. Tratamiento básico de éste dio lugar a la condensación de los carbonilos con los grupos NH₂ más cercanos, formándose **37**. Inserción de níquel, formación del anillo restante de pirrol por reacción con NH₃ y tratamiento básico con *t*BuOK generó finalmente el sistema tetrapirrólico **39**, intermedio avanzado en la vía hacia un sistema corrinoide. De acuerdo con esta idea básica, y animado por los prometedores resultados con los compuestos modelo, el grupo de Stevens preparó de manera estereoselectiva los cuatro precursores **40-43**

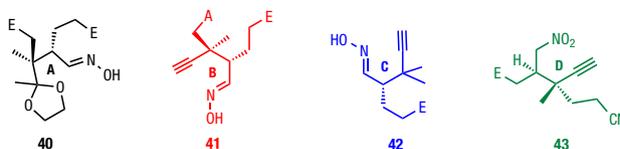
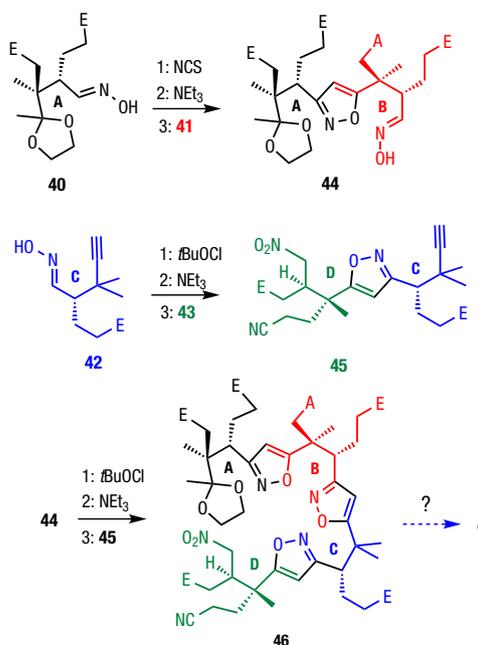


Figura 3. Precusores clave en la síntesis de Stevens (A = CONMe₂; E = CO₂Me)

(Figura 3), que contienen los gérmenes de los futuros anillos A-D de la vitamina B₁₂.^[26]

La conexión de los cuatro fragmentos tuvo lugar de un modo altamente convergente en el orden **40** + **41** + (**42** + **43**),^[27] según se expresa en el Esquema 15. La cloración de la oxima **40** con NCS seguida de adición de trietilamina dio un óxido de nitrilo que se hizo reaccionar *in situ* con **41** dando el isoxazol **44**. Una secuencia similar con la oxima **42** y el alquino **43**, esta vez usando hipoclorito de *t*-butilo como agente clorante, dio el isoxazol **45**. Finalmente, la conexión de **44** y **45** utilizando la misma metodología dio el tris(isoxazol) **46**, que fue el intermedio más avanzado en la vía hacia **4** que pudo llegar a prepararse. Sólo cabe imaginar ahora cómo habrían sido las cosas de no haberse producido el óbito de Stevens.



Esquema 15. Síntesis del intermedio avanzado **46** en la vía hacia el ácido cobálico **4** (A, E: ver Figura 3)

MECANISMOS BIOLÓGICOS DE REACCIÓN

Dentro de una discusión relativa a la vitamina B₁₂, no parece apropiado pasar por alto sin mención las bases bioquímicas de su vital necesidad como factor vitamínico para el ser humano. Como se ha dicho antes, la importancia de esta vitamina en la salud humana llamó la atención hace cerca de un siglo, cuando se identificó su

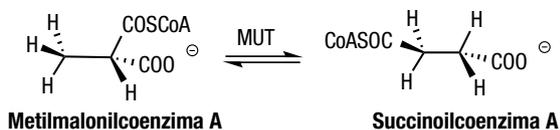
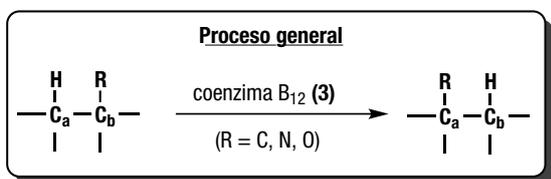
déficit como una causa primaria de la anemia perniciosa, entre otras afecciones. En lo que sigue se van a comentar brevemente algunos aspectos de los mecanismos de dos de las reacciones biológicas catalizadas por cofactores relacionados con dicha vitamina, muchas de las cuales tienen lugar a través de intermedios radicalarios. Por su mayor importancia para el ser humano, la discusión se centrará en los cofactores **2** y **3** (Figura 1).

Las reacciones radicalarias, aunque conocidas ya desde el siglo XIX, no han gozado siempre de gran predicamento en la comunidad orgánica a causa de su supuesta naturaleza anárquica, poco fácil de someter a control.^[28] Sólo en las últimas décadas del siglo XX han comenzado dichas reacciones a ocupar un papel de relevancia en el arsenal sintético y a ser tenidas en cuenta, por ejemplo, en el diseño de secuencias de síntesis.^[29] En consonancia con esto, se reconoció también en las últimas décadas del pasado siglo que hay una amplísima gama de reacciones biológicas que transcurren a través de intermedios radicalarios, reacciones que ocupan un papel clave en una notable cantidad de procesos bioquímicos.^[30]

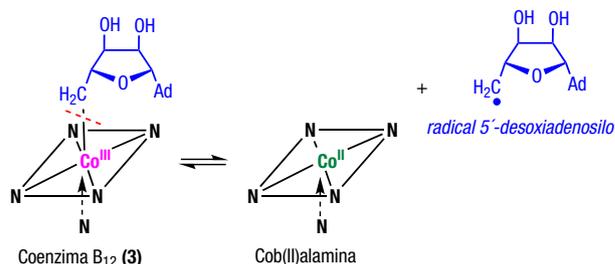
Centrándose para empezar en los casos de **2** (MeCbl) y **3** (AdoCbl), son muy variados los procesos catalizados por dichos cofactores.^[31] Dichos procesos siguen un perfil mecanístico muy diferente de la mayoría de las reacciones comunes de síntesis orgánica. Por ejemplo, varias reacciones de transposición esquelética catalizadas por enzimas denominadas mutasas o isomerasas dependientes de **3** siguen el esquema general expuesto en el Esquema 16.^[32] Un ejemplo concreto de tal reacción, y el único relevante en el metabolismo de los mamíferos, es la conversión de metilmalonilcoenzima A, producto derivado del catabolismo de los ácidos grasos de cadena impar, en succinilcoenzima A. Este proceso es catalizado por el enzima mitocondrial metilmalonil coenzima A mutasa (MUT), tal como se expone en dicho Esquema.

Un elemento clave para el funcionamiento de **3** como cofactor enzimático es la facilidad de ruptura homolítica del enlace covalente Co–C, cuya energía de disociación ha sido estimada en unas 30-31 kcal/mol (Esquema 17).^[33]

El radical 5'-desoxiadenosilo, generado mediante esta homólisis, abstrae un átomo de hidrógeno del sustrato **S1** convirtiéndose temporalmente en 5'-desoxiadenosina (Es-



Esquema 16. Reacción general de las mutasas dependientes de **3** y un ejemplo de tal reacción con metilmalonil coenzima A mutasa (MUT)

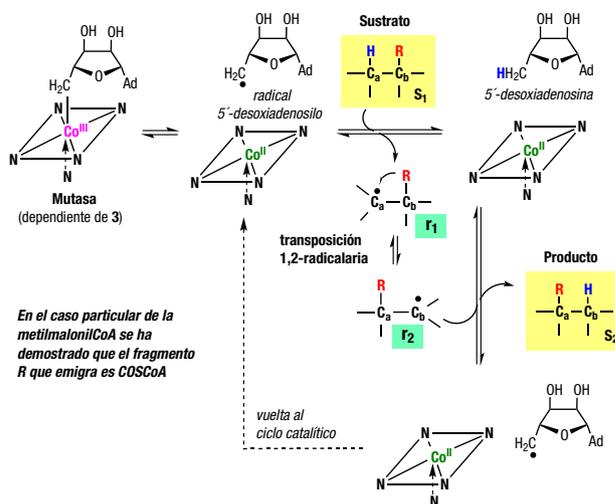


Esquema 17. Formación del radical 5'-desoxiadenosilo

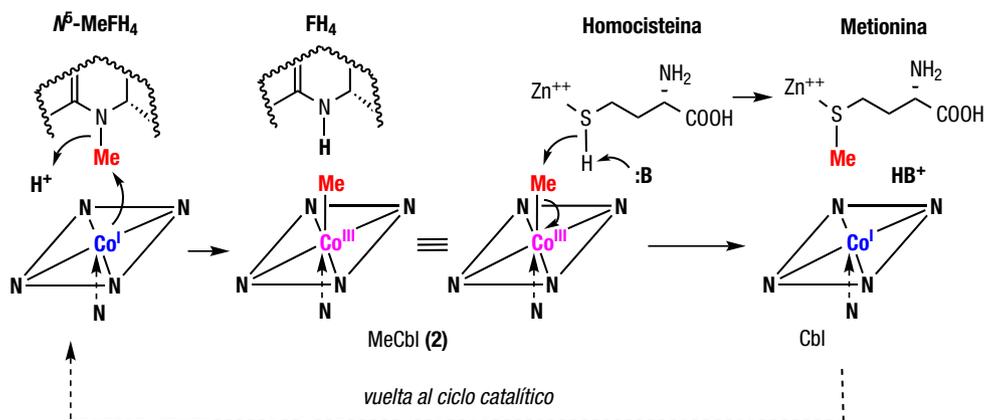
quema 18). El sustrato se convierte entonces en un radical carbonado **r1**, que experimenta a continuación una transposición 1,2 radicalaria^[32] del fragmento R, que puede ser carbonado, nitrogenado u oxigenado. El nuevo radical recién formado **r2** “recupera”, por así decirlo, su átomo de hidrógeno del metilo de la 5'-desoxiadenosina, convirtiéndose en el producto final **S2**. Se regenera de este modo el radical 5'-desoxiadenosilo, que regresa al ciclo catalítico.^[34] Como puede verse en el Esquema, el átomo de cobalto oscila entre los estados de oxidación +2 y +3.

Aunque es apreciable el número conocido de enzimas del tipo acilcoenzima A mutasa, la mayoría de ellas actúa sólo en bacterias. Únicamente la metilmalonil coenzima A mutasa juega un papel relevante en el metabolismo de los mamíferos, incluidos los seres humanos. En éstos últimos, una deficiencia del enzima da lugar a una acumulación del metabolito metilmalonato, lo cual constituye una afección hereditaria autosómica recesiva denominada aciduria metilmalónica,^[35] cuya evolución puede llegar a ser grave en determinados casos.^[36]

El otro cofactor de tipo cobamamida importante para organismos animales es la metilcobalamina (MeCbl, **2**). Este cofactor participa en una amplia gama de procesos que tienen por resultado una metilación del sustrato implicado en la reacción.^[31,37] De estos procesos, el único importante para el ser humano es la metilación del



Esquema 18. Mecanismo general de los enzimas de tipo mutasa dependientes de coenzima B₁₂ (AdoCbl, **3**)



Esquema 19. Reacción general de enzimas dependientes de MeCbl (2) ilustrada con el ejemplo de la metionina sintetasa

aminoácido homocisteína para dar metionina, proceso catalizado por metionina sintetasa, enzima citosólico dependiente de **2**.^[37-39] El Esquema 19 muestra el mecanismo del proceso, en el que la ruptura del enlace Co–C es ahora heterolítica y el cobalto circula entre los estados de oxidación +1 y +3. A diferencia del mecanismo anterior, no hay aquí especies radicalarias implicadas.^[40] La metilación de la homocisteína tiene lugar en un paso equiparable a una sustitución S_N2 en la que el azufre de la homocisteína es el nucleófilo y el Co⁺³ el grupo saliente, actuando un catión Zn⁺² como catalizador ácido de Lewis. Se produce así la conversión de MeCbl (Co⁺³) en Cbl (Co⁺¹). El grupo metilo necesario para la regeneración del cofactor MeCbl es proporcionado por otro cofactor, N⁵-metiltetrahidrofolato (N⁵-MeFH₄),^[41] que se convierte así en tetrahidrofolato (FH₄) a través de otra sustitución S_N2 en la que el nucleófilo es ahora el Co⁺¹. Nótese que en esta última reacción un átomo de nitrógeno actúa ahora como grupo saliente, algo muy poco frecuente en sustituciones nucleofílicas.

CONCLUSIÓN

La síntesis total de la vitamina B₁₂ representó, en el momento en que se la culminó, una verdadera cima de la síntesis orgánica. Nunca antes había sucumbido a una síntesis total una molécula de tamaño dificultad estructural y, de hecho, aún tardarían bastante tiempo en hacerlo otras de complejidad comparable. Incluso dentro de la inigualable carrera de R. B. Woodward, la vitamina B₁₂ representó asimismo una meta difícil de superar. Hubiera sido muy interesante también poder ver la culminación de la síntesis por el grupo de Stevens, cuya elegancia conceptual no hubiera estado por debajo del esfuerzo conjunto de Woodward y Eschenmoser. En cualquier caso, resulta significativo que, desde hace más de 30 años, nadie más haya emprendido seriamente la escalada de este particular Monte Everest sintético.^[25] Aparte de todo esto, y como resultado “colateral” del

proyecto, el esfuerzo sintético desplegado por estos dos últimos investigadores llevó a desarrollar un cuerpo de doctrina de tan enorme importancia en Química Orgánica como son las reglas de Woodward-Hoffmann. No cabe albergar muchas dudas de que Woodward (1917-1979), de haber vivido al menos tres años más, habría compartido el Premio Nobel de 1981 con K. Fukui y R. Hoffmann.

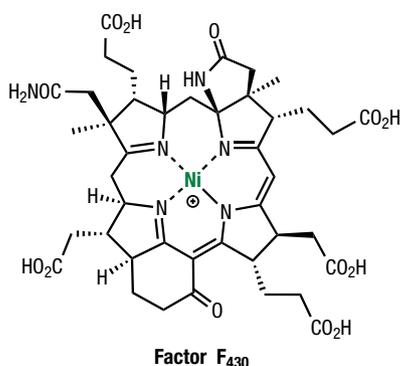
Todo lo anteriormente presentado no constituye desde luego la totalidad de lo que se ha investigado y se sigue investigando en el campo de la vitamina B₁₂. La limitación de espacio impide discutir aquí otras facetas igualmente interesantes. Hubiera sido deseable poder hablar, por ejemplo, de las fascinantes secuencias biosintéticas que utiliza la Naturaleza para generar coenzima B₁₂ y otros cofactores pirrólicos similares.^[42] Otro punto adicional de interés son las recientemente descubiertas reacciones sintéticas promovidas por análogos no naturales^[11,43] de la vitamina B₁₂, que se están utilizando en reacciones de formación de enlaces C–C. Los mismos mecanismos biológicos de estos cofactores de tipo cobamamida han servido y sirven también de inspiración para el diseño de muchos otros tipos de reactivos útiles. Por ejemplo, dada la actividad deshalogenasa exhibida por varios de estos cofactores, se podrían diseñar reacciones de tipo “verde” beneficiosas para el medio ambiente, tales como tratamiento de suelos contaminados por compuestos orgánicos halogenados.^[44] No cabe duda, por tanto, de que el gran interés despertado en su momento por el factor antianemia pernicioso no ha decaído en absoluto casi un siglo más tarde.

AGRADECIMIENTOS

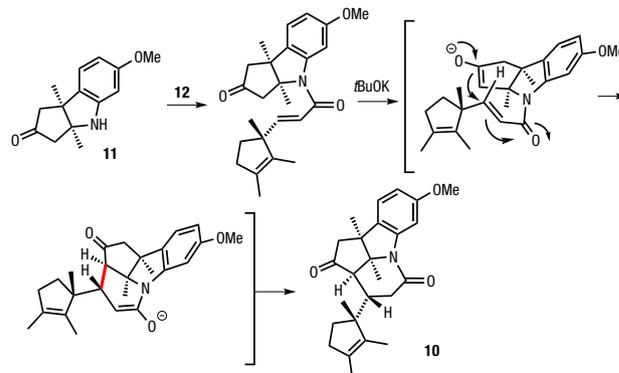
Quiero hacer constar aquí mi agradecimiento a todos aquellos con los que he compartido mi carrera de investigador, así como también a las instituciones ministeriales que han financiado mi actividad investigadora a lo largo de todos estos años.

BIBLIOGRAFÍA

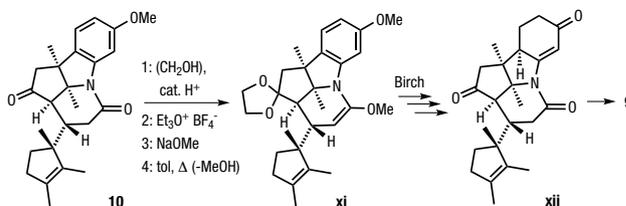
- [1] Ver revisión histórica y citas previas en: A. W. Johnson, *Chem. Soc. Rev.* **1980**, *9*, 125-141.
- [2] R. Bonnett, *Chem. Rev.* **1963**, *63*, 573-605.
- [3] J. Stubbe, *Science* **1994**, *266*, 1663-1664.
- [4] K. J. Kennedy, M. E. Taga, *Curr. Biol.* **2020**, *30*, R55-R56.
- [5] (a) M. O. Senge, S. A. MacGowan, J. M. O'Brien, *Chem. Comm.* **2015**, *51*, 17031-17063. (b) Y. Liu, S. Zhang, J. S. Lindsey, *Nat. Prod. Rep.* **2018**, *35*, 879-901.
- [6] A estos tres metales hay que añadirles el níquel, componente de varios cofactores con unos ligandos tetrapirrólicos llamados hidrocorfinas, de estructura similar a los de la Figura 2. Estos cofactores, uno de los cuales (F₄₃₀) se muestra abajo, están presentes en bacterias metanogénicas y metanotróficas pero no son objeto de comentario específico en el presente manuscrito. Véase al respecto: (a) A. Eschenmoser, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1986**, *471*, 108-129; (b) R. K. Thauer, *Biochemistry* **2019**, *58*, 5198-5220.



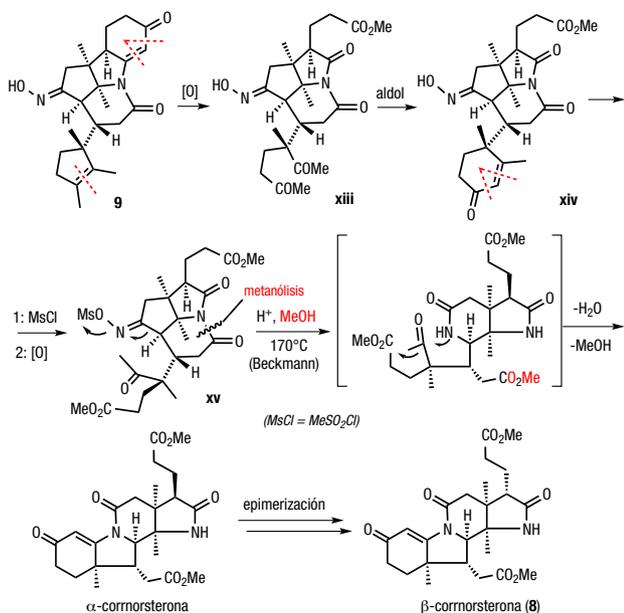
- [7] E. Raux, H. L. Schubert, J. M. Roper, K. S. Wilson, M. J. Warren, *Bioorg. Chem.* **1999**, *27*, 100-118.
- [8] R. B. Woodward, *Angew. Chem.* **1960**, *72*, 651-662. La descripción completa de la síntesis, incluyendo todos los detalles experimentales, apareció mucho tiempo más tarde: R. B. Woodward, W. A. Ayer, J. M. Beaton, F. Bickelhaupt, R. Bonnett, P. Buchschacher, G. L. Closs, H. Dutler, J. Hannah, F. P. Hauck, S. Itô, A. Langemann, E. Le Goff, W. Leimgruber, W. Lwowsky, J. Sauer, Z. Valenta, H. Volz, *Tetrahedron* **1990**, *46*, 7599-7659. Es quizá digno de mención el hecho de que se ha formulado algún comentario crítico acerca de lo realmente "completo" de esta síntesis total (ver cita 5b).
- [9] (a) R. B. Woodward, *Pure Appl. Chem.* **1968**, *17*, 519-547. (b) R. B. Woodward, *Pure Appl. Chem.* **1973**, *33*, 145-177.
- [10] (a) A. Eschenmoser, *Naturwissenschaften* **1974**, *61*, 513-525. (b) A. Eschenmoser, C. E. Wintner, *Science* **1977**, *196*, 1410-1420.
- [11] Para la nomenclatura de derivados corrinoides, ver: K. o' Proinsias, M. Giedyk, D. Gryko, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 6605-6619.
- [12] W. Friedrich, G. Gross, K. Bernhauer, P. Zeller, *Helv. Chim. Acta* **1960**, *43*, 704-712.
- [13] La formación de **10** a partir de **11** y **12** tuvo lugar del modo siguiente:



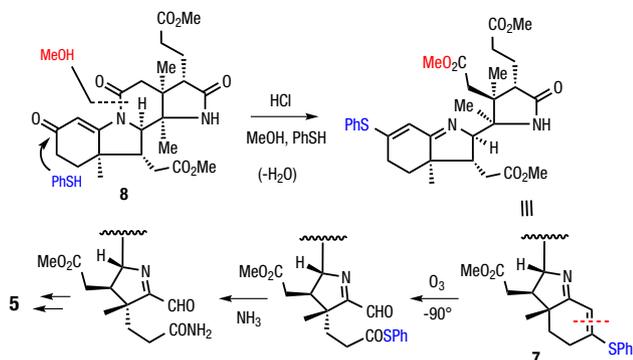
- [14] La reducción de Birch, necesaria para la conversión de **10** en **9**, requirió protección temporal de los carbonilos cetónico (como acetal) y lactámico (como α-metoxienamina), como se muestra abajo, para dar el compuesto **xi**. Tras la reducción de Birch de **xi**, el tratamiento ácido posterior en condiciones suaves causó: 1) hidrólisis del metil enol éter generado en la reducción; 2) escisión de los dos grupos protectores arriba mencionados; 3) migración del enlace C=C formado en la reducción de Birch para conjugarse con el carbonilo. Esto generó la dicetona **xii** abajo indicada, convertida luego en la monooxima **9** (ver la cita siguiente).



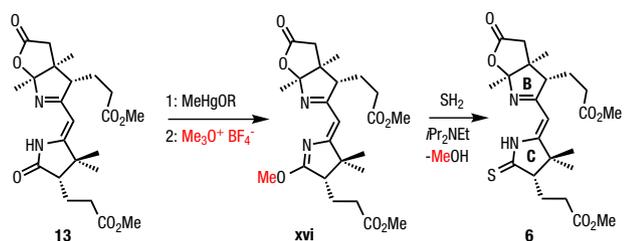
- [15] En realidad, la oximación de **xii** (ver arriba) tuvo lugar en ambos carbonilos cetónicos pero luego se pudo hidrolizar selectivamente la oxima del anillo de ciclohexenona, menos impedida estéricamente que la del anillo pentagonal, para dar la monooxima **9**. Es de resaltar aquí el hecho de que, quizá también en parte por motivos estéricos, el enlace C=N de la oxima resistió los dos pasos siguientes de ozonólisis, hecho no garantizable de antemano.
- [16] La conversión de **9** en **8** implica una larga serie de pasos a través de los intermedios **xiii-xv**, abajo representados. Desde el punto de vista mecanístico, el más complejo de ellos es el que tiene lugar durante la transposición de Beckmann, pues no sólo se produce la transposición en sí, sino también un ataque intramolecular del nitrógeno de la δ-lactama recién formada al carbonilo cetónico, con formación de una enamina que ataca seguidamente al carbonilo del éster (se produce además la apertura metanólica del anillo de δ-lactama presente en **xv**). El producto final fue una β-amino-α,β-enona cíclica, llamada informalmente α-cormnorsterona en el grupo de Harvard, por ser precursor de una corrina y tener una estructura que recordaba a la de un sistema de tipo noresteroide. En condiciones alcalinas (ver detalles en la cita 9), dicha aminoenona se convirtió en su epímero **8** (denominado entonces β-cormnorsterona).



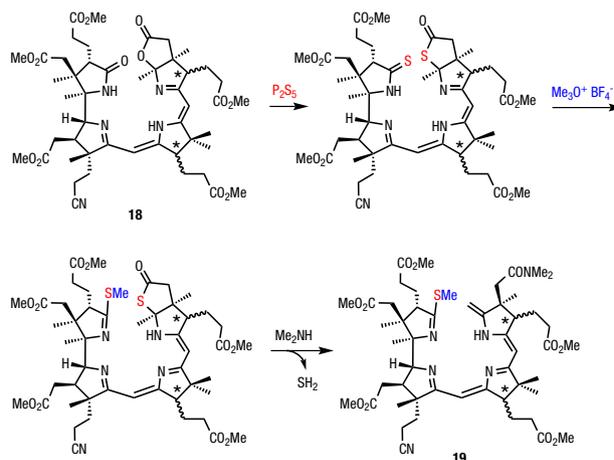
[17] La secuencia de pasos que va desde **8** hasta **5** via **7** es la siguiente e implica una apertura metanólica selectiva del anillo de δ -lactama:



[18] La tiónación de **13** con el reactivo más comúnmente usado en estos casos (P₂S₅) tuvo lugar sin ninguna diferenciación en las funciones lactámica y lactónica (compárese con el esquema de la cita 19). Para tener una tiónación selectiva del carbonilo de lactama, como se requiere para la síntesis de **6**, hubo que recurrir a un método diferente por pasos a través del iminoéter intermedio **xvi**:

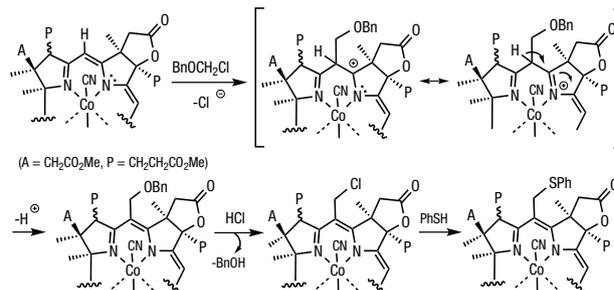


[19] La secuencia de pasos entre **18** y **19** es la siguiente (se han marcado* los estereocentros epimerizables):



[20] Como se sugiere en el Esquema 6, este paso implicó probablemente yodación en C-8, posición activada electrónicamente por el grupo de imina vinílica del anillo C, seguida de desplazamiento nucleofílico intramolecular del yodo por el carbonilo de la dimetilamida e hidrólisis subsiguiente en el *work-up*.

[21] Con gran probabilidad, la reacción con BnOCH₂Cl es asimilable en su mecanismo a una alquilación de tipo Friedel-Crafts del electrónicamente rico sistema π (metaloenamino) y da lugar inicialmente a un bis-C-5,C-15-(benciloximetil) derivado. En el medio ácido de la reacción, en la que se genera HCl, los dos OBn son sustituidos por cloros, muy probablemente por un mecanismo de tipo S_N1. Tras adición de PhSH, los cloros son reemplazados por SPh.



Esta secuencia no dio unos rendimientos demasiado buenos, pero no se consiguió mejorarlos. En el plan inicial, la alquilación prevista implicaba el uso de MeOCH₂Cl pero, por desgracia, este reactivo, si bien funcionó con mayor eficiencia que BnOCH₂Cl, afectó también de modo inesperado al grupo nitrilo convirtiéndolo en CO₂Me y anulando con ello la diferenciación que existía inicialmente entre las cadenas laterales mencionada en el texto (es muy interesante e ilustrativo leer al respecto los comentarios de los autores en las referencias 9 y 10).

- [22] Para descripciones detalladas de estos procesos fotoquímicos, incluida la parte experimental, ver la serie de 6 publicaciones del grupo de Eschenmoser aparecidas en 2015, la última de las cuales es: Y. Yamada, P. Wehrli, D. Miljkovic, H.-J. Wild, N. Bühler, E. Götschi, B. Golding, P. Löliger, J. Gleason, B. Pace, L. Ellis, W. Hunkeler, P. Schneider, W. Fuhrer, R. Nordmann, K. Srinivasachar, R. Keese, K. Müller, R. Neier, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **2015**, *98*, 1921-2054.
- [23] R. B. Woodward, R. Hoffmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1969**, *8*, 781-853.
- [24] Los autores del grupo de la ETH calificaron el curso esteoquímico de este paso también como *antara* (ref. 10). Al tratarse de un cierre electrocíclico, se ha preferido utilizar aquí el más común descriptor *convolatorio*.
- [25] D. Riether, J. Mulzer, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 30-45.
- [26] Ver la serie de publicaciones del grupo de Stevens aparecidas en el período 1976-1986, la última de las cuales es: R. V. Stevens, N. Beaulieu, W. H. Chan, A. R. Daniewski, T. Takeda, A. Waldner, P. G. Williard, U. Zutter, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 1039-1049.
- [27] Debido al orden de conexión y el sentido de "giro" según las agujas del reloj que implica, esta estrategia fue denominada por el grupo de Stevens como *clockwise*. La estrategia de giro en el sentido opuesto (*counterclockwise*) fue ensayada también en compuestos modelo (por ejemplo, como en el Esquema 14) pero sólo la primera fue usada en la vía que hubiese podido concluir en la vitamina B₁₂.
- [28] M. Yan, J. C. Lo, J. T. Edwards, P. S. Baran, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 12692-12714.
- [29] J. M. Smith, S. J. Harwood, P. S. Baran, *Acc. Chem. Res.* **2018**, *51*, 1807-1817.
- [30] J. B. Broderick, B. R. Duffus, K. S. Duschene, E. M. Shepard, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 4229-4317.
- [31] Ver por ejemplo: J. Bridwell-Rabb, C. L. Drennan, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2017**, *37*, 63-70.
- [32] G. M. Sandala, D. M. Smith, L. Radom, *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43*, 642-651.
- [33] K. Gruber, B. Puffer, B. Kräutler, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 4346-4363.
- [34] R. Banerjee, S. W. Ragsdale, *Annu. Rev. Biochem.* **2003**, *72*, 209-247.
- [35] El funcionamiento correcto del enzima da lugar a la conversión de metilmalonil coenzima A (Esquema 16) en succinil-coenzima A, compuesto intermedio constituyente del ciclo de Krebs: V. Cracan, R. Banerjee, *Biochemistry* **2012**, *51*, 6039-6046.
- [36] F. D. Ledley, D. S. Rosenblatt, *Human Mutat.* **1997**, *9*, 1-6.
- [37] R. G. Matthews, *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 681-689.
- [38] El funcionamiento incorrecto del enzima da lugar a una acumulación excesiva de homocisteína en la sangre o en la orina, afección hereditaria llamada, según el caso, hiperhomocisteinemia o bien homocisteinuria (ver cita 39). La homocisteína es un aminoácido no proteínogénico que se forma como subproducto de las metilaciones biológicas promovidas por el cofactor S-adenosil metionina: H. Lin, *Bioorg. Chem.* **2011**, *39*, 161-170.
- [39] (a) D. S. Froese, B. Fowler, M. R. Baumgartner, *J. Inherit. Metab. Dis.* **2019**, *42*, 673-685. (b) M. Huemer, M. R. Baumgartner, *J. Inherit. Metab. Dis.* **2019**, *42*, 686-705.
- [40] Se ha encontrado que la MeCbl puede participar también en ciertos tipos especiales de metilaciones a través de intermedios radicalarios. Ver por ejemplo: J. T. Jarrett, *J. Biol. Chem.* **2019**, *294*, 11726-11727.
- [41] J. A. Marco, *Química de los productos naturales*, Cap. 2, pp. 49-52, Ed. Síntesis, Madrid, 2006.
- [42] D. A. Bryant, C. N. Hunter, M. J. Warren, *J. Biol. Chem.* **2020**, *295*, 6888-6925.
- [43] M. Karczewski, M. Ociepa, K. Pluta, K. ó Proinsias, D. Gryko, *Chem. Eur. J.* **2017**, *23*, 7024-7030.
- [44] (a) K. A. P. Payne, C. P. Quezada, K. Fisher, M. S. Dunstan, F. A. Collins, H. Sjuts, C. Levy, S. Hay, S. E. J. Rigby, D. Leys, *Nature* **2015**, *517*, 513-516. (b) M. Giedyk, K. Golszewska, D. Gryko, *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 3391-3404. (c) K. Tahara, L. Pan, T. Ono, Y. Hisaeda, *Beilstein J. Org. Chem.* **2018**, *14*, 2553-2567.