

Einfluß von externen negativen Ladungen auf die Absorptionsmaxima von symmetrischen Cyaninen; Untersuchungen an Modellverbindungen und künstlichen Bacteriorhodopsin-Pigmenten**

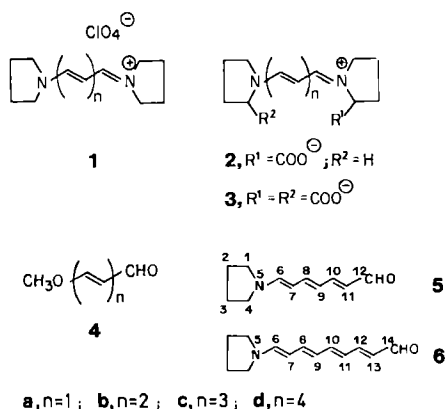
Von Mordechai Sheves* und Noga Friedman

Symmetrische Cyaninfarbstoffe zeigen schmale, rotverschobene Absorptionsmaxima (bezogen auf die Maxima der entsprechenden protonierten Schiff-Basen) als Folge der starken π -Elektronendelokalisierung. Wird die Symmetrie eines symmetrischen Cyanins verringert, sollten Blauverschiebungen und Verbreiterungen der Banden im Elektronenspektrum auftreten.

Das Protein Bacteriorhodopsin (bR) ist das Pigment aus der Purpurmembran des halophilen Mikroorganismus *Halobacterium halobium*^[1]. Es hat die Aufgabe, Lichtenergie in einen Protonengradienten umzuwandeln, der anschließend über einen chemiosmotischen Mechanismus zur ATP-Synthese benutzt wird. bR enthält all-*trans*-Retinal, das mit dem Proteinteil durch eine protonierte C=N-Bindung mit der ϵ -Aminogruppe eines Lysinrestes verknüpft ist, also als protonierte Schiff-Base vorliegt^[2].

Das Absorptionsmaximum von bR ($\lambda_{\text{max}} = 570 \text{ nm}$) in Methanol ist gegenüber dem der protonierten Retinal-Schiff-Base ($\lambda_{\text{max}} = 440 \text{ nm}$) ebenfalls rotverschoben. Nach heutiger Ansicht geht diese Rotverschiebung auf mehrere Faktoren zurück: 1) Schwache Wasserstoffbrücke zum positiv geladenen Stickstoffatom der Schiff-Base^[3]; 2) planare *s-trans*-Ring-Ketten-Konformation des Retinalchromophors am Bindungszentrum^[4]; 3) ionische Wechselwirkung mit einer negativen Punktladung des Proteins in der Nähe des Cyclohexenteils und des Chromophors von Retinal^[3d,e,4]. Kürzlich wurde ein künstliches bR-Pigment mit einem Cyaninfarbstoff-Chromophor hergestellt, das ein schmales, rotverschobenes Absorptionsmaximum (bezogen auf das von Bacteriorhodopsin) aufweist^[5]. Nach Berechnungen^[6] sollte diese charakteristische Absorption von der Wechselwirkung des Polyens mit negativen Ladungen herühren, die symmetrisch am Chromophor verteilt sind.

Wir haben nun den Einfluß der unsymmetrischen Anordnung von negativen Ladungen an der Polyenkette auf das Absorptionsmaximum von symmetrischen Cyaninen untersucht, und zwar am Beispiel der Verbindungen 1–3 mit symmetrisch (1 und 3) und unsymmetrisch (2) angeordneten negativen Ladungen.



[*] Dr. M. Sheves, Dr. N. Friedman

Department of Organic Chemistry, The Weizmann Institute of Science, Rehovot 76100 (Israel)

[**] M. S. ist Inhaber des Morris and Ida Wolf Career Development Chair. Diese Arbeit wurde vom Frances and Lillian Schermer Trust gefördert. Prof. K. Nakanishi sei für anregende Diskussionen gedankt.

Die Cyanine 1 wurden wie beschrieben^[7] hergestellt. 2 (*syn-anti*-Isomere) erhielten wir durch Kondensation der entsprechenden Merocyanine (durch basische Hydrolyse von 1 gewonnen, vgl. 5 und 6) mit Cyaninen, die eine Prolingruppe enthielten. 3 (ebenfalls *syn-anti*-Isomere) wurde durch Kondensation von 4 mit Prolin und anschließende Zugabe von Et_3N hergestellt. 1, 2 und 3 zeigten sowohl in Ethanol als auch in Dichlormethan sehr ähnliche Absorptionsmaxima. Die zweite negative Ladung (siehe 3) änderte die Absorptionsmaxima und die Halbwertsbreiten nur wenig (Tabelle 1). Alle aufgeführten Absorptionsmaxima veränderten sich bei Verdünnung bis 10^{-5} M nicht; dadurch wurde die Möglichkeit einer Aggregation minimiert. Somit werden die Absorptionsmaxima von symmetrischen Cyaninen in organischen Lösungsmitteln durch die Lage des Gegenions nicht wesentlich beeinflusst.

Tabelle 1. Absorptionsmaxima λ_{max} und Halbwertsbreiten $\bar{\nu}_{1/2}$ der symmetrischen Cyanine 1–3.

Cyanin	EtOH		CH_2Cl_2	
	λ_{max} [nm]	$\bar{\nu}_{1/2}$ [cm^{-1}]	λ_{max} [nm]	$\bar{\nu}_{1/2}$ [cm^{-1}]
1a	320	3750	323	3790
2a	324	3480	325	3500
3a	324	3500	327	3760
1b	422	1700	427	1670
2b	424	1920	429	2100
3b	429	1880	431	2470
1c	521	1380	530	1240
2c	526	1460	530	1230
3c	528	1330	534	1400
1d	625	1040	635	1020
2d	631	1190	639	1160
3d	633	1200	642	1100

Die Symmetrie der Chromophore in 1a–d und die starke Delokalisierung der positiven Ladung im Grundzustand gehen aus den ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren hervor (Tabelle 2).

Tabelle 2. ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von 1a–d bzw. 1a, b, 2a, b. Zur Nummerierung der Atome siehe 5 und 6. J in Hz.

^1H -NMR (CD_3OD): 1a: $\delta = 5.25$ (t, 1, J = 12, 7-H), 7.92 (d, 2, J = 12, 6(8)-H); 1b: $\delta = 5.67$ (t, 2, J = 11.8, 7(9)-H), 7.48 (t, 1, J = 11.8, 8-H), 7.72 (d, 2, J = 11.7, 6(10)-H); 1c: $\delta = 5.74$ (t, 2, J = 11.8, 7(11)-H), 6.26 (t, 1, J = 12.6, 9-H), 7.30 (t, J = 11.8, 2, 8(10)-H), 7.70 (d, 2, J = 11.8, 6(12)-H); 1d: $\delta = 5.95$ (t, 2, J = 12, 7(13)-H), 6.21 (t, 2, J = 12, 9(11)-H), 7.17 (t, 1, J = 12, 10-H), 7.25 (t, 2, J = 12, 8(12)-H), 7.45 (d, 2, J = 12, 6(14)-H)

^{13}C -NMR (CD_3OD): 1a: $\delta = 92.90$ (C-7), 159.66 (C-6/8); 2a [a]: $\delta = 93.49$, 93.12 (C-7), 159.65, 159.74, 159.83, 160.88 (C-6/8); 1b: $\delta = 105.16$ (C-7/9), 158.76 (C-6/10), 163.57 (C-8); 2b [a]: $\delta = 105.44$, 105.55, 105.59, 106.31 (C-7/9), 158.50, 159.09, 160.12 (C-6/10), 163.45, 163.72 (C-8)

[a] *syn-anti*-Mischung.

Aus den ^{13}C -NMR-Spektren läßt sich ableiten, daß sich 2a, b bezüglich der Ladungsdelokalisierung und der hohen Symmetrie nicht wesentlich von 1a, b unterscheiden, obwohl die externen negativen Ladungen in 2a, b unsymmetrisch angeordnet sind: Die einander entsprechenden C-Atome in 1a und 2a zeigen fast übereinstimmende chemische Verschiebungen; das Gleiche gilt für 1b und 2b. Diese Unempfindlichkeit gegenüber der Lage des Gegenions (symmetrisch in 1, unsymmetrisch fixiert in 2) spiegelt sich auch in den Absorptionsmaxima dieser Cyanine wider (Tabelle 1).

Um weitere Informationen über den Einfluß externer Ladungen auf die Elektronenspektren von symmetrischen Cyaninen zu erhalten, inkubierten wir das Merocyanin 5 (durch basische Hydrolyse von 1c gewonnen) 48 h mit

Bacterioopsin^[8] (pH=6.5, 20 mM HEPES-Puffer). Dabei entstand das künstliche Pigment V, dessen Absorptionsmaximum bei $\lambda = 530$ nm eine geringe Halbwertsbreite aufweist (1350 cm^{-1}) (Abb. 1). Konkurrenzversuche mit all-trans-Retinal ergaben, daß der Chromophor das Bindungszentrum besetzt. Ähnlich führt die Inkubation des Merocyanins 6 mit Bacterioopsin (1 h) zum Pigment VI, das bei $\lambda = 640$ nm absorbiert (Halbwertsbreite 1100 cm^{-1}). Beide künstliche Pigmente haben in EtOH und CH_2Cl_2 ähnliche Absorptionsmaxima und Halbwertsbreiten wie die entsprechenden Cyanine 1c und 2c bzw. 1d und 2d (Tabelle 1).

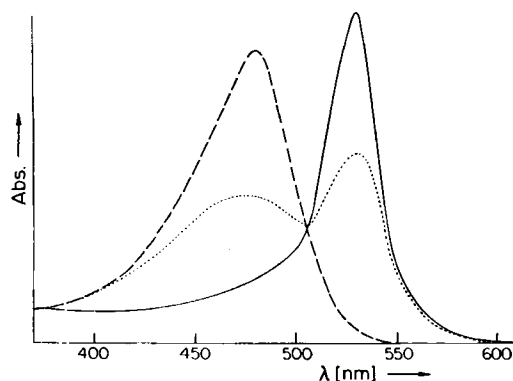


Abb. 1. Inkubation des Merocyanins 5 mit gebleichter Purpurmembran bei 25°C und pH=6.5; Bildung des künstlichen Bacteriorhodopsin-Pigments V. (----) Absorption nach 1 min, (····) nach 12 h, (—) nach 48 h.

Künstliche bR-Pigmente auf der Basis von Dihydrorretinalen zeigen je nach Länge der Chromophore unterschiedliche Opsin-Verschiebungen. (Die Opsin-Verschiebung ist als Differenz zwischen der Absorption des Pigments und der einer protonierten Schiff-Base des entsprechenden Retinalchromophors in MeOH definiert^[9].) Beispielsweise wurde vermutet, daß die mit 5,6- und 7,8-Dihydrorretinalen erhaltenen Pigmente sich recht beträchtlich voneinander unterscheiden, weil das umgebende Protein eine unterschiedliche Ladungsverteilung hervorruft^[3d,9]. Die Pigmente V und VI sind bezüglich der Länge des Chromophors mit 7,8- bzw. 5,6-Dihydropigmenten zu vergleichen. Sie zeigen aber keine nennenswerten Opsin-Verschiebungen. Dies weist auf die Unempfindlichkeit symmetrischer Cyanine gegenüber der Ladungsverteilung entlang der Polyenkette hin. Dieser Befund ist mit unseren Beobachtungen konsistent, daß die Absorptionsmaxima in organischen Lösungsmitteln nicht durch Wechselwirkung mit externen negativen Ladungen beeinflusst werden.

Die Rotverschiebung und die geringe Breite der Banden von symmetrischen Cyaninen spiegeln die starke Delokalisierung der positiven Ladung sowohl im Grundzustand als auch im angeregten Zustand wider; bei diesen Cyaninen ist die Ladung jeweils ähnlich entlang der Polyenkette verteilt^[10]. Unsymmetrisch angeordnete negative Ladungen in der Nachbarschaft der Stickstoffatome stören nicht. Ähnliche Argumente gelten für die Unempfindlichkeit der Absorptionsmaxima gegenüber der Polarität des Lösungsmittels. Die Cyanine verhalten sich also völlig anders als protonierte Retinal-Schiff-Basen, bei denen negative Ladungen einen wesentlichen Einfluß haben^[3e], weil die positive Ladung im Grundzustand anders als im angeregten Zustand verteilt ist.

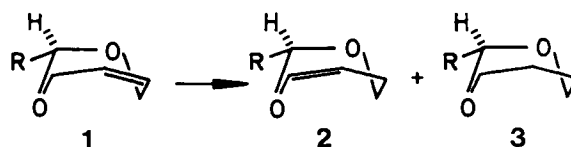
- [1] D. Oesterheld, W. Stoeckenius, *Nature (London) New Biol.* 233 (1971) 149.
- [2] Übersichten: a) W. Stoeckenius, R. Lozier, R. Bogomolni, *Biochim. Biophys. Acta* 505 (1979) 215; b) M. Ottolenghi, *Adv. Photochem.* 12 (1980) 97; c) R. Birge, *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.* 10 (1981) 315.
- [3] a) P. Blatz, J. Mohler, *Biochemistry* 14 (1975) 2304; b) M. Sheves, N. Friedman, A. Albeck, M. Ottolenghi, *ibid.* 24 (1985) 1260; c) M. Muradin-Szweykowska, J. A. Pardo, D. Döbelstein, L. J. P. Van Amsterdam, J. Lugtenburg, *Eur. J. Biochem.* 140 (1984) 173; d) J. L. Spudich, D. A. McCain, K. Nakanishi, M. Okabe, N. Shimizu, H. Rodman, B. Honig, *Biophys. J.*, im Druck; e) T. Baasov, M. Sheves, *J. Am. Chem. Soc.* 107 (1985) 7324; f) G. Harbison, J. Herzfeld, R. Griffin, *Biochemistry* 22 (1983) 1.
- [4] a) G. Harbison, J. Herzfeld, S. O. Smith, R. A. Mathies, J. Pardo, J. Lugtenburg, R. G. Griffin, *Biophys. J.* 47 (1985) 92a; b) G. Harbison, S. O. Smith, J. Pardo, J. M. L. Courtin, J. Lugtenburg, J. Herzfeld, R. A. Mathies, R. G. Griffin, *Biochemistry* 24 (1985) 6955; c) T. Schreckenbach, B. Walckhoff, D. Oesterheld, *ibid.* 17 (1978) 5353.
- [5] F. Derguini, C. G. Caldwell, M. G. Motto, V. Balogh-Nair, K. Nakanishi, *J. Am. Chem. Soc.* 105 (1983) 646.
- [6] T. Kakitani, H. Kakitani, B. Honig, K. Nakanishi, *J. Am. Chem. Soc.* 105 (1983) 648.
- [7] S. S. Malhotra, M. C. Whiting, *J. Chem. Soc.* 1960, 3812.
- [8] F. Tokunaga, T. Ebrey, *Biochemistry* 17 (1978) 1915.
- [9] K. Nakanishi, V. Balogh-Nair, M. Arnaboldi, K. Tsujimoto, B. Honig, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 7945.
- [10] M. Klessinger, *Theor. Chim. Acta* 5 (1966) 251.

Asymmetrische Doppelbindungsisomerisierung von 4,7-Dihydro- zu 4,5-Dihydro-1,3-dioxepinen

Von Herbert Frauenrath* und Thomas Philipps

Allylalkohole und Allylether lassen sich durch Übergangsmetallkatalysierte Doppelbindungsisomerisierung in Aldehyde bzw. Enolether überführen^[1]. Es wurden auch Isomerisierungen prochiraler Substrate mit chiralen Katalysatoren unter dem Aspekt einer asymmetrischen Synthese untersucht^[2], wobei bisher allerdings nur die Isomerisierung von Allylaminen zu Enaminen erfolgreich verlief^[3].

Wir berichten über bisher nicht untersuchte asymmetrische Doppelbindungsisomerisierungen prochiraler 4,7-Dihydro-1,3-dioxepine 1, die im Gegensatz zu den oben genannten Edukten kein Prochiralitätszentrum an der Doppelbindung, jedoch ein prochirales Acetal-C-Atom in 2-Position des siebengliedrigen Heterocyclus enthalten. Derartige Isomerisierungen von 1 führen zu optisch aktiven 4,5-Dihydro-1,3-dioxepinen 2, die geeignete Vorstufen z. B. zur Synthese von 2,3-substituierten Tetrahydrofuranen oder 3,4-substituierten 4-Butanoliden sind^[4].



Zur asymmetrischen Isomerisierung von 1 verwendeten wir $\text{Ru}_2\text{Cl}_4(\text{diop})_3$ ^[5] und $[\text{Rh}(\text{cod})\text{Cl}]_2/\text{diop}$ ^[6], die wir in situ mit NaBH_4 in $\text{CH}_3\text{OH}/\text{THF}$ in die eigentlich katalytisch aktiven hydridischen Spezies übergeführt haben (Tabelle 1).

Mit Katalysatorkonzentrationen von 0.5 Mol-% werden bereits bei Raumtemperatur nahezu vollständige Umsätze erzielt, wobei Hydrierung zu den 1,3-Dioxepanen 3 im allgemeinen nur in untergeordnetem Maße eintritt. Die höchsten Enantiomerenüberschüsse (25%) haben wir mit

[*] Dr. H. Frauenrath, T. Philipps
Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule
Prof.-Pirlet-Straße 1, D-5100 Aachen