

Table 1. Aktivität der Cyanamid-Hydratase in Extrakten von verschiedenen Organen von *cah*⁺-transgenen Tabakpflanzen. Die Organe wurden in flüssigem Stickstoff eingefroren, pulverisiert und dann mit 5 mM Phosphatpuffer pH 8.0 (1 mL g⁻¹ Frischgewicht) extrahiert (spezifische enzymatische Aktivität im Extrakt der gesamten Pflanze 0.276 Enzymeinheiten pro mg Protein). Keine über der Kontrolle liegende Aktivität wurde in *cah*⁺-transgenen Pflanzen gemessen.

Pflanzenorgane	Gesamtaktivität [Enzymeinheiten pro g Frischgewicht]	Spezifische Aktivität [Enzymeinheiten pro mg Protein]
<i>cah</i> ⁺ -Wurzeln	0.073	0.660
<i>cah</i> ⁺ -Stengel	0.437	0.469
<i>cah</i> ⁺ -Blätter	0.643	0.202

bildung, ist also mindestens um den Faktor 10 erhöht. Bewurzelte *cah*⁺-transgene Pflanzen wachsen selbst in Gegenwart von 2.4 mM Cyanamid gut, also auf einer Konzentration, welche nicht transformierte oder *cah*⁺-transgene Pflanzen innerhalb von sechs Wochen zum Absterben bringt. Pflanzen, die nicht transformiert sind, oder nur für den Plasmidvektor pBin19 transgen sind, werden innerhalb von 15 Tagen nach dem einmaligen Besprühen mit einer 0.5 proz. Cyanamidlösung völlig gebleicht. Im Gegensatz hierzu tolerieren *cah*⁺-transgene Pflanzen deutlich höhere Konzentrationen, welche mit dem Spiegel der *cah*⁺-Genexpression korrelieren. Beispielsweise zeigte eine Pflanze mit einer spezifischen Enzymaktivität von 0.58 Enzymeinheiten pro mg Protein im Zellextrakt keine Nekrose nach dem einmaligen Besprühen mit einer 5 proz. Cyanamidlösung. Dies ist die Herbizidkonzentration, die für die Anwendung in der Landwirtschaft empfohlen wird (Abb. 1). Ein zusätzlicher Hin-



Abb. 1. Cyanamid-Toleranz in transgenem Tabak. *Nicotiana-tobacum-SR* 1-Pflanzen, transgen für *cah*⁺ oder pBin19 mit sechs bis acht Blättern wurden einmal mit 5 proz. Cyanamidlösung besprüht. Die Pflanzen wurden unter sterilen Bedingungen in einer Kulturkammer gehalten (16 h Photoperiode, 25/18 °C). Die Photographien wurden nach 15 Tagen aufgenommen. Links: Pflanze transgen für pBin19; rechts: Pflanze transgen für *cah*⁺.

weis darauf, daß die exprimierte Cyanamid-Hydratase-Aktivität die Ursache der beobachteten Toleranz ist, ist die Bildung von Harnstoff in der Pflanze. Extrakte von Blättern von *cah*⁺-transgenen Pflanzen, die für mehrere Wochen in Gegenwart von 2.4 mM Cyanamid gewachsen waren, enthalten 10–32 µmol Harnstoff pro Gramm Blätter (Frischgewicht). Dieser fehlt in Kontrollen, die in Abwesenheit von Cyanamid gewachsen waren.

Diese Resultate zeigen klar, daß die Expression der Cyanamid-Hydratase Toleranz gegenüber Cyanamid in transgenem Tabak bewirkt, wobei dieses zu Harnstoff abgebaut wird. In Gegenwart des Harnstoff-abbauenden Enzyms

Urease, das in vielen Pflanzen gefunden wird^[9–12], kann das entstehende Hydrolyseprodukt NH₄⁺ als Stickstoffquelle für die Pflanze dienen.

Eingegangen am 5. Juli 1991 [Z 4778]

CAS-Registry-Nummern:

Cyanamid-Hydratase, 50812-20-9; Cyanamid, 156-62-7; Harnstoff, 57-13-6.

- [1] J. Botterman, J. Leemans, *Trends Genet.* 4 (1988) 219–222.
- [2] H. Stransky, A. Amberger, *Z. Pflanzenphysiol.* 70 (1973) 74–87.
- [3] U. H. Maier-Greiner, B. M. M. Obermaier-Skorobanek, L. M. Estermaier, W. Kammerhofer, C. Freund, C. Wülfing, U. I. Burkert, D. H. Matern, M. Breuer, M. Eulitz, Ö. I. Küfrevioglu, G. R. Hartmann, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88 (1991) 4260–4264.
- [4] R. Töpfer, V. Matzeit, B. Gronenborn, J. Schell, H.-H. Steinbiss, *Nucleic Acids Res.* 15 (1987) 5890.
- [5] M. Bevan, *Nucleic Acids Res.* 12 (1984) 8711–8721.
- [6] A. Hoekema, P. R. Hirsch, P. J. J. Hooykaas, R. A. Schilperoort, *Nature* 303 (1983) 179–180.
- [7] R. B. Horsch, J. E. Fry, N. L. Hoffmann, D. Eichholtz, S. G. Rogers, R. T. Fraley, *Science* 227 (1985) 1229–1231.
- [8] J. Draper, R. Scott, (Hrsg.): *Plant Genetic Transformation and Gene Expression: A Laboratory Manual*, Blackwell, Oxford 1988.
- [9] M. Damodaran, P. M. Sivaramakrishnan, *Biochem. J.* 31 (1932) 1041–1052.
- [10] T. A. Skokut, P. Filner, *Plant Physiol.* 65 (1980) 995–1003.
- [11] H. M. Davis, L. M. Shih, *Phytochemistry* 23 (1984) 2741–2745.
- [12] Y. Chen, T. M. Ching, *Plant Physiol.* 86 (1988) 941–945.

Zum Rätsel des Chlorophyllabbaus: Die Konstitution eines secoporphinoiden Kataboliten **

Von Bernhard Kräutler*, Bernhard Jaun, Karlheinz Bortlik, Maja Schellenberg und Philippe Matile

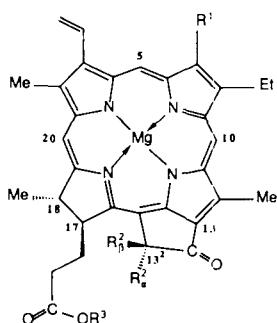
Professor Vladimir Prelog zum 85. Geburtstag gewidmet

Der Abbau des grünen Pflanzenpigments Chlorophyll, der dem eindrücklichen Naturphänomen des herbstlichen Verfärbens von Bäumen und Sträuchern zugrundeliegt, ist noch ungeklärt^[1, 2]. Diese Wissenslücke^[3] ist darauf zurückzuführen, daß der Chlorophyllabbau „scheinbar ohne Hinterlassung von Spuren verläuft“^[1a], obwohl jährlich auf der Erde über 10⁹ t Chlorophyll katabolisiert werden dürfen^[3]. Erst in jüngster Zeit eröffnete die Entdeckung von nahezu farblosen pflanzlichen Metaboliten, deren wichtigste anhand von Isotopenmarkierungen als Tetrapyrrolabkömmlinge erkannt wurden^[1, 4–6], die Aussicht, bald erste Erkenntnisse über den Chlorophyllkatabolismus gewinnen zu können. Aufgrund der Abfolge des Auftretens dieser Metabolite in den Chloroplasten und Vakuolen der vergilbenden Gerstenprimärblätter schlug man vor, daß die als „fluorescent compounds“ (FCs) bezeichneten Metabolite Vorläufer der „rusty pigments“ (RPs) sein dürfen^[4]. Letztere verdanken ihren Namen (und ihre Entdeckung) der Beobachtung, daß aus ihnen bei der Isolierung an Luft und unter Säureeinwirkung gut sichtbare, rostfarbene Sekundärprodukte gebildet werden^[1, 4, 5]. Wir berichten hier über die (durch „botanisch-chemische“ Zusammenarbeit zustandegekommene) Konstitutionsaufklärung von „RP-14“^[5], dem Hauptvertreter der RPs aus seneszenten Gerstenprimärblättern. Der Kon-

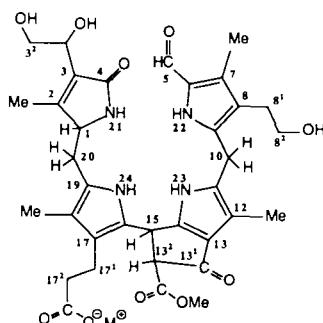
[*] Priv.-Doz. Dr. B. Kräutler, Dr. B. Jaun
Laboratorium für Organische Chemie der
Eidgenössischen Technischen Hochschule
Universitätstrasse 16, CH-8092 Zürich (Schweiz)
Prof. Dr. P. Matile, Dr. K. Bortlik, M. Schellenberg
Institut für Pflanzenphysiologie der Universität Zürich

[**] Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds und der ETH-Zürich gefördert. Wir danken Herrn Prof. A. Eschenmoser für anregende Gespräche und den Herren Dr. W. Amrein und R. Häfliker für die Aufnahme der Massenspektren.

stitutionsvorschlag als 1-Formyl-19-oxobilan 3^[7] belegt die strukturelle Verwandtschaft von RP-14 mit Chlorophyll a 1 und ist ein erster Strukturfixpunkt, der einen Beitrag zur Aufklärung des Verlaufs des Chlorophyllabbaus zu geben verspricht.



- 1 |Chlorophyll a| R¹=Me, R²=CHOOMe.
R²₂=H, R³=Phytol
- 2 |Chlorophyll b| R¹=CH(O)R, R²=C(=O)OMe.
R²₂=H, R³=Phytol
- 4 |Chlorophyllid a, Na-Salz| R¹=Me,
R²=C(=O)OMe R²₂=H, R³=Na
- 5 |13-Hydroxychlorophyll a| R¹=Me,
R²=C(=O)OMe R²₂=OH, R³=Phytol
- 6 |Pyrochlorophyllid a, Na-Salz| R¹=Me,
R²=H, R²₂=H, R³=Na



3-K "RP-14" (Kalium-Salz) M⁺=K⁺

Die Konstitution von RP-14, dem 1-Formyl-19-oxobilan 3, ließ sich aus MS-, ¹H-, ¹³C-NMR-, UV/VIS-, CD- und IR-Spektren ableiten: die Summenformel von 3-K wurde in den FAB-Massenspektren^[8a] im Kationmodus als C₃₅H₄₁N₄O₁₀K angezeigt: Molekül-Ion bei *m/z* 717.266 (C₃₅H₄₂N₄O₁₀K: 717.254), Basispeak bei *m/z* 679.287 (C₃₅H₄₃N₄O₁₀: 679.298); im Anionmodus Basispeak bei *m/z* 677.4. Das längstwellige Absorptionsmaximum bei 315 nm im UV/Vis-Spektrum von 3-K (vgl.^[5]) ist mit einer α -Formylpyrrol-Einheit^[9] im Einklang, nicht aber mit einem ausgedehnten, konjuguierten Chromophor. Im 400 MHz-¹H-NMR-Spektrum von 3-K in D₂O ([D₆]DMSO) sind die Signale von 33 (40) seiner 41 Protonen zu beobachten (Abb. 2 und 3a): ein Singulett für das Formylproton und fünf Singulets für die Methylprotonen, eines der letzteren der chemischen Verschiebung nach von einer Ester-Methylgruppe; Signale von unsubstituiert Ethyl- und Vinylresten fehlen. Von einem im [D₆]DMSO-Spektrum beobachtbaren AX-System ($\delta_A = 4.63$, $\delta_X = 3.91$, $J_{AX} = 3.3$ Hz, H-C(15) und H-C(13²) zugeordnet) fehlt im D₂O-Spektrum (wegen H/D-Austausches) das Signal des letzteren bei höherem Feld. Im 100 MHz-¹³C-NMR-Spektrum von 3-K in D₂O sind von den vorhandenen 35 Kohlenstoffatomen 33 aufgelöste Signale zu beobachten, das Signal des in D₂O deuterierten C(13²) kann nicht gefunden werden; im Spektrum von 3-K in [D₆]DMSO sind 32 Signale zu erkennen, darunter auch jenes von C(13²) bei $\delta = 64.99$.

Zur Gewinnung einer Probe des pflanzlichen Metaboliten RP-14 3 wurden die Primärblätter der Gerstenmutante *Hordeum vulgare* cv. Gerbel wie beschrieben^[4a, 5] im Dunkeln bei Raumtemperatur gealtert (Abb. 1) und der daraus gewonnene Kryosaft durch HPLC aufgetrennt. Das Eluat, in welchem das Kaliumsalz 3-K nach HPLC-Analyse mit über 94% die Hauptkomponente war, wurde lyophilisiert und der Rückstand an C₁₈-Kartuschen entsalzt. Der Metabolit 3-K wurde als pulveriger Lyophilisations-Rückstand isoliert (siehe *Experimentelles*).

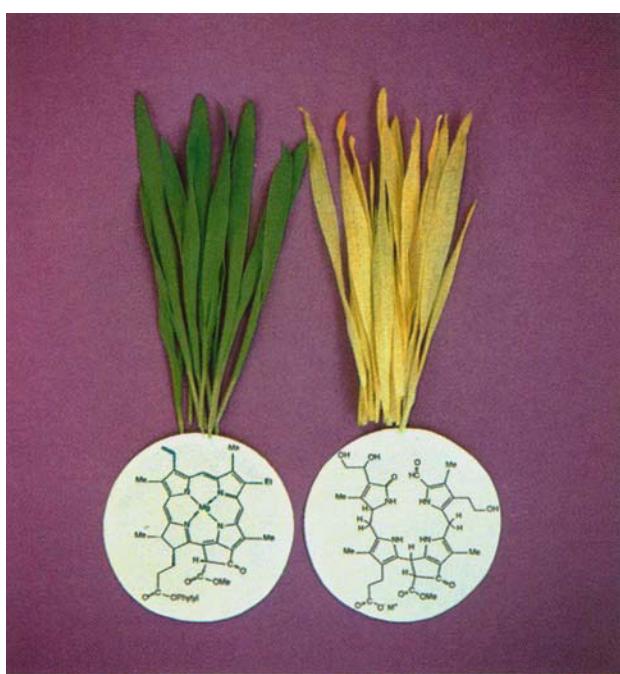


Abb. 1. Primärblätter von Gerstenkeimplanten (*Hordeum vulgare* cv. Gerbel, links: frisch geschnitten; rechts: wie links, dann 7 d im Dauerdunkel gealtert [4a, 5]) mit Strukturformeln für Chlorophyll a 1 und Konstitutionsformel für den kataboliten RP-14 3.

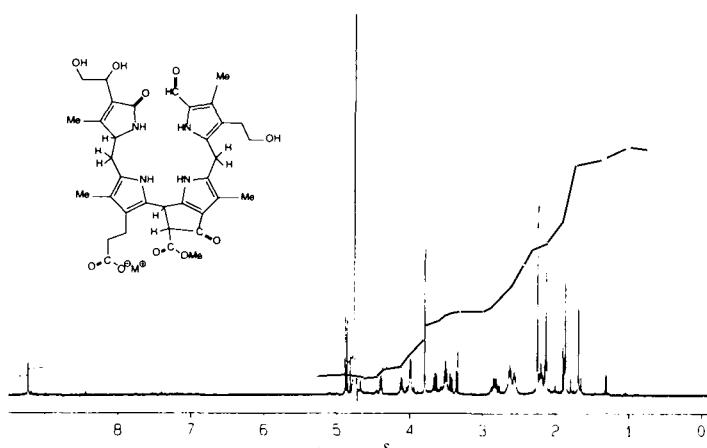


Abb. 2. 400 MHz-¹H-NMR Spektrum von 3-K in D₂O bei 25 °C ($\delta_{\text{HDO}} = 4.72$, $c = 3.5$ mM): Das Signal von H-C(13²) fehlt wegen H/D-Austausches, das Signal von H-C(15) bei $\delta = 4.83$ erscheint deshalb als Singulett.

Mit homonuklearer ¹H-chemischer Verschiebungskorrelation (DQF-COSY, TOCSY^[8b-c]) ließen sich zusätzlich zu den fünf Methylgruppen, den O- und N-gebundenen H-Atomen und dem Formyl-H-Atom sechs isolierte Spinsysteme von 3-K erkennen, deren zugehörige ¹³C-NMR-Signale über ¹H-¹³C-¹J_{HC}-chemische Verschiebungskorrelation^[8f, g] identifiziert wurden. Durch Informationen über räumliche Nachbarschaften aus ¹H-Kern-Overhauser-Messungen (NOESY)^[8b, h-i], (Abb. 3a)) und über H-C-Weitbereichs-Konnektivitäten aus HMBC-Spektren (HMBC = Heteronuclear Multiple-Bond Connectivity^[8j], (Abb. 3b)) verdichtet, konnten daraus eindeutig die Verbundnetze der C-Zentren und der C- (bzw. N-) gebundenen H-Atome des B-C-Teils (C(5) bis C(13)) und des A-D-Bezirks (C(14) bis C(4), einschließlich C(13¹) und C(13²)) von 3-K abgeleitet werden, in welche sich die vier Pyrrol-N-Atome zwanglos einfügen ließen. Die (drei) O-Atome, die nicht schon den Carbonyl-, Ester- oder Carboxylatgruppen zugeordnet waren, ließen sich anhand der (FAB)-MS-, ¹³C- und ¹H-NMR-Daten als Hydroxy-Substi-

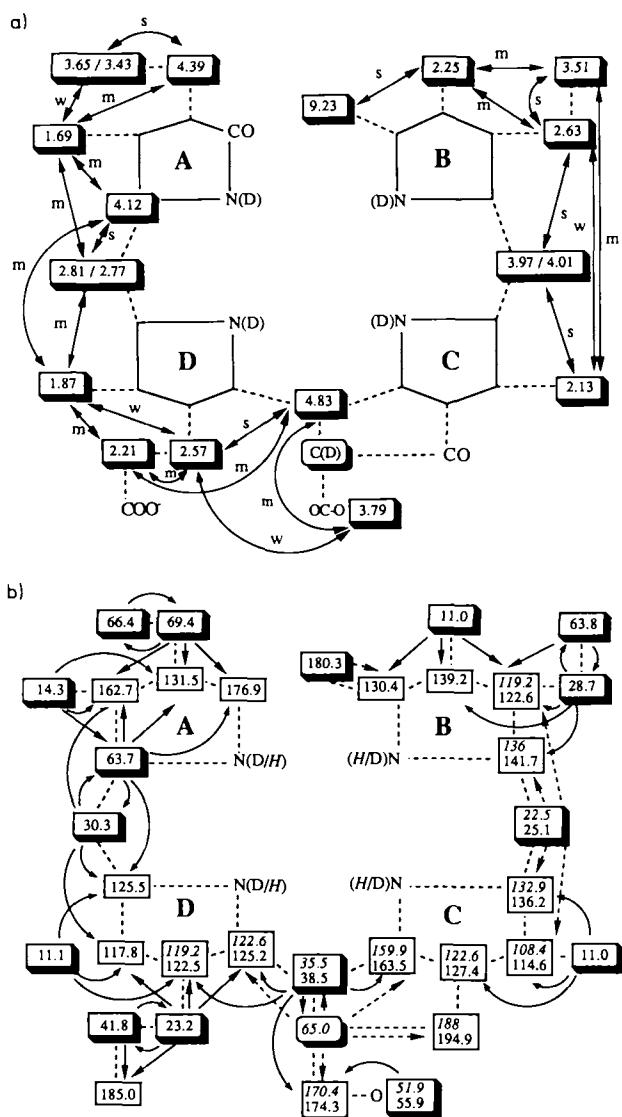


Abb. 3. a) Zuordnungen und chemische Verschiebungen der Protonensignale von 3-K (D_2O , $25^\circ C$, N_2), sowie im NOESY-Spektrum [8b] ($D_2O/MeOD$ 1:1, $-7.5^\circ C$, N_2) beobachtete NOE-Korrelationen (w = schwach, m = mittel, s = stark); b) Zuordnungen und chemische Verschiebungen der ^{13}C -NMR-Signale von 3-K (D_2O , $25^\circ C$, N_2 , zusätzlich kursiv angegebene δ -Werte in $[D_6]DMSO$ für diejenigen Signale, die gegenüber D_2O zusätzliche Korrelationen im HMBC-Spektrum [8i, j] aufweisen). $^{2,3}J(C,H)$ -Korrelationen sind als Pfeile dargestellt, die von Protonen ausgehen und auf die korrelierten ^{13}C -Atome zeigen (ausgezogen für D_2O , gestrichelt für $[D_6]DMSO$). Im $[D_6]DMSO$ -Spektrum zeigen H-N(21) und H-N(24) zusätzliche $^{2,3}J(C,H)$ -Korrelationen zu allen vier C-Atomen der betreffenden Pyrrolringe A bzw. D.

tuenten an den Positionen 3^1 , 3^2 und 8^2 identifizieren. Die Verknüpfung der A-D- und B-C-Hälften über einen Cyclopentanonorning folgte aus: a) Die Summenformel von 3-K ergibt siebzehn Doppelbindungsäquivalente, wovon drei an der gesuchten Verknüpfung beteiligt sind. b) Die ^{13}C -chemische Verschiebung der betroffenen drei C-Atome ($\delta = 127.4$, 163.5 und 194.9) weist sie als zwei Olefin(Aren)-C-Atome, für welche jeweils zwei σ -Bindungen aufzufinden sind, und ein Keton-C-Atom aus, dessen zweite C-C-Bindung noch fehlt. Bei Ausschluß hochgespannter Systeme folgte daraus die vorgeschlagene Verknüpfung über die am Pyrrolring C anellierte Cyclopentanoneinheit, und die drei C-Atome lassen sich als C(13), C(14) bzw. C(13 1) identifizieren (ein verwandtes Strukturproblem kommt in^[10] vor).

Die Auswertung der vorliegenden spektroskopischen Daten von 3-K führt zum Konstitutionsvorschlag eines Kalium-4,5-seco-4,5-dioxo-3 1 3 2 8 2 -trihydroxy-13 2 -methoxycarbo-

nyl-1,4,5,10,15,20-(22H,24H)-octahydrophytoporphyrinates. Die Konfiguration der vier stereogenen Zentren, die im optisch aktiven 3-K offenbar weitgehend einheitlich vorliegen, ist noch ungeklärt. Nach den 1H -NMR-Daten steht die Methoxycarbonylgruppe an der 13 2 -Position des Cyclopentanorings aber *trans* zur (AD)-Hälfte, damit ist 3-K das hinsichtlich dieses Molekülteils vermutlich thermodynamisch stabilere Diastereoisomer (das aber möglicherweise *in vitro* beim H-Austausch in protischem Milieu entsteht).

Ein Merkmal von 3 ist der Methoxycarbonyl-substituierte Cyclopentanonorning, der ein Strukturcharakteristikum der Chlorophylllderivate ist, wie von 1 und 2. Dies und das Vorliegen von vier chromophorgebundenen Methylgruppen in 3 zeigen einen engen strukturellen Zusammenhang zwischen 3 und 1 (und weniger mit 2) auf, nicht aber mit den als Chlorophyllkataboliten vermuteten Chlorinen 5^[11a] und 6^[11b]. Von Chlorophyllid a 4, das als erstes Abbauprodukt von Chlorophyll a 1 vorgeschlagen wurde^[1a, 12, 13], ist 3 formal durch Demetallierung und Addition von einem Sauerstoffmolekül und von drei Wassermolekülen zugänglich; seine chiroptischen Eigenschaften sprechen für eine enzymkontrollierte Entstehung (über gängige Spekulationen zum Chlorophyllabbau siehe^[3, 14]).

Mit der lichtemittierenden Substanz von Krill (Teil des Meeresplanktons) und dem Luciferin aus Dinoflagellaten wurden kürzlich erstmals natürlich vorkommende „Gallenpigmente“^[10] als Chlorophyll-Abkömmlinge charakterisiert. Bei diesen ist der Chlorin-Makrocyclus an der *meso*-Position C(20) unterbrochen, ein Bereich des Chlorinringes, der leicht durch elektrophile Agentien angegriffen wird^[15]. Im Gegensatz dazu ist der Makrocyclus in 3 an der *meso*-Position C(5) geöffnet, was (grob) an den oxygenolytischen Abbau des Eisenporphyrins Häm^[17b, 16] zu Gallenpigmenten erinnert.

Mit der Konstitution des 4,5-Seco-4,5-dioxophytoporphyrinates 3-K liegt nun erstmals ein Strukturleitmotiv vor, welches zur Klärung des offenbar komplexen Geschehens beim Chlorophyllabbau beitragen dürfte.

Experimentelles

Anzucht von *Hordeum vulgare* cv. Gerbel, sowie Bedingungen der dunkelinduzierten Seneszenz, siehe [4a, 5]: im Dauerdunkel wurden 115 g Blätter während 7 d gealtert; aus jeweils 5 g Blattmaterial stammender Kryosaft (ca. 4 mL) wurde mit ca. 16 mL Aceton versetzt und zur Grobabscheidung der Proteine zentrifugiert (5 min/2300 g). Der Überstand wurde mit 20 mL Chloroform versetzt, kurz geschüttelt und die wäßrige Phase in zwei Portionen getrennt (HPLC-Säule (Stagroma, Wallisellen, Schweiz): Nucleosil RP-8, 10 μ m, 20 \times 250 mm; Laufmittel: 27 Vol.-% Methanol/73 Vol.-% 50 mM Kaliumphosphat pH 7; Fließgeschwindigkeit: 14.6 mL min $^{-1}$; Detektion bei 320 nm). Die Fraktion mit Retentionszeit ca. 17.3 min wurde unter N_2 bei 0°C gesammelt. Die rohen Fraktionen von 3-K wurden in drei Portionen bei Raumtemperatur lyophilisiert, die Rückstände dreimal mit je ca. 3 mL 20 Vol.-% wäßrigem Methanol extrahiert und die Extrakte in fünf Portionen (wie beschrieben) durch HPLC nachgereinigt. Die HPLC-Elatate wurden unter N_2 bei $-20^\circ C$ für 3–8 d gelagert, dann in zwei Portionen bei $T < 0^\circ C$ lyophilisiert; der leicht gelbliche Rückstand jeweils mit ca. 2 mL destilliertem Wasser auf eine Waters-C₁₈-Sep-pak-Kartusche aufgetragen und mit ca. 25 mL dest. Wasser gewaschen. Eine leicht gelbliche Fraktion wurde jeweils mit ca. 20 mL 20 Vol.-% wäßrigem Methanol abgelöst und das Eluat am Hochvakuum bei $T < 0^\circ C$ lyophilisiert. Der leicht gelbliche Rückstand von pulverigem 3-K wurde am Hochvakuum bei Raumtemperatur ca. 4 h nachgetrocknet. Ausbeute 13 mg (> 94%; analytische HPLC, vgl. [5]).

Spektroskopische Daten (NMR: Bruker AMX-400, 1H -NMR in D_2O : vgl. Abb. 2 und 3a, ^{13}C -NMR in D_2O : vgl. Abb. 3b). 1H -NMR (400 MHz, D_2O , 4 mM-Lösung, unter N_2 , $[D_6]DMSO$): $\delta = 1.84$, 1.85 (2s, H_3C (2^1 und 18^1)), 2.00, 2.17 (2s, H_3C (12^1 , 7^1)), überlagert von 2.0–2.2 (m, H_2C (17^2)), 2.31 (dd, $J(H,H) = 8.7/14.5$ Hz, H_2C (20)), 2.4–2.6 (m, H_2C (8^2) und H_2C (17^1)), 2.6–2.7 (m, H_2C (17^1)), 2.72 (dd, $J(H,H) = 4.9/14.5$ Hz, H_2C (20)), 3.2–3.3 (m, H_2C (8^2)), 3.3–3.5 (m, H_2C (3^2)), 3.62 (s, Ester- CH_3), 3.70/3.79 (AB-Spinsystem, $J(H,H) = 15.8$, H_2C (10)), 3.91 (d, $J(H,H) = 3.5$ Hz, HC (13^2)) überlagert von 3.94 (dd, $J(H,H) = 4.9/8.7$ Hz, HC (1)), 4.33 (t, $J(H,H) = 5.6$ Hz, HC (3^1)), 4.63 (d, $J(H,H) = 3.3$ Hz, HC (15)), überlagert von 4.6–4.7 (br, 1 H), 4.7–5.0 (br, 1 H), 7.79 (s, HN (21)), 9.49 (s, HC (5)), 9.85 (s, HN (24)), 11–13 (br, ca. 1 H), 13.0–13.2 (br, 1 H)); ^{13}C -NMR (100 MHz, ca. 15 mM-Lösung, unter N_2 , $[D_6]DMSO$): $\delta = 9.04$ ($7^1, 12^1$), 9.30(18^1), 12.20(2^1), 21.68(17^1), 22.47(10),

27.35(8¹), 29.66(20), 35.52(15), 39.6(17²), 51.92 (Ester-CH₃), 60.15(1), 61.01(8²), 64.63(3²), 64.99(13²), 67.64(3¹), 108.42(12), 113.25(18), 119.20(8,17), 122.54, 122.62(13,16), 122.99(19), 127.9 (br. 6), 130.86(3), 132.95(11), 136 (br. 9), 154.94(2), 159.86(14), 170.43(13³), 172.52(4), 177.30(17³), 178 (br. 5), 188.15(13¹). UV/VIS und CD (0.02 M Natriumphosphat, pH 7, $c = 8 \cdot 10^{-5}$ M); $\lambda_{\text{max}}[\text{nm}]$ (rel. ϵ) = 243 (0.83), 272 (sh. 0.59), 315 (1.0, $\log \epsilon = 4.2$); $\lambda_{\text{max}}[\text{nm}](\Delta\varepsilon) = 223 (15), 247 (-4), 282 (-14), 317 (4)$. FAB-MS (3-Nitrobenzylalkohol-Matrix, ZAB-2 SEQ, Caesium-Beschluß, 35 keV): a) Kationenmodus: m/z 755.1 (10%), 719.2 (20), 718.2 (60), 717.2 (90), C₃₅H₄₂N₄O₁₀K, [M + 1]⁰; 681.2 (12), 680.2 (55), 679.2 (100), C₃₅H₄₃N₄O₁₀, [M + 2 - K]⁰; 678.2 (30), 677.2 (12), 560.1 (12), C₂₉H₄₁N₃O-K, [M + 1 - Ring A]⁰, 523.2 (28), 522.2 (65), C₂₈H₄₂N₃O-, [M + 2 - K - Ring A]⁰; genauer Massenbestimmung (OPUS-V 1.5D-Software, internes Matching mit Matrix-Referenzen bei m/z 651.134, 613.178, 498.091, 460.136; Auflösung: ca. 1500); m/z : C 717.266 (95%), C₃₅H₄₂N₄O₁₀K, 717.254); 679.287 (100), C₃₅H₄₃N₄O₁₀, 679.298); 522.213 (65), C₂₈H₄₂N₃O-, 522.224); b) Anionenmodus: m/z 679.4 (15%), 678.4 (46), 677.4 (100), C₃₅H₄₁N₄O₁₀, [M - K]⁰, 676.4 (30); IR (0.3%, Perkin-Elmer-983, KBr): $\nu[\text{cm}^{-1}] = 2950(\text{m}), 2920(\text{m}), 2860(\text{m}), 1725(\text{m}), 1670(\text{s}), 1630(\text{s}), 1560(\text{m}), 1490(\text{m}), 1445(\text{m}), 1390(\text{m}), 1345(\text{m}), 1310(\text{m}), 1275(\text{m})$.

Eingegangen am 29. Mai 1991 [Z 4664]

- [1] a) P. Matile, *Chimia* 41 (1987) 376; b) P. Matile, T. Düggelin, M. Schellenberg, D. Rentsch, K. Bortlik, C. Peisker, H. Thomas, *Plant Physiol. Biochem.* 29 (1989) 595.
- [2] W. Rüdiger, S. Schoch, *Naturwissenschaften* 76 (1989) 453.
- [3] G. A. Hendry, J. D. Houghton, S. B. Brown, *New Phytol.* 107 (1987) 255.
- [4] a) P. Matile, S. Ginsburg, M. Schellenberg, H. Thomas, *J. Plant Physiol.* 129 (1987) 219; b) T. Düggelin, M. Schellenberg, K. Bortlik, P. Matile, *J. Plant Physiol.* 133 (1988) 492; c) P. Matile, S. Ginsburg, M. Schellenberg, H. Thomas, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85 (1988) 9529.
- [5] K. Bortlik, C. Peisker, P. Matile, *J. Plant Physiol.* 136 (1990) 161.
- [6] C. Peisker, H. Thomas, F. Keller, P. Matile, *J. Plant Physiol.* 136 (1990) 544.
- [7] Zur Nomenklatur von Tetrapyrrolen siehe a) G. P. Moss, *Pure Appl. Chem.* 59 (1987) 779 - 832; b) H. Falk: *The Chemistry of Linear Oligopyrroles and Bile Pigments*, Springer, Wien 1989.
- [8] a) C. Fenselau, R. J. Cotter, *Chem. Rev.* 87 (1987) 501; b) H. Kessler, M. Gehrke, C. Griesinger, *Angew. Chem.* 100 (1988) 507; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 27 (1988) 490; c) M. Rance, O. W. Sørensen, G. Bodenhausen, G. Wagner, R. R. Ernst, K. Wüthrich, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 117 (1983) 479; d) L. Braunschweiler, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* 53 (1983) 521; e) A. Bax, G. D. Davis, *ibid.* 65 (1985) 355; f) L. Müller, *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 4481; g) A. Bax, S. Subramanian, *J. Magn. Reson.* 67 (1986) 565; h) J. Jeener, B. H. Meier, P. Bachmann, R. R. Ernst, *J. Chem. Phys.* 71 (1979) 4546; i) S. Macura, R. R. Ernst, *Mol. Phys.* 41 (1980) 95; j) A. Bax, M. F. J. Summers, *J. Am. Chem. Soc.* 108 (1986) 2093.
- [9] a) A. Gossauer: *Chemie der Pyrrole*, Springer, Berlin 1974; b) C. Pasquier, A. Gossauer, W. Keller, C. Kratky, *Helv. Chim. Acta* 70 (1987) 2098.
- [10] a) H. Nakamura, B. Musicki, Y. Kishi, *J. Am. Chem. Soc.* 110 (1988) 2683; b) H. Nakamura, Y. Kishi, O. Shimomura, D. Morse, J. W. Hastings, *ibid.* 111 (1989) 7607.
- [11] a) M. J. Maunders, S. B. Brown, H. W. Woolhouse, *Phytochemistry* 22 (1983) 2443; b) R. Ziegler, A. Blaheta, N. Guha, B. Schönenegg, *J. Plant Physiol.* 132 (1988) 327.
- [12] H. Thomas, K. Bortlik, D. Rentsch, M. Schellenberg, P. Matile, *New Phytol.* 111 (1989) 3.
- [13] D. Amir-Shapira, E. E. Goldschmidt, A. Altman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84 (1987) 1901.
- [14] S. B. Brown, K. M. Smith, G. M. F. Bisset, R. F. Troxler, *J. Biol. Chem.* 255 (1980) 8063.
- [15] a) R. B. Woodward, V. Skaric, *J. Am. Chem. Soc.* 83 (1961) 4676; b) J.-H. Fuhrhop, J. Subramanian, *Philos. Trans. R. Soc. London B* 273 (1976) 335.
- [16] R. Schmid, A. F. McDonagh in D. Dolphin (Hrsg.): *The Porphyrins*, Vol. VI, Academic Press, New York 1979, S. 258.

Azarhoda-closo-dodecaboran **

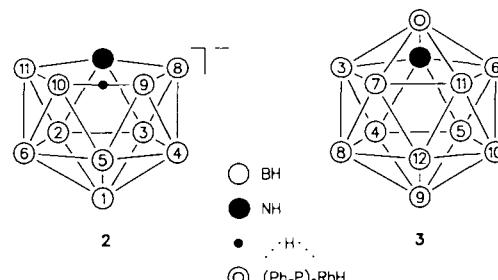
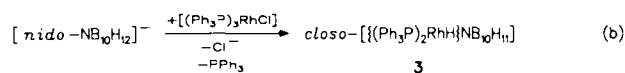
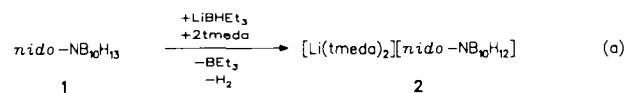
Von Hans-Peter Hansen, Jens Müller, Ulrich Englert und Peter Paetzold*

Unter den Azaboranen leiten sich die Verbindungen *arachno*-N₂B₈H₁₂^[1], *nido*-NB₁₀H₁₃^[2] und *creso*-NB₁₁H₁₂^[3] vom

[*] Prof. Dr. P. Paetzold, H.-P. Hansen, J. Müller, Dr. U. Englert
Institut für Anorganische Chemie der Technischen Hochschule
Templergraben 55, W-5100 Aachen

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert.

Ikosaeder als dem zugrundeliegenden geschlossenen Polyeder ab. Das N-Atom ist in diesen Azaboranen vier-, fünf- bzw. sechsfach koordiniert, so daß klassische Zweizentren-Zweielektronenbindungen zur Beschreibung der Bindungen des N-Atoms in der *nido*- und der *creso*-Verbindung nicht ausreichen. Wir berichten nun über ein erstes Azametallaboran aus der Ikosaederreihe. *Hawthornes* klassischem Weg zu den *creso*-Dicarbametallaboranen aus *nido*-C₂B₉H₁₁²⁻ und geeigneten Übergangsmetall-Verbindungen folgend^[4], deprotonierten wir zunächst **1** gemäß Gleichung (a) (tmeda = 1,2-Bis(dimethylamino)ethan) zum Anion NB₁₀H₁₂⁻, dessen Struktur mit C₂-Symmetrie eindeutig aus dem 2D-¹¹B-¹¹B-NMR-Spektrum folgt. Insbesondere lehrt die ¹H-NMR- und IR-spektroskopisch nachweisbare NH-Gruppierung, daß ein brückenständiges und nicht ein *N*-gebundenes Proton aus **1** abgespalten wird. Das verbleibende nichtterminale H-Atom ergibt im 2D-¹¹B-¹H-Experiment eine Korrelation mit B9 und B10, verbrückt also entweder B9 und B10 oder unterliegt als *endo*-H-Atom einem schnellen Austauschgleichgewicht zwischen entarteten Isomeren mit einer BH₂-Gruppierung in 9- oder 10-Stellung. Ein breites ¹H-NMR-Signal bei $\delta = -3.59$ spricht für eine Brückenposition auf der Spiegelebene von NB₁₀H₁₂⁻. Im isoelektronischen Anion C₂B₉H₁₂⁻ konnte unlängst die *endo*-Position des entsprechenden H-Atoms eindeutig nachgewiesen werden, d. h. dieses Anion enthält eine BH₂-Gruppe auf seiner Spiegelebene^[5]. Eine erneute Deprotonierung von **2** zum Dianion NB₁₀H₁₂²⁻, isoelektronisch mit dem Dianion C₂B₉H₁₁²⁻, gelingt zwar mit LiBHET₃ ohne weiteres, ist aber zur Synthese des Zielmoleküls **3** unnötig, da **3** sich direkt aus **2** bildet, wenn man es mit [(Ph₃P)₃RhCl] nach Gleichung (b) umsetzt. Das nichtterminale H-Atom von **2** findet sich dabei als Hydridoligand an Rh wieder. Das Anion NB₁₀H₁₂⁻ verhält sich damit ebenso wie das Anion C₂B₉H₁₂⁻, das mit [(Ph₃P)₃RhCl] analog zu Gleichung (b) direkt zu *creso*-[(Ph₃P)₂RhH]C₂B₉H₁₁²⁻ **4** reagiert^[6].



Eine Röntgenstrukturanalyse wurde mit Kristallen vorgenommen, die pro Mol **3** noch 1 mol CH₂Cl₂ und 0.5 mol Pentan enthielten^[7]. Die zentrale Struktureinheit von **3** besteht aus einem verzerrten RhNB₁₀-Ikosaeder (Abb. 1). Das Rh-Atom liegt wegen seiner Größe weit außerhalb der idealen Ikosaederposition, so daß die Winkel der fünf am Rh-Atom zusammenstoßenden Dreiecke dort wesentlich kleiner als 60° sind (41.8 - 47.3°). Das kleinere N-Atom ist wohl aus elektronischen Gründen vom Rh-Atom weiter entfernt