

stäbchenförmigen Micellen stabilisiert sein könnte^[9] und zugleich eine effiziente Packung der Moleküle ermöglicht. Der Packungskoeffizient einer primitiv kubischen Anordnung von Kugelmicellen würde nur 0.52 betragen; eine wesentlich effizientere Packung ließe sich sowohl im innen-zentrierten (0.68) als auch im flächen-zentrierten kubischen Gitter (0.74) realisieren. Es kann daher angenommen werden, daß sich kugelförmige Micellen bevorzugt zu innen-zentrierten oder flächen-zentrierten kubischen Gittern und nicht zu einem primitiven Gitter organisieren würden.

Für kubische Mesophasen von Dendrimeren wurde kürzlich ein ähnliches Modell vorgeschlagen,^[7] wobei jedoch eine annähernd kugelförmige Gestalt der Micellen angenommen wurde.^[13] Da beide Verbindungsklassen stark in ihrer chemischen Struktur differieren, ist allerdings ein direkter Vergleich nicht möglich. Es sind weitere Untersuchungen notwendig, um die allgemeinen Organisationsprinzipien thermotrop kubischer Mesophasen aufzuklären.

Eingegangen am 13. Januar, veränderte Fassung am 30. Mai 1997 [Z9988]

Stichworte: Amphiphile • Flüssigkristalle • Kubische Mesophasen • Micellen • Wasserstoffbrücken

- [1] G. Lindblom, L. Rilfors, *Biochim. Biophys. Acta* **1989**, 988, 221.
- [2] a) V. Luzzati, A. P. Speng, *Nature (London)* **1967**, 215, 701; b) J. M. Seddon, R. H. Templer, *Philos. Trans. R. Soc. London A* **1993**, 344, 377; c) G. J. T. Tiddy, *Phys. Rep.* **1980**, 57, 1.
- [3] a) D. Demus, G. Kunice, J. Neelsenand, H. Sackmann, *Z. Naturforsch. A* **1968**, 23, 84; b) G. Etherington, A. J. Leadbetter, X. J. Wang, T. Tajbakhsh, *Liq. Cryst.* **1986**, 1, 209; c) G. Lattermann, G. Staufer, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1990**, 191, 199; d) U. Stebani, G. Lattermann, R. Festag, M. Wittenberg, J. H. Wendorff, *J. Mater. Chem.* **1995**, 5, 2247; e) W. Weissflog, G. Pelzl, I. Letko, S. Diele, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1995**, 260, 157.
- [4] a) Y. Fang, A. M. Levelut, C. Destrad, *Liq. Cryst.* **1990**, 7, 265; b) A. M. Levelut, Y. Fang, *Colloq. Phys.* **1990**, 299; c) D. W. Bruce, B. Donnino, S. A. Hudson, A. M. Levelut, S. Megtert, D. Petermann, M. Veber, *J. Phys. II* **1995**, 5, 289, zit. Lit.
- [5] a) K. Praefcke, B. Kohne, A. Eckert, J. Hempel, *Z. Naturforsch. B* **1990**, 45, 1084; b) S. Fischer, H. Fischer, S. Diele, G. Pelzl, K. Jankowski, R. R. Schmidt, V. Vill, *Liq. Cryst.* **1994**, 17, 855.
- [6] a) K. Borisch, S. Diele, P. Göring, C. Tschierske, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1996**, 237; b) *Liq. Cryst.* **1997**, 22, 427.
- [7] Nach Einreichen dieser Arbeit wurde eine *Pm3n*-Phase bei Dendrimeren gefunden: V. S. K. Balagurusamy, G. Ungar, V. Percec, G. Johansson, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 1539.
- [8] Die Phasenumwandlung zwischen hexagonalen und bikontinuierlich kubischen Mesophasen lyotroper Systeme wurde bereits untersucht: Y. Rancon, J. Charvolin, *J. Phys. Chem.* **1988**, 92, 2646; P. Mariana, L. Q. Amaral, L. Saturni, H. Delacroix, *J. Phys. II* **1994**, 4, 1393.
- [9] K. Fontell, K. K. Fox, E. Hansson, *Mol. Cryst. Liq. Cryst. Lett. Sect.* **1985**, 1, 9; K. Fontell, *Colloid Polym. Sci.* **1990**, 268, 264.
- [10] Die Micelle im Zentrum zählt voll, die 8 Micellen in den Ecken mit je 1/8 und die 12 Micellen auf den Flächen mit je 1/2 zur Elementarzelle.
- [11] Mit der Gleichung $n = V_{\text{zell}} N_A / M \rho$ und unter Annahme einer Dichte ρ von 1 g cm^{-3} kann man berechnen, daß jede Elementarzelle ca. 350 Moleküle enthält.
- [12] Ein Wert von 1.35:1 wurde durch Fluoreszenzlösungsexperimente in normalen micellar kubischen Mesophasen lyotroper Systeme (Typ 1) erhalten: L. B.-A. Johansson, O. Söderman, *J. Phys. Chem.* **1987**, 91, 5275.
- [13] Zwei unterschiedliche Micelltypen wurden gefunden: kugelförmige und tetraedrisch deformierte.

Absoluter Drehsinn der Verdrillung um die C12-C13-Bindung des Retinalchromophors von Rinderrhodopsin – Excitontkopplungs-CD-Spektren von 11,12-Dihydroretinalanaloga**

Qiang Tan, Jihong Lou, Babak Borhan, Elena Karnaukhova, Nina Berova und Koji Nakanishi*

Rhodopsin, der Photorezeptor, der Wirbeltieren das Sehen bei Dämmerlicht ermöglicht, ist an den Außensegmenten der Stäbchenzellen lokalisiert. Dieses Membranprotein besteht aus sieben Transmembran- α -helices und dem 11-*cis*-Retinalchromophor **1** (Abb. 1), der mit der ϵ -Aminogruppe von Lys(K) 296 der Helix G als protonierte Schiff-Base (PSB) verknüpft ist.^[1, 2] Glu 113 fungiert als Gegenion zur Stabilisierung der positiven Ladung der PSB.^[3] Die durch Licht ausgelöste 11-*cis* \rightarrow *trans*-Isomerisierung führt zu einer Konformationsänderung, die eine Reihe von Veränderungen nach sich zieht. Diese werden als Sehtransduktionsprozeß bezeichnet.^[4] Die Struktur der protonierten Schiff-Base von 11-*cis*-Retinal mit der langen konjugierten Polyenseitenkette, den fünf Methylgruppen, dem Cyclohexenring und der 11-Doppelbindung sowie mit den nicht-planaren 6-*s-cis*- und 12-*s-trans*-Anordnungen eignet sich hervorragend für die sehr feine Regulation des Absorptionsmaximums des Pigments.^[5] In Abhängigkeit von der Paßform (Fit) des Pigments in der Rhodopsinbindungstasche kann dieser Chromophor den gesamten UV-Bereich bis zu ca. 640 nm abdecken, d. h. den Bereich, der auf die Umgebung der Organismen am besten abgestimmt ist.^[5]

Die UV/Vis- und Circular Dichroismus(CD)-Spektren des Rinderrhodopsins in Octylglucosid sind in Abbildung 1 dargestellt. Natürliches Rhodopsin ($\lambda_{\text{max}} = 500 \text{ nm}$) weist positive Cotton-Effekte bei 480 ($\Delta\epsilon = +2.8$, α -Bande) und 337 nm ($\Delta\epsilon = +9.8$, β -Bande) auf. Das CD-Spektrum eines Rhodopsins mit einem Retinalanalogon, in dem die Ebenen B und C infolge Bildung eines Fünfrings (Verknüpfung von C10 und der 13-Methylgruppe) coplanar sind, zeigt eine vernachlässigbare α -Bande. Ähnlich ist es mit dem Pigment, das aus einem Retinalanalogon gebildet wird, in dem die A- und die B-Ebene wegen einer Brücke zwischen der 5-Methylgruppe und C8 coplanar

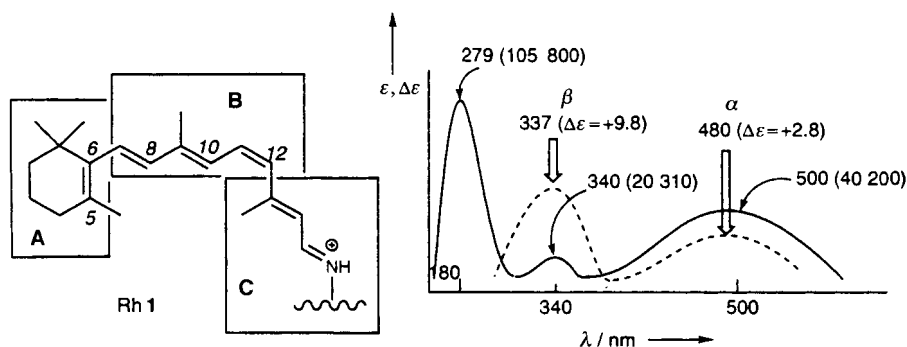


Abb. 1. Das in natürlichem Rhodopsin als PSB angebundene Chromophor 11-*cis*-Retinal **1** sowie UV/Vis- (—, ϵ) und CD-Spektrum (---, $\Delta\epsilon$) von Rinderrhodopsin in Octylglucosid.

[*] Prof. K. Nakanishi, Q. Tan, J. Lou, Dr. B. Borhan, Dr. E. Karnaukhova, Prof. N. Berova
Department of Chemistry, Columbia University
New York, NY 10027 (USA)
Telefax: Int. + 212/932-8273
E-mail: kn5@columbia.edu

[**] Diese Arbeit wurde von den National Institutes of Health (Grants GM 36564 und 34509) gefördert.

sind: Hier tritt eine schwache β -Bande auf. Dementsprechend haben Ito und Mitarbeiter^[6] die Ursache für die α - und β -Banden auf die Verdrillung um die 12-*s-trans*- bzw. 6-*s-cis*-Bindung zurückgeführt. Zwar spiegeln die beiden positiven Cotton-Effekte die Wechselwirkung zwischen dem verdrehten Chromophor und seiner Umgebung wider, doch ist es derzeit nicht möglich, Informationen über den Drehsinn der Verdrillung um die C6-C7- und die C12-C13-Bindung, d.h. der Verdrehung der Ebenen A, B und C gegeneinander (Abb. 1) zu erhalten. Wir haben deshalb das konjugierte Polyensystem durch eine Einfachbindung unterbrochen, so daß die beiden Polyeneinheiten an der Einfachbindung bei Anregung koppeln können. Das „Vorzeichen“ der Banden des sich daraus ergebenden Bandenpaares („Couplet“) mit Nulldurchgang spiegelt dabei die Verdrillung auf eine nichtempirische Art wider. Hier beschreiben wir Befunde zum absoluten Drehsinn der Verdrillung zwischen den Ebenen B und C.

Frühere Photoaffinitätsmarkierungen ergaben, daß das C3- und das C4-Atom des Iononrings sich in unmittelbarer Nähe zur Transmembranhelix F von Rhodopsin befinden (Abb. 2).^[7, 8] Doch in welche Richtung ist der Retinalchromophor, d.h. sind die Ebenen A und B sowie B und C gegeneinander gedreht? Die Transmembranhelixachse des Rhodopsins steht senkrecht auf der Ebene der C7–C12-Polyenseitenkette (Ebene B; Abb. 2). Durch Bestimmung der absoluten Richtung der Drehung um die C12-C13-Bindung kann ermittelt werden, ob die Ebene C bezüglich der Ebene B nach oben oder nach unten gekippt ist. Wir bestimmten die Helicität der Anordnung der Ebenen B und C, indem wir 11,12-Dihydroretinale in Opsin einbauten und die entsprechenden CD-Spektren aufnahmen. Unseres Wissens nach wurde hiermit erstmals die Excitonkopplungs-CD-Methode zur Konformationsanalyse bei proteingebundenen Substraten eingesetzt.

Excitonkopplungs-Circulardichroismus tritt auf, wenn zwischen zwei oder mehreren Chromophoren keine oder nur eine vernachlässigbare Molekülorbitalüberlappung

besteht und die chiral angeordneten Chromophore durch den Raum miteinander wechselwirken. So führt die Verdrillung der Polyenseitenkette um die C12-C13-Einfachbindung in rhodopsingebundenem Retinal nicht zu einem Excitonkopplungs-CD-Bandenpaar, da sich die Konjugation über das gesamte Molekül erstreckt. Die Sättigung der 11-Doppelbindung teilt den Chromophor in zwei voneinander unabhängige konjugierte Systeme: in die Trien- und die PSB-Einheit. Wenn infolge einer Wechselwirkung durch den Raum zwischen diesen beiden Chromophorgruppen des Pigments ein Bandenpaar auftritt, sollte das „Vorzeichen“ des CD-Bandenpaares die absolute Verdrillung des 11,12-Dihydroretinals in der Pigmentbindungsstelle widerspiegeln (Abb. 3). Ähnelt die Konformation von 11,12-Dihydroretinal der von 11-*cis*-Retinal in Rhodopsin, dann müßte die Excitonkopplung zwischen der Trien- und der PSB-Einheit ein „positives“ oder „negatives“ CD-Bandenpaar liefern, je nachdem, ob die Ebenen B und C mit positivem oder negativem Sinn gegeneinander gedreht sind (Abb. 3).^[9, 10]

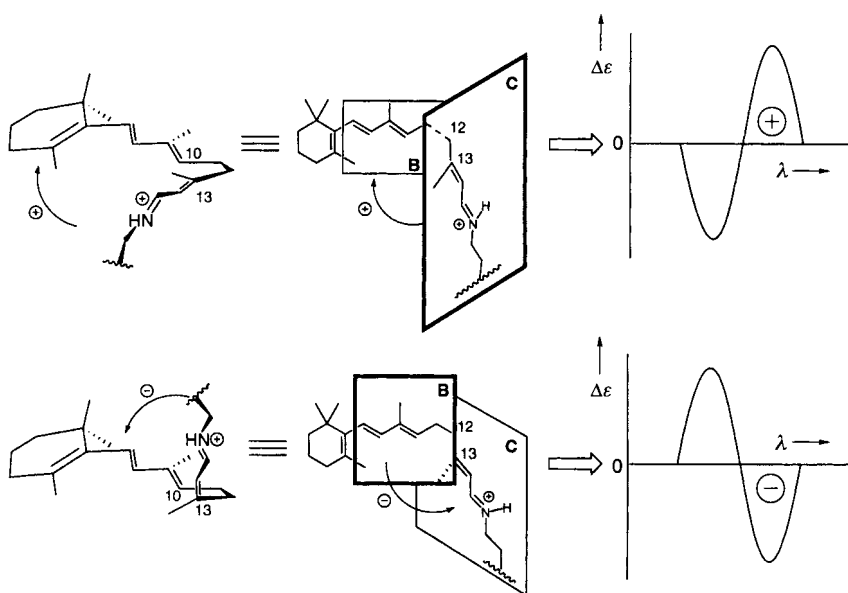


Abb. 3. Absoluter Drehsinn der Verdrillung zwischen den Ebenen B und C sowie die zugehörigen vorausgesagten Excitonkopplungs-CD-Bandenpaare. Eine Excitonkopplungs-CD-Kurve ist als positiv (negativ) definiert, wenn das Vorzeichen der Cotton-Effekte bei größerer Wellenlänge positiv (negativ) ist.

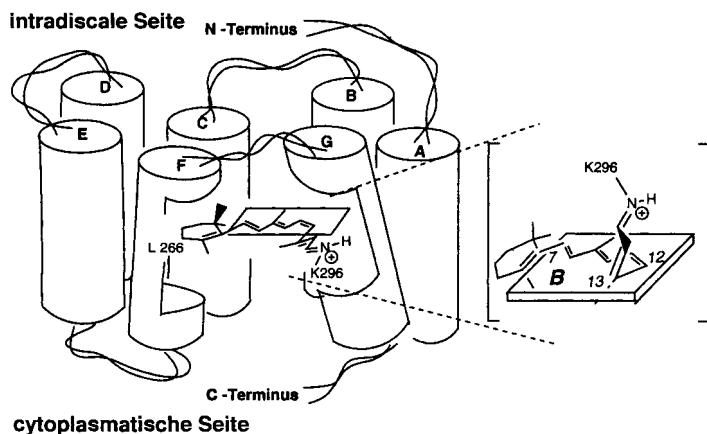


Abb. 2. Schematische Darstellung von Rhodopsin, die den Ort und die Verdrillung des Chromophors zeigt. Der durch Photoaffinitätsmarkierungen quervernetzte Rest L266 der Helix F ist angegeben. Die Trieneinheit C7 bis C12 befindet sich in der Ebene B, die parallel zur Lipiddoppelschichtmembran ist. Die PSB-Einheit ist so um die C12-C13-Bindung gedreht, daß sie zur intradiscale Seite der Membran weist.

Die Trien- und die Enaleinheit von 11,12-Dihydroretinal (2H-Ret) **2**^[11] absorbieren bei 255 (Schulter) bzw. 236 nm. Die Trienabsorptionsbande der entsprechenden Schiff-Base (2H-PSB) **3** bei 255 nm ist durch die rotverschobene PSB-Absorptionsbande bei 270 nm überlagert (Abb. 4). Das UV-Spektrum von 11,12-Dihydrorhodopsin (2H-Rh) **4** in Octylglucosid zeigt ein breites, bei ca. 279 nm zentriertes Absorptionsmaximum,^[12] das zugehörige CD-Spektrum einen negativen und einen positiven Cotton-Effekt bei 295 ($\Delta\epsilon = -1.2$) bzw. 275 nm ($\Delta\epsilon = +2.5$), wobei die Differenz Δ zwischen den beiden Extremwerten -3.7 beträgt. Das CD-Spektrum von natürlichem Rhodopsin weist dagegen zwei positive Cotton-Effekte auf (Abb. 1). Folglich kann man das CD-Spektrum von **4** mit negativem und positivem Cotton-Effekt auf die erwartete Excitonkopplung zwischen der Trien- und der PSB-Einheit zurückführen, die bei ca. 275 bzw. 295 nm absorbieren (siehe CD-Spektrum). Die nicht unerwartete Rotverschiebung der PSB-Bande von **3** bei 270 nm nach ca. 295 nm bei **4** wird durch die elektrostatischen Ladungen innerhalb der Bindungsstelle verursacht.^[13] Das Extremum bei 275 nm entspricht dem

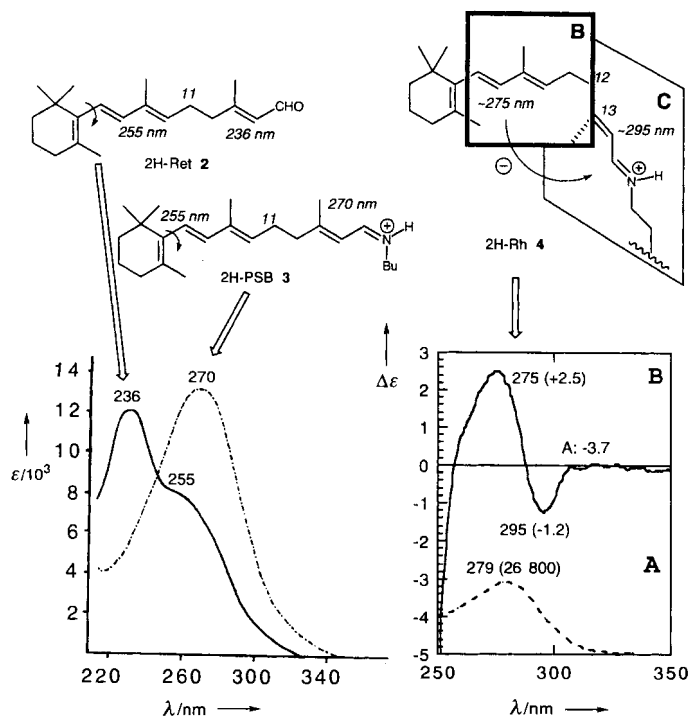
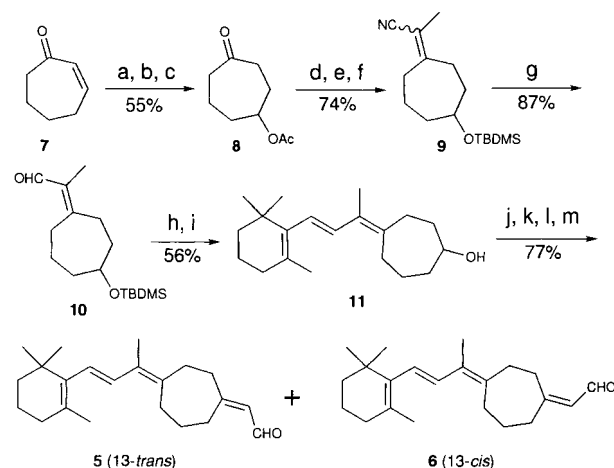


Abb. 4. Die UV-Spektren von 11,12-Dihydroretinal **2** und von der durch Umsetzung mit *n*-Butylamin erhaltenen protonierten Schiff-Base **3** in Methanol sowie UV- (A) und CD-Spektrum (B) von Dihydrorhodopsin **4** in Octylglucosid. Das Chromophor wurde durch Inkubation von 3.5 Mol-Äquivalenten des Retinalanalogs mit einer Suspension von Rinderopsin in 67 mM Phosphatpuffer (pH = 7.0) in 5 h bei 25 °C gebunden. Alle Spektren wurden in 23 mM Octylglucosidlösung bei pH 7.0 mit Opsin als Blindwert aufgenommen.

positiven Cotton-Effekt des negativen Bandenpaars; der Beitrag von Opsin dürfte vernachlässigbar sein, das CD-Spektrum in Abbildung 4 ist ein Differenzspektrum zwischen dem des Pigments und dem von Opsin. Die Trien-Bande des Pigments **4** ist somit gegenüber der von **3** in Methanol (255 nm) ca. 20 nm rotverschoben. Die Verdrillung um die 6-*s-cis*-Bindung in **4** ist im Vergleich zu der bei **3** in Lösung kleiner, d. h., im Protein ist der Winkel zwischen den Ebenen A und B vermutlich infolge sterischer Hinderungen innerhalb der Bindungsstelle kleiner. Aus dem negativen Bandenpaar bei **4** folgt, daß die Ebenen B und C wie in Abbildung 4 gezeigt (negativ) gegeneinander gedreht sind.

Der 11,12-Dihydroretinalchromophor, der viele Freiheitsgrade aufweist, ist sehr flexibel, was zu den kleinen Amplituden im Excitonkopplungs-CD-Spektrum führt. Um die Gültigkeit der Schlußfolgerung aus den Untersuchungen mit dem Dihydropigment **4** zu prüfen, wurden die gleichen Experimente mit 13-*trans*- und 13-*cis*-11,12-Dihydrocycloheptatrienylidenretinal (13-*trans*-2H-Ret7 **5** und 13-*cis*-2H-Ret7 **6**) durchgeführt. Die Synthese von **5** und **6** ist in Schema 1 gezeigt. Nach HPLC-Trennung wurden **5** und **6** durch ihre NMR- und Massenspektren charakterisiert.^[14] Zuvor erhaltene Daten mit dem Cycloheptatrienylidenretinal Ret7 **12** führten zur Überlegung, ein durch einen Siebenring konformativ fixiertes Dihydroanalogon von **4** zu untersuchen. Die UV- und CD-Spektren des aus **12** und Opsin erhaltenen Pigments ähneln denen von natürlichem



Schema 1. Synthese der Retinalanaloga **5** und **6**. a) *N*-Bromsuccinimid (NBS), Benzoylperoxid, CCl₄; b) Kaliumacetat, 3-Methyltriocetylammiumchlorid (Aliquat 336), H₂O; c) H₂, Pd/C, Essigsäure, CH₂Cl₂; d) 1-Cyanethylphosphonsäurediethylester, NaH, THF; e) Kaliumcarbonat, Methanol, H₂O; f) *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (TBDMSCl), Imidazol, DMF; g) Diisobutylaluminiumhydrid (DIBAL-H), CH₂Cl₂, säulenchromatographische Trennung der im Verhältnis 1:1 vorliegenden Isomere; h) β -Cyclocitryltriphenylphosphoniumbromid, Kalium-*tert*-butoxid, THF; i) Bu₄N⁺F⁻, THF; j) Tetra-*N*-propylammoniumper Ruthenat (TPAP), *N*-Methylmorpholin-*N*-oxid (NMO), fein pulverisiertes 4-Å-Molekularsieb, CH₂Cl₂; k) Cyanmethylphosphonsäurediethylester, NaH, THF; l) DIBAL-H, CH₂Cl₂; m) HPLC-Trennung der im Verhältnis 1:1 vorliegenden Isomere^[15].

Rhodopsin sehr,^[15] weshalb es nahelag, daß die räumliche Struktur von **12** innerhalb der Bindungsstelle sowie die zugehörige Protein-Substrat-Wechselwirkung denen von 11-*cis*-Retinal **1** in natürlichem Rhodopsin sehr ähnlich sind. Nach diesen Befunden hielten wir 13-*trans*-2H-Ret7 **5** als 11-*s-cis*-fixiertes Analogon von 11,12-Dihydroretinal für besser geeignet (Abb. 5).

Die Enalgruppe in **5** in Methanol absorbiert bei ca. 244 nm. Die nichtplanare Trieneinheit absorbiert bei ca. 266 nm, wie durch das Absorptionsmaximum des Synthesezwischenproduktes **11** bei 266 nm nahegelegt wird, das das gleiche Triensystem aufweist, und macht sich im Spektrum durch eine Schulter bei ca. 270 nm bemerkbar (Abb. 5; die UV- und CD-Spektren von **6** sind denen von **5** sehr ähnlich). Bei der mit *n*-Butylamin erhaltenen PSB **13** ist das Absorptionsmaximum der Enalgruppe

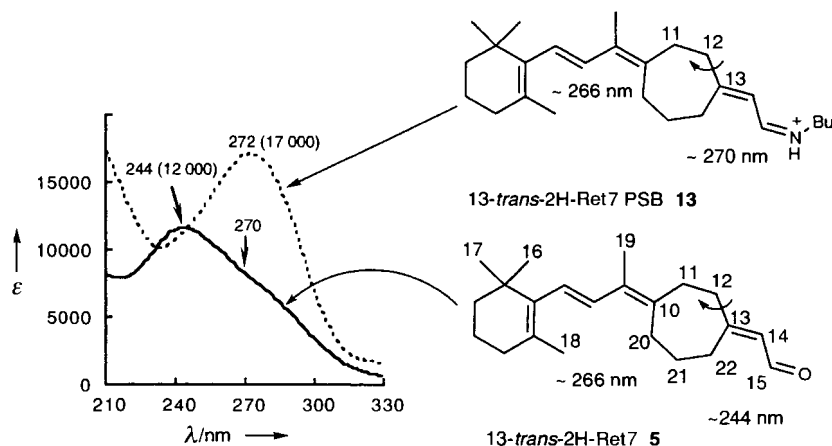


Abb. 5. UV-Spektren (Methanol) von 13-*trans*-2H-Ret7 **5**, von der PSB **13**. Die UV-Spektren von 13-*cis*-2H-Ret7 **6** und der entsprechenden PSB sind denen der jeweiligen *trans*-Isomere sehr ähnlich.

nach ca. 272 nm verschoben (Abb. 5) und durch die Trien-Absorptionsbande überlagert.

Die Rhodopsinanaloga **14** und **15**, in die **5** bzw. **6** eingebaut ist, haben Absorptionsmaxima bei 283 ($\epsilon = 28\,000$) bzw. 284 nm ($\epsilon = 29\,000$; Abb. 6).^[16] Natürliches Rhodopsin ent-

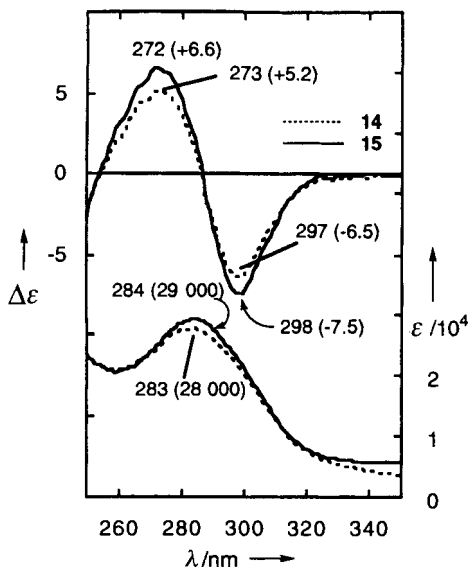


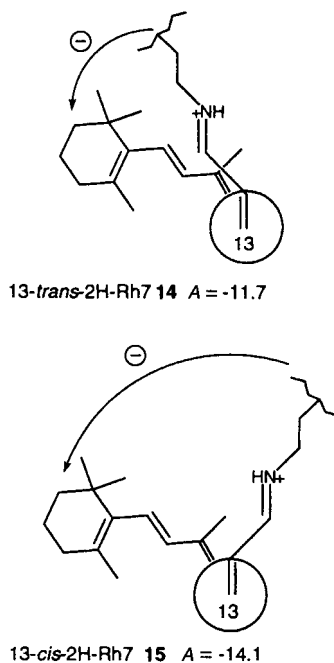
Abb. 6. UV- und CD-Spektren von 13-*trans*-2H-Rh7 **14** und 13-*cis*-2H-Rh7 **15**. Der Winkel zwischen den excitongekoppelten Chromophorgruppen ist beim 13-*cis*-Pigment größer, was sich in der geringfügig größeren Amplitude im CD-Spektrum widerspiegelt. Die Inkubation wurde mit dem jeweiligen Retinalanalogon (1.5 Mol-Äquiv.) und einer Suspension von Rinderrhodopsin in 67 mM Phosphatpuffer (pH = 7.0) in 5 h bei 25 °C durchgeführt. Alle Spektren wurden in 23 mM Octylglucosidlösung bei pH 7.0 mit Opsin als Blindwert aufgenommen.

stand bei Zugabe von 11-*cis*-Retinal zu beiden Inkubationsmischungen nicht, wie durch die Messung der Absorption bei 500 nm festgestellt wurde. Es war demgemäß kein freies Opsin mehr vorhanden, und die an Opsin gebundenen Retinalanaloga konnten nicht durch 11-*cis*-Retinal ersetzt werden.

13-*trans*-2H-Rh7 **14** gibt ein negatives CD-Bandenpaar mit Extrema bei 297 ($\Delta\epsilon = -6.5$) und 273 nm ($\Delta\epsilon = +5.2$; $A = -11.7$). Das Spektrum des Rhodopsinanalogs **15** zeigt ebenfalls ein negatives Bandenpaar mit einer etwas größeren Amplitude ($A = -14.1$) bei ähnlichen Wellenlängen von 298 ($\Delta\epsilon = -7.5$) und 272 nm ($\Delta\epsilon = +6.6$; Abb. 6). Das CD-Bandenpaar mit Nulldurchgang kann man auch hier auf die Kopplung zwischen der Trien- und der PSB-Einheit zurückführen. Dies bestätigt die Ergebnisse aus den Versuchen mit **4**. Um weitere Argumente für die Ursache des Bandenpaares zu finden, wurden die Amplituden der CD-Bandenpaare der 13-*trans*- und 13-*cis*-Isomere **14** und **15** verglichen. Die Amplitude der Excitonkopplungs-CD-Bandenpaare mit Nulldurchgang ist bekanntlich um so größer, je näher der Winkel zwischen den Projektionen der beiden wechselwirkenden Chromophore an 70° heranrückt.^[9, 10] Der mit dem Kraftfeldprogramm MM2 berechnete Winkel zwischen der Trien- und der PSB-Einheit beträgt ca. 60° für das 13-*cis*- und ca. 20° für das 13-*trans*-Isomer.^[17] Dies ist im Einklang mit der größeren Amplitude des CD-Bandenpaares des 13-*cis*-Isomers **15** (-14.1) im Vergleich zu der beim 13-*trans*-Isomer **14** (-11.7) und bestätigt, daß das CD-Bandenpaar eine Folge der Excitonkopplung zwischen den beiden Chromophoren innerhalb der Bindungsstelle ist.

Die kleinere Amplitude des Pigments **4** (-3.7) mit dem 11,12-Dihydroretinal **2**, in dem die 11-*s-cis*-Konformation nicht

fixiert ist, ist wahrscheinlich eine Folge der Flexibilität der Dihydroretinalseitenkette. Diese Flexibilität führt zu Konformationen, in denen der Winkel zwischen den beiden wechselwirkenden Chromophoren kleiner und/oder der Abstand zwischen den Chromophoren größer ist. Die Tatsache, daß das CD-Spektrum von 11,12-Dihydroretinal **4** ein negatives Bandenpaar mit Nulldurchgang zeigt, ist im Einklang mit den mit 13-*trans*-2H-Rh7 **14** und 13-*cis*-2H-Rh7 **15** erhaltenen Ergebnissen.



Die in Abbildung 3 gezeigte negative Helizität der Anordnungen der Ebenen B und C ist damit experimentell bewiesen. Ebenso deuten die Ergebnisse darauf hin, daß der Drehwinkel zwischen den Ebenen A und B von opsgelassenen Chromophoren kleiner ist als von den gleichen Chromophoren in Lösung. Der Chiralitätssinn der Anordnung der Ebenen B und C stimmt mit den theoretischen Voraussagen von Kakitani und Mitarbeitern^[18] überein, die die Verdrehung um die C12-C13-Bindung in Rhodopsin mit -130 bis -150° angegeben, wenn der Torsionswinkel im Uhrzeigersinn ausgehend von der planaren *cis*-Konformation gemessen wird. (Han und Smith sind durch theoretische Überlegungen zu den gleichen Ergebnissen gekommen.^[19]) Es ist beachtenswert, daß man die Konformation des Chromophors in der Bindungstasche

eines großen Proteins anhand des Vorzeichens des Excitonkopplungs-CD-Bandenpaares mit Nulldurchgang bestimmen kann. Wie erwähnt, spiegelt sich die Verdrehung des Chromophors im CD-Spektrum des natürlichen Rhodopsins durch das Vorliegen der α - und der β -Bande wider. Die charakteristische Form und das Vorzeichen dieser Banden werden durch die Wechselwirkungen zwischen dem Chromophor und der Opsinbindungsstelle bestimmt. Demzufolge kann man voraussetzen, daß in anderen Sehproteinen, die ähnliche positive α - und β -Banden aufweisen, die Verdrehung des Chromophors in der Polenkette der des Chromophors von Rinderrhodopsin ähnelt.

Diese Ergebnisse demonstrieren außerdem eindrucksvoll die Vielseitigkeit der Excitonkopplungs-CD-Methode bei Konformationsstudien am Beispiel von Wechselwirkungen zwischen Ligand und Rezeptor. Derzeit untersuchen wir den absoluten Drehsinn der Verdrehung zwischen den Ebenen A und B und den Mechanismus des Sehtransduktionsprozesses auf der Basis der ermittelten Molekülstrukturen.

Eingegangen am 17. März 1997 [Z10255]

Stichworte: Chiralität • Circular dichroismus • Excitonkopplung • Retinalanaloga • Rhodopsin

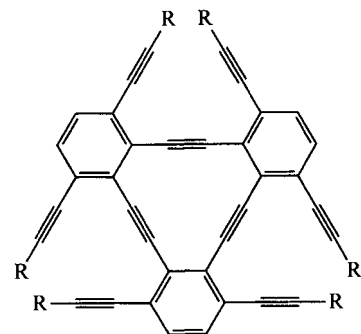
- [1] a) T. Yoshizawa, G. Wald, *Nature* **1963**, 197, 1279; b) D. Bownds, *ibid.* **1967**, 216, 1178; c) G. Wald, *ibid.* **1968**, 219, 800; e) G. F. X. Schertler, C. Villa, R. Henderson, *ibid.* **1993**, 362, 770.
- [2] a) „Photophysics and Photochemistry of Retinal Proteins“: *Israel J. Chem.* **1995**, 35 (Sonderheft); b) K. Nakanishi, R. Crouch, *ibid.* **1995**, 35, 253.
- [3] a) T. Sakmar, R. R. Franke, H. G. Khorana, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1989**, 86, 8309; b) E. A. Zhukovsky, D. D. Oprian, *Science* **1989**, 246, 928.

- [4] a) B. König, A. Arendt, J. H. McDowell, M. Kohlert, P. A. Hargrave, K. P. Hofmann, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1989**, *86*, 6878; b) L. Stryer, *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 1071. c) P. A. Hargrave, J. H. McDowell, *FASEB J.* **1992**, *6*, 2323; d) H. G. Khorana, *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 1; e) J. Nathans, *Biochemistry* **1992**, *31*, 4923.
- [5] a) K. Nakanishi, *Am. Zool.* **1991**, *31*, 479; b) *Pure Appl. Chem.* **1991**, *63*, 161; c) R. R. Rando, *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 255.
- [6] a) M. Ito, A. Kodama, K. Tsukida, Y. Fudaka, Y. Shichida, T. Yoshizawa, *Chem. Pharm. Bull.* **1982**, *30*, 1913; b) siehe auch G. G. Kochendoerfer, P. E. Verdegem, I. van der Hoef, J. Lugtenburg, R. A. Mathies, *Biochemistry* **1996**, *35*, 16230.
- [7] a) H. Zhang, K. A. Lerro, T. Yamamoto, T. H. Lien, L. Sastry, M. A. Gawinowicz, K. Nakanishi, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 10165; b) K. Nakanishi, H. Zhang, K. Lerro, S. Takekuma, T. Yamamoto, T. Lien, L. Sastry, D. Baek, C. Moquin-Pathey, F. Derguini, M. Gawinowicz, *Biophys. Chem.* **1995**, *56*, 13.
- [8] a) T. A. Nakayama, H. G. Khorana, *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 15762; b) siehe auch D. L. Farrens, C. Altenbach, K. Yang, W. H. Hubbell, H. G. Khorana, *Science* **1996**, *274*, 768.
- [9] N. Harada, K. Nakanishi, *Circular Dichroic Spectroscopy—Exciton Coupling in Organic Stereochemistry*, University Science Books, Mill Valley, **1983**, S. 73.
- [10] K. Nakanishi, N. Berova in *Circular Dichroism: Principles and Applications* (Hrsg.: K. Nakanishi, N. Berova, R. W. Woody), VCH, Weinheim, **1994**, S. 361.
- [11] M. A. Gawinowicz, Dissertation, Columbia University, **1978**.
- [12] a) M. Arnaboldi, M. G. Motto, K. Tsujimoto, V. Balogh-Nair, K. Nakanishi, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 7082; b) Y. Koutalos, T. G. Ebrey, M. Tsuda, K. Odashima, T. Lien, M. H. Park, N. Shimizu, F. Derguini, K. Nakanishi, H. R. Gilson, B. Honig, *Biochemistry* **1989**, *28*, 2732.
- [13] B. Honig, U. Dinur, K. Nakanishi, V. Balogh-Nair, M. A. Gawinowicz, M. Arnaboldi, M. G. Motto, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 7084.
- [14] Die Verbindungen **5** und **6** wurden durch HPLC mit einer YMC-Pack-SIL-Säule (250 mm × 10 mm Innendurchmesser) getrennt (Ethylacetat/Hexan, 5/95, v/v; Fließgeschwindigkeit 2.0 mL min⁻¹). Die Retentionszeiten für **5** und **6** waren 22.6 bzw. 21.0 min. ¹H-NMR (CDCl₃, TMS): **5**: δ = 1.00 (s, 6H, 1-CH₃), 1.46 (m, 2H, 2-H), 1.61 (m, 2H, 3-H), 2.00 (t, J = 6.4 Hz, 2H, 4-H), 1.68 (s, 3H, 5-CH₃), 1.83 (s, 3H, 9-CH₃), 6.06 (d, J = 15.8 Hz, 1H, 7-H), 6.38 (d, J = 15.8 Hz, 1H, 8-H), 5.85 (d, J = 8.2 Hz, 1H, 14-H), 9.95 (d, J = 8.2 Hz, 1H, 15-H), 2.52 (t, J = 5.8 Hz, 2H, 11-H), 2.48 (t, J = 5.8 Hz, 2H, 12-H), 2.45 (t, J = 6.5 Hz, 2H, 20-H), 1.75 (m, 2H, 21-H), 2.72 (t, J = 6.4 Hz, 2H, 22-H); **6**: δ = 1.00 (s, 6H, 1-CH₃), 1.46 (m, 2H, 2-H), 1.60 (m, 2H, 3-H), 2.00 (t, J = 6.4 Hz, 2H, 4-H), 1.68 (s, 3H, 5-CH₃), 1.82 (s, 3H, 9-CH₃), 6.06 (d, J = 16.3 Hz, 1H, 7-H), 6.39 (d, J = 16.3 Hz, 1H, 8-H), 5.85 (d, J = 8.1 Hz, 1H, 14-H), 9.96 (d, J = 8.1 Hz, 1H, 15-H), 2.57 (t, J = 6.6 Hz, 2H, 11-H), 2.91 (t, J = 6.6 Hz, 2H, 12-H), 2.45 (t, J = 6.3 Hz, 2H, 20-H), 1.71 (m, 2H, 21-H), 2.37 (t, J = 6.3 Hz, 2H, 22-H); Negativ-Ionen-ESI-MS (NH₃): m/z: 313 [M + H]⁺, 331 [M + NH₄]⁺.
- [15] H. Akita, S. P. Tanis, M. Adams, V. Balogh-Nair, K. Nakanishi, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 6370.
- [16] Die Außensegmente der Rinderstäbchenzellen (rod outer segments, ROS) wurden nach bekannten Methoden isoliert und gebleicht [20]. Die synthetischen Pigmente **4**, **14** und **15** wurden bei 25 °C im Dunkeln hergestellt. Dazu wurde je 1 OD Opsin in 67 mM Natriumphosphatpuffer (pH = 7.0, 500 μL) suspendiert, und eines der Retinalanaloga **2** (3.5 Mol-Äquiv.), **5** bzw. **6** (1.5 Mol-Äquiv.) in EtOH (5 μL) wurde zugesetzt. Die Vergleichsprobe wurde durch Zugabe von EtOH (5 μL) zu 1 OD Opsin erhalten. Alle Proben wurden 5 h gerührt und anschließend 15 min bei 50 000 g zentrifugiert. Die Pellets wurde in 23 mM Octylglucosid in Phosphatpuffer (67 mM, pH = 7.0, 1 mL) gelöst und die Lösungen bei 50 000 g 10 min zentrifugiert. Mit den Überständen wurden die UV- und CD-Spektren aufgenommen. Alle UV- und CD-Spektren der Rhodopsinpigmente wurden durch Subtraktion des UV- bzw. CD-Spektrums der Vergleichsprobe korrigiert.
- [17] F. Mohamadi, N. Richards, W. C. Guida, R. Liskamp, M. Lipton, C. Caufield, G. Chang, T. Hendrickson, W. C. Still, *J. Comput. Chem.* **1990**, *4*, 440.
- [18] H. Kakitani, T. Kakitani, S. Yomosa, *J. Phys. Soc. Jpn.* **1977**, *42*, 996.
- [19] M. Han, S. O. Smith, Yale University, persönliche Mitteilung.
- [20] D. S. Papermaster, *Methods Enzymol.* **1982**, *81*, 49.

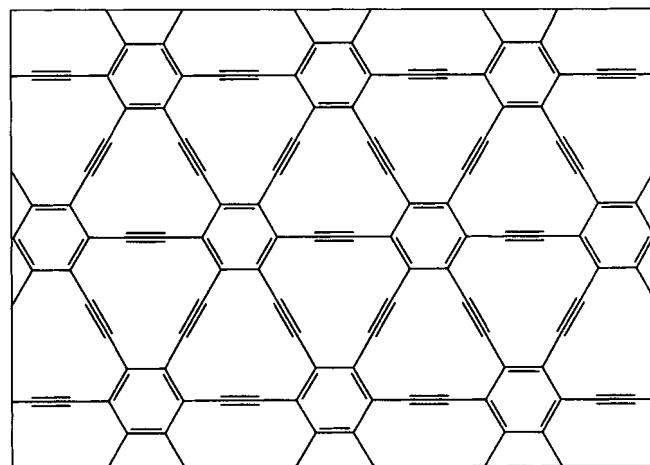
5,6,11,12,17,18-Hexadehydro-1,4,7,10,13,16-hexaethynyltribenzo[*a,e,i*]cyclododecen: Synthese und CpCo-katalysierte Cycloisomerisierung zu den ersten superdelokalisierten Oligophenylenen**

Christian Eickmeier, Heiko Junga, Adam J. Matzger, Frank Scherhag, Moonsub Shim und K. Peter C. Vollhardt*

Die Titelverbindung („Hexaethynyltribenzocyclin“) **1a** ist von großem Interesse als Untereinheit von Graphin **2**,^[1] einem partiell carbomeren,^[2] graphitartigen Kohlenstoffallotrop,^[3] als ausgedehntes, zur Bindung von Übergangsmetallen fähiges π-



- 1a**, R = H
1b, R = Si(CH₃)₂[C(CH₃)₂CH(CH₃)₂]
1c, R = Pr
1d, R = CH₂C₆H₁₁



2

[*] Prof. Dr. K. P. C. Vollhardt, Dr. C. Eickmeier, Dr. H. Junga, A. J. Matzger, Dr. F. Scherhag, M. Shim
 Department of Chemistry, University of California at Berkeley
 and
 The Chemical Sciences Division, Lawrence Berkeley National Laboratory
 Berkeley, CA 94720 (USA)
 Telefax: Int. + 510/643-5208
 E-mail: vollhardt@cchem.berkeley.edu

[**] Diese Arbeit wurde von der National Science Foundation (CHE-9202152) gefördert. C. E. und F. S. danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für Postdoktorandenstipendien. A. J. M. erhielt ein Syntex-Promotionsstipendium (1994–1995) und war ACS Division of Organic Chemistry Graduate Fellow (1995–1996), finanziert durch die Rohm and Haas Co. Wir danken den Professoren M. M. Haley (University of Oregon) und W. J. Youngs (University of Akron) für Vorabdrucke ihrer Arbeiten sowie Dr. K. Oertle (Ciba-Geigy AG) für eine Spende an Chlordinmethyl(1,1,2-trimethylpropyl)silan.