

## Beiträge zur Chemie der Pyrrolpigmente, 21. Mitt.<sup>1</sup>:

Röntgenphotoelektronenspektrometrische Untersuchungen des N<sub>1s</sub>-Niveaus von Gallenpigmenten

Heinz Falk<sup>a,\*</sup>, Karl Grubmayr<sup>a</sup>, Klaus Thirring<sup>a</sup>  
und Norbert Gurker<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Institut für Organische Chemie, Universität Wien, A-1090 Wien

<sup>b</sup> Institut für Technische Physik, Technische Universität Wien,  
A-1040 Wien, Österreich

(Eingegangen 2. November 1977)

*On the Chemistry of Pyrrole Pigments, XXI.: X-Ray Photoelectron Spectrometric Investigations of the N<sub>1s</sub>-Level of Bile Pigments*

N<sub>1s</sub>-X-ray photoelectron spectra of bilatrienes-abc exhibit two peaks with intensities of 3:1 and differing in bonding energy by approximatly two eV. By comparison with the spectra of model compounds representing certain bile pigment partial structures these peaks could be assigned to the lactam-, pyrrole- and the pyrrolenine type nitrogen atoms. From these results it could be established that bilatrienes-abc exist in the crystalline state as bis-lactam forms, having an unsymmetrical canonical dipyrromethene partial structure. By the same procedure the bis lactam structure of biladienes-ac (e.g. bilirubin) was deduced.

### Einleitung

Die beiden in natürlichen Systemen am weitesten verbreiteten Strukturtypen von Gallenfarbstoffen sind die Bilatriene-abc und die Biladiene-ac. Die Bedeutung dieser Pigmente ist nicht nur auf den Metabolismus porphinoider Strukturen begrenzt, sie erstreckt sich — wie z. B. im Pflanzenreich — auch auf ihre Funktion als Antennenpigmente oder Photorezeptoren<sup>2</sup>. Die Zielsetzung unserer Arbeiten ist es, detaillierte Einblicke in die statische und dynamische Stereochemie von Gallenfarbstoffen zu erlangen und diese mit Lichtabsorption und Photochemie zu korrelieren, was vor allem in Hinblick auf Hypothesen über Struktur und Wirkungsmechanismus

des pflanzlichen Photorezeptors für die Photomorphogenese, des Phytochroms, von besonderem Interesse ist.

Im Zusammenhang mit semiempirischen Rechnungen, die eine Brücke zwischen experimentell abgeleiteter Struktur und Lichtabsorptionseigenschaften darstellen, ist die Symmetrie der Ladungsdichteverteilung ein wesentliches Kriterium für die Güte dieser Rechnungen. Röntgenphotoelektronenspektrometrische Messungen an bestimmten Zentren eines Moleküls geben darüber Aufschluß. Vor allem die Spektroskopie des N<sub>1s</sub>-Niveaus hat öfter genaue Angaben über Größenverhältnisse und Symmetrie der Ladungsdichtevertteilung ermöglicht<sup>3</sup>. Sie gestattet über den Dialog mit semiempirischen Rechenmethoden hinaus — auf Grund ihres Zeitauflösungsvermögens — die Beschreibung struktureller Details, die sich mitunter dem „Blick“ der Röntgenstrukturanalyse entziehen können.

Die vorliegende Mitteilung beschreibt die N<sub>1s</sub>-Röntgenphotoelektronenspektren einiger Gallenpigmente und davon abgeleiteter Modellverbindungen. Die Zuordnung der Signale führt zu Aussagen über Struktur (Ladungsdichtevertteilung) und Tautomerie in diesen Systemen.

### Methodik

Um ein möglichst detailliertes Bild von der Ladungsdichtevertteilung und den Tautomerieverhältnissen bei integralen Gallenpigmenten zeichnen zu können, haben wir in die vorliegenden Untersuchungen auch Modellverbindungen für Gallenpigmentpartialstrukturen miteinbezogen. Dies war in erster Linie für die Zuordnung der Signale der einzelnen Stickstoffatome von Vorteil. Auf diese Weise konnten aber auch tautomere Strukturen „fixiert“ werden. Die Spektren wurden unter den früher beschriebenen<sup>4</sup> Vorsichtsmaßnahmen aufgenommen. Die Kalibrierung erfolgte einerseits nach dem beschriebenen Verfahren (Korrektur der Aufladung durch Variation der Röntgenröhrenspannung<sup>5</sup>), andererseits nach einer jüngst mitgeteilten Methode<sup>6</sup>, die auch eine relativistische Korrektur beinhaltet. Im Falle überlappender Banden wendete man ein iteratives Entfaltungsverfahren an, das es erlaubt, eine von Erregerlinienform und Spektrometerfunktion weitgehend abstrahiertes Spektrum zu erhalten<sup>7</sup>. Der iterative Korrekturprozeß am „Nettoprofil“ wird dann abgebrochen, wenn nach der Faltung dieser Verteilung mit den die Geräteeigenschaften charakterisierenden Funktionen ausreichende Übereinstimmung mit dem gemessenen Spektrum erzielt wird. Der Auflösungsgewinn ist dabei mit der Zunahme des Rauschens im entfalteten Spektrum abzustimmen. Diese Spektren wurden dann — wenn nötig — bezüglich ihrer Intensitätsverhältnisse und Lage durch Überlagerung von Gaussförmigen Banden analysiert.

### Ergebnisse und Diskussion

Stellvertretend für die im Rahmen dieser Mitteilung untersuchten Verbindungen ist in Abb. 1 das Röntgenphotoelektronenspektrum des

$N_{1s}$ -Niveaus von Ätiobiliverdin-IV- $\gamma$  (**1**)\* wiedergegeben: Diese Abbildung enthält auch das entfaltete Spektrum als Rechteckverteilung nach fünfzehn Entfaltungsschritten, die der natürlichen Linienform des  $N_{1s}$ -Niveaus von **1** entspricht. Schon die visuelle Inspektion dieser Verteilung lehrt — und das Einpassen von *Gaussförmigen* Kurven bestätigt dies zahlenmäßig — daß es sich um drei überlagerte, unaufgelöste Banden neben einer davon abgesetzten Bande handelt. Drei Stickstoffatome mit etwa gleicher Ladungsdichte stehen einem vierten mit erhöhter Ladungsdichte gegenüber. Die Bindungsenergien betragen 399,1 und 397,1 ( $\pm 0,3$ ) eV. Ein völlig gleichartiges Bild erhält

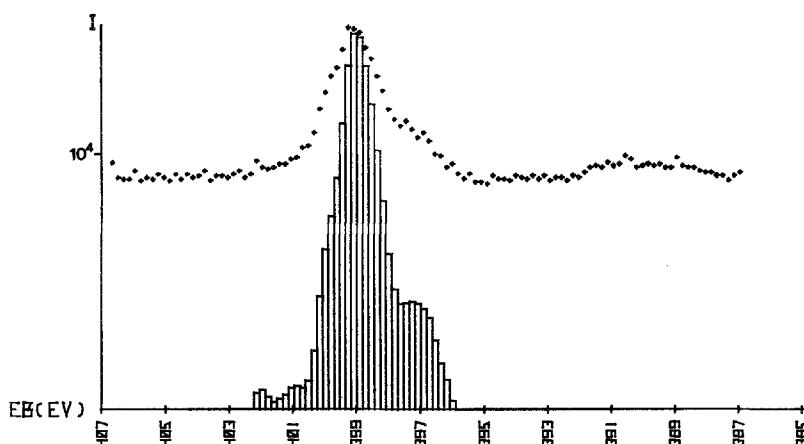
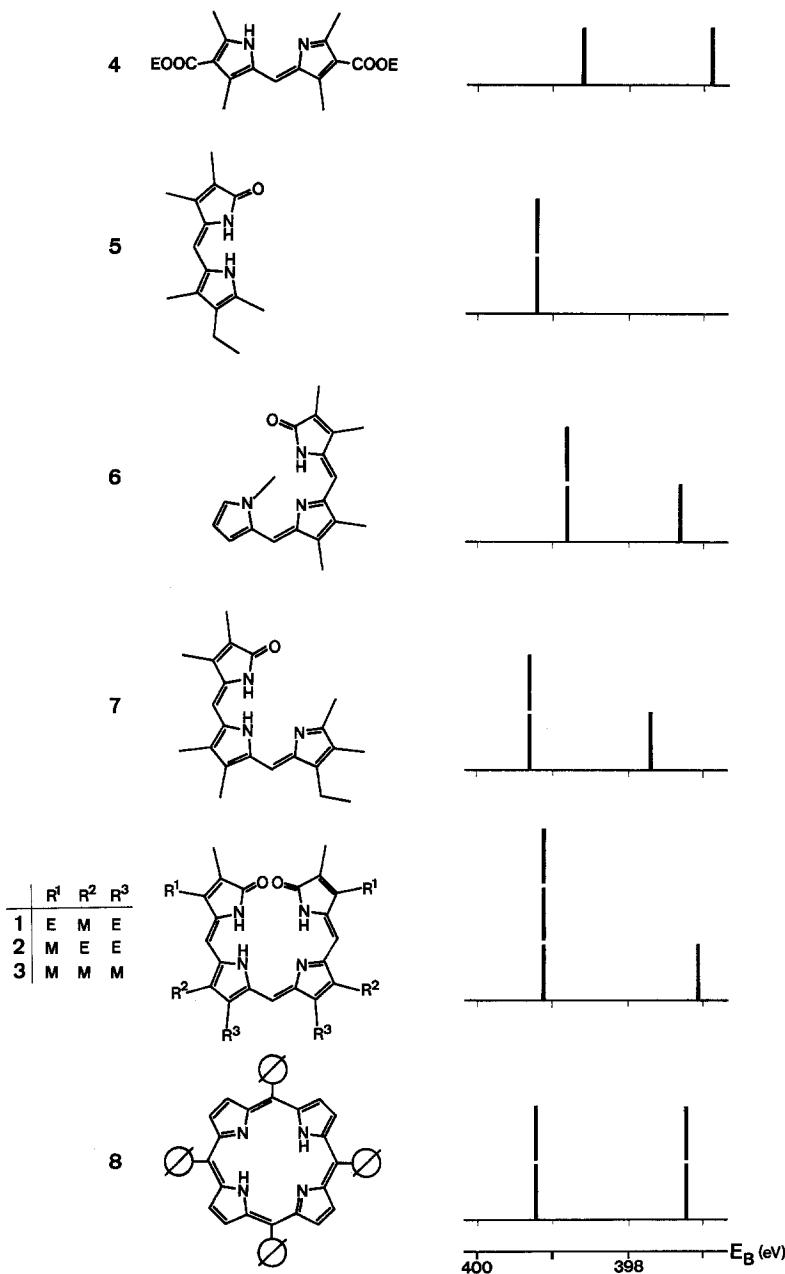


Abb. 1.  $N_{1s}$ -Röntgenphotoelektronenspektrum von **1** und dessen Entfaltung

man für die Bilatriene-*abc* **2** und **3**. Die Bindungsenergien (Intensitäten) betragen dort 399,2 (3) und 397,2 (1) bzw. 399,0 (3) und 397,0 (1) eV.

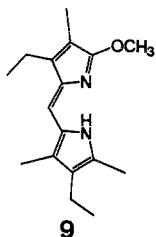
Zunächst mußte geklärt werden, wie es bei den Bilatrienen-*abc* zur Gleichartigkeit von drei Stickstoffatomen kommen kann: Die formale  $C_{2v}$ -Symmetrie des Systems läßt ja primär an ein Intensitätsverhältnis von 2:2 denken bzw. zusammen mit der Dissymmetrie des Pyromethen-Partialstrukturelementes<sup>4</sup> sogar eines der Form 2:1:1 erwarten. Wie schon mehrmals<sup>8</sup>, so bringt auch hier das Studium von Modellverbindungen, die Partialstrukturen repräsentieren, eine Lösung des Problems: In Abb. 2 findet sich eine Gegenüberstellung der Bandenlagen und Intensitäten der Röntgenphotoelektronenspektren im Bereich des  $N_{1s}$ -Niveaus der Verbindungen **1**—**7**. Während man für

\* Formeln siehe Abb. 2.

Abb. 2. N<sub>1s</sub>-Niveaus der Verbindungen 1—7 (*E* = Ethyl, *M* = Methyl)

die Pyrromethen-Partialstruktur (vertreten durch Verbindung **4**) zwei Signale gleicher Intensität erhält, die die kanonische Struktur im Sinne des Formelbildes beweisen<sup>4</sup>, zeigt die Pyrromethenonstruktur (**5**) eine einzige, nicht aufgelöste Bande. Das Charakteristikum des Pyrromethentyps wird in **6** und **7** jeweils von dem des Pyrromethenontyps überlagert, so daß schließlich der Phänotyp der N<sub>1s</sub>-Spektren von **1—3** verständlich wird. Die Zuordnung der Banden zu den einzelnen Stickstoffatomen des Moleküls ist damit evident. Dies wird noch durch die Gegenüberstellung der Spektren von **1—3** mit dem des Porphins **8**<sup>4,9</sup> ergänzt: Die dort auf Grund theoretischer Überlegungen getroffene Zuordnung der Stickstoffsignale zum Pyrrol- bzw. Pyrrolenintyp wird durch die experimentelle Ableitung in Abb. 2 bestätigt.

Der zweite wesentliche Aspekt im Bereich der Chemie der Pyrrolpigmente im allgemeinen und der Gallenpigmente im besonderen ist das Problem der Tautomerie<sup>10—12</sup>. Wie in einer Studie über die Tautomerie von Pyrromethenen mitgeteilt wurde, liegt bei diesen Systemen ein Gleichgewicht zweier Formen mit kanonischer Bindungsanordnung und nicht eine C<sub>2v</sub>-symmetrische Species vor, wie dies NMR-Messungen zunächst nahe legen<sup>4,11</sup>. Diese Aussage gilt auch für die Bilatriene-abc (vgl. Abb. 2): Im Bereich der Bindungsenergie des Pyrroleninstickstoffs von **4** findet sich auch bei **1—3** ein Signal. Dieser Befund ergänzt bestens die Aussagen der Röntgenstrukturanalyse des Biliverdindimethylesters<sup>13</sup>, wo im Bereich der Pyrromethen-Partialstruktur eher symmetrische Verhältnisse vorzuliegen scheinen. Im kristallinen Zustande hat man es bei Bilatrienen-abc also mit einem Pyrromethen zu tun, das mit zwei Lactamfragmenten in den Stellungen 5,5' substituiert ist.



Bei den Bilatrienen-abc ist die Lactamform des Biliverdindimethylesters durch die röntgenstrukturanalytische Untersuchung<sup>13</sup> zweifelsfrei bewiesen. Im Röntgenphotoelektronenspektrum von **1—3** findet sich im Bereich für die Pyrrol- und Lactam-Stickstoffatome das entsprechende Signal in dreifacher Intensität, bezogen auf das Pyrroleninsignal des Pyrromethenfragmentes.

Für die Biladiene-*ac* — der wichtigste Vertreter ist hier das Bilirubin ( $E_B = 399,2 \text{ eV}$ )<sup>4</sup> — erhält man N<sub>1s</sub>-Spektren, die praktisch deckungsgleich zu jenen der Verbindung **5** sind. Der Vergleich dieses Ergebnisses mit dem Spektrum der „fixierten Lactimform“ **9** ( $E_B = 399,2$  und  $387,8 \pm 0,2 \text{ eV}$ ) oder auch des Dimethoxybilirubindimethylesters<sup>10</sup> beweist zusammen mit der Röntgenstrukturanalyse<sup>14</sup> einer zu **5** analogen Verbindung, daß Bilirubin im kristallinen Zustand in der Bis-Lactamform vorliegt. Dieses wichtige Detail der Struktur des Bilirubins blieb bei einer Röntgenstrukturanalyse<sup>15</sup> dieses Pigments ungeklärt, da die starke intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung zwischen Lactamfragmenten und Propionsäureseitenketten die Lokalisierung des Wasserstoffatoms und damit die Entscheidung zwischen Lactam- und Lactimform vereitelte.

### Dank

Die vorliegende Untersuchung wurde durch den Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Projekt Nr. 2732) unterstützt. Die Möglichkeit zur Messung der Röntgenphotoelektronenspektren an dem aus Mitteln des oben genannten Fonds erworbenen Spektrometer verdanken wir dem hilfreichen Entgegenkommen von Frau Dr. *M. F. Ebel* und Herrn Prof. Dr. *H. Ebel*, Institut für Technische Physik der Technischen Universität Wien.

### Experimenteller Teil

Darstellung und Eigenschaften der untersuchten Verbindungen wurden bereits beschrieben: **1**<sup>16,17</sup>, **2**<sup>17</sup>, **3**<sup>18</sup>, **4**<sup>19</sup>, **5**<sup>20</sup>, **6**<sup>21</sup>, **7**<sup>22</sup>, **8**<sup>23</sup>, **9**<sup>24</sup>, Dimethoxybilirubindimethylester<sup>25</sup>. Bilirubin war p. A. Handelsware (für ihre Überlassung danken wir Herrn Dr. *K. Bauer*, Fa. Werfft-Chemie, Wien, sehr herzlich).

Die Messung der Röntgenphotoelektronenspektren erfolgte mit einem *McPherson-ESCA-36*-Spektrometer: Mg-Anode, 6 kV, 40 mA;  $2 \cdot 10^{-7}$  Torr. Man akkumulierte jeweils 100 Spektren. Die Details über Aufladungskorrektur, Kalibrierung und mathematischer Spektrenanalyse bei Bandenüberlappung (Entfaltung) finden sich in der Literatur<sup>6,7</sup>. Von der Unversehrtheit der Proben nach der Röntgenbestrahlung vergewisserte man sich durch Ablösen und spektralphotometrische Kontrolle.

### Literatur

- 1 20. Mitt.: *H. Falk* und *A. Leodolter*, Mh. Chem. **109**, 883 (1978).
- 2 *W. Rüdiger*, Fortschr. Chem. Org. Naturst. **29**, 60 (1971); *H. Mohr*, Lectures on Photomorphogenesis. Berlin-Heidelberg-New York: Springer. 1972.
- 3 *H. Falk*, Microchim. Acta, Suppl. 6, **1975**, 457.
- 4 *H. Falk*, *O. Hofer* und *H. Lehner*, Mh. Chem. **105**, 366 (1974).
- 5 *M. F. Ebel*, Acta Physica Austr. **41**, 125 (1975).
- 6 *M. F. Ebel*, J. Electron Spectr. Rel. Phenom. **8**, 213 (1976).
- 7 *N. Gurker*, *H. Ebel* und *H. Falk*, Microchim. Acta, Suppl. 6, **1975**, 431; *N. Gurker*, J. Electron Spectr. Rel. Phenom., im Druck.
- 8 Siehe Lit. <sup>1</sup> und die vorangegangenen Mitteilungen.

- <sup>9</sup> M. V. Zeller und R. G. Hayes, J. Amer. Chem. Soc. **95**, 3855 (1973); Lit. <sup>4</sup>.
- <sup>10</sup> H. Falk, S. Gergely, K. Grubmayr und O. Hofer, Ann. Chem. **1977**, 565.
- <sup>11</sup> H. Falk, S. Gergely und O. Hofer, Mh. Chem. **105**, 853 und 1004 (1974).
- <sup>12</sup> H. Falk und O. Hofer, Mh. Chem. **105**, 995 (1974).
- <sup>13</sup> W. S. Sheldrick, J. Chem. Soc., Perkin Trans. II, **1976**, 1457.
- <sup>14</sup> D. Cullen, P. S. Black, E. F. Meyer, D. A. Lightner, G. B. Quistad und C. Pak, Tetrahedron **33**, 477 (1977).
- <sup>15</sup> R. Bonnett, J. E. Davies und M. B. Hursthouse, Nature [London] **262**, 326 (1976).
- <sup>16</sup> K. M. Smith, J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, **1972**, 1471.
- <sup>17</sup> H. Falk und K. Grubmayr, Synthesis **1977**, 614.
- <sup>18</sup> H. v. Dobeneck, E. Brunner und H. Reinhard, Tetrahedron Lett. **1966**, 5331.
- <sup>19</sup> F. C. March, D. A. Couch, K. Emerson, J. E. Ferguson und W. T. Robinson, J. Chem. Soc. **1971 A**, 440.
- <sup>20</sup> H. Falk, K. Grubmayr, G. Höllbacher, O. Hofer, A. Leodolter, F. Neufingerl und J. M. Ribó, Mh. Chem. **108**, 1113 (1977).
- <sup>21</sup> H. Falk und K. Grubmayr, Mh. Chem. **108**, 625 (1977).
- <sup>22</sup> H. Falk, S. Gergely, K. Grubmayr und O. Hofer, Z. Naturforsch. **32 b**, 299 (1977).
- <sup>23</sup> A. Treibs und N. Häberle, Ann. Chem. **718**, 183 (1968).
- <sup>24</sup> H. Falk, A. Leodolter und G. Schade, Mh. Chem. **109**, 183 (1978).
- <sup>25</sup> H. Fischer, H. Plieninger und O. Weissebarth, Z. Physiol. Chem. **268**, 197 (1941).