

BEITRÄGE ZUR CHEMIE DER PYRROLPIGMENTE—XXXVII¹

ÜBERBRÜCKTE GALLENPIGMENTE: N₂₁-N₂₄-METHYLEN-AETIOBILIVERDIN-IV- γ UND N₂₁-N₂₄-METHYLEN-AETIOBILIRUBIN-IV- γ

H. FALK* und K. THIRRING

Institut für Organische Chemie der Universität Wien bzw. Universität Linz, A-4040, Österreich

(Received in Germany 2 April 1980)

Abstract—N₂₁-N₂₄-methylene bridged aetobiliverdin-IV- γ and aetobilirubin-IV- γ (2 and 5) were synthesized. Their spectroscopic properties were investigated with respect to a correlation with their unequivocal given tautomeric and steric structure. 2 was resolved partially and the chiroptical properties of this inherent chiral chromophore are discussed, moreover a tentative absolute configuration was deduced. The albumine or solvent induced chiroptical properties of 2 and 5 are compared with those of flexible parent compounds which serve as models for the corresponding natural pigments.

Die spektroskopischen Eigenschaften von Verbindungen sind unmittelbar mit deren Struktur verknüpft. Im Bereich der verdinoiden und rubinoiden Gallenpigmente ist aber die eindeutige Festlegung der Struktur in sterischer und tautomerer Hinsicht vor allem im gelösten Zustand ausserordentlich schwierig und mitunter die Ursache spekulativer Interpretation spektroskopischer Eigenschaften. Wir haben in unseren bisherigen Mitteilungen² versucht, durch die Darstellung von Modellsystemen mit möglichst eindeutiger Struktur diesen Diskussionen, die im Hinblick auf die Struktur-Eigenschafts-Korrelation natürlicher Systeme interessant sind, ein Fundament zu geben.

In vorangegangenen Mitteilungen^{1,3} konnte gezeigt werden, dass die gezielte N-Methylierung von Bilatrienen-abc ein ausgezeichnetes Mittel darstellt, bestimmte Änderungen der Struktur dieser Verbindungen im gelösten Zustand hervorzurufen. Die Aspekte des Zusammenhangs von Struktur und Lichtabsorption sind aber auch in diesen Systemen noch immer mit der Unsicherheit, die flexiblen Systemen eigen sind, behaftet. Eine diesbezügliche Einschränkung der Freiheitsgrade von offenkettigen, tetrapyrrolischen Molekülen ist naturgemäß nur für ein verbrücktes Modell zu erwarten und hier ist es vor allem die Verknüpfung der beiden Laktamringe A und D, die sowohl bei Bilatrienen-abc als auch bei Biladienen-ac zu einer weitestgehend festgelegten Struktur führen sollte. Solche Verbindungen wurden bislang nicht beschrieben, lediglich Derivate mit einer Verbrückung im Bereich des Pyromethen- bzw. Pyromethenonfragmente von Bilatrienen-abc sind in der Literatur⁴ zu finden.

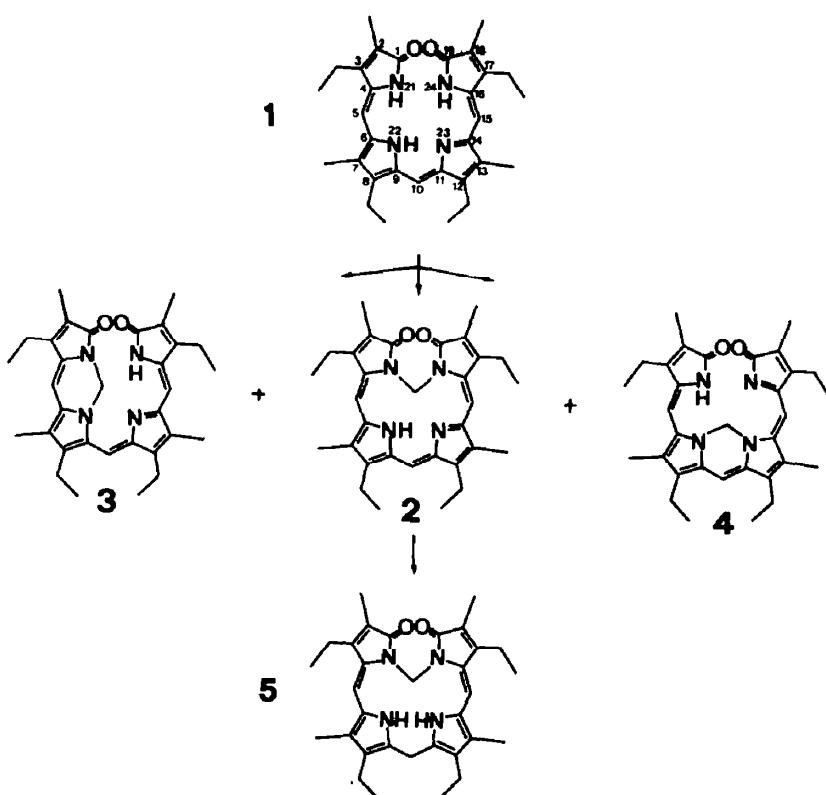
Die vorliegende Mitteilung hat nun die Darstellung und Untersuchung von Ring-A - Ring-D überbrückten Bilatrienen-abc, bzw. Biladienen-ac zum Ziel, wobei diese Brücke im Hinblick auf eine maximale Flexibilitäts einschränkung des Moleküls möglichst kurz sein sollte. Dabei wurde auch darauf geachtet, dass die tautomere Struktur möglichst fixiert und die Struktur des Chromophors möglichst wenig geändert werden sollte.

Synthetische und strukturelle Aspekte

Unseren Erfahrungen bei der N-Alkylierung von

Bilatrienen-abc^{1,3} folgend, schien die Einwirkung von Dijodmethan⁵ in basischem Milieu auf Aetobiliverdin-IV- γ (1), das vor allem wegen seiner günstigen Zugänglichkeit⁶ ein ideales Modellsystem darstellt, besonders erfolgversprechend. Tatsächlich lässt sich aus einem solchen Reaktionsansatz ein Produkt isolieren, dem auf Grund seiner spektroskopischen Eigenschaften die Struktur 2 zuzuordnen ist: Das hochauflösende Massenspektrum weist eine Molmasse von 510.297 auf, was den Ablauf der formalen Reaktion 1-2H + CH₂ bestätigt. Diese Molmasse findet man auch mit dampfdruckosmometrischen Messungen der Lösung von 2 in Chloroform, d.h. 2 ist monomolekular gelöst.

Wie das IR-Spektrum zeigt, sind die Carbonylgruppen erhalten geblieben — die Röntgenphotoelektronenspektrometrie des N_{1s}-Niveaus gibt ein gegenüber 1' unverändertes Bild, d.h. dass bei 2 eine Bis-Laktamstruktur vorliegt. Da das Methylenignal im ¹H-NMR-Spektrum bei hohen Frequenzen zu liegen kommt, ist eine N-CH₂-N-Struktur gesichert. Unter Beachtung der Tautomerierandbedingung sind für eine solche vier Isomere möglich, nämlich mit Überbrückungen zwischen N_A-N_B, N_A-N_C, N_B-N_C und N_A-N_D. Hier sollte das Kernresonanzspektrum eine Zuordnung gestatten: Nur im Falle der Verbrückung von N_A-N_D kann ein Spektrum erhalten werden, das über eine Zeitmittelung (rascher Protonentransfer im Pyromethenfragment) die C₂-Symmetrie widerspiegelt. Für den Fall der N_B-N_C-Überbrückung wäre eine mittlere C₂-Form nur möglich, wenn z.B. N_B einen quartären Bindungszustand einnimmt. Eine solche Spezies müsste sich jedoch durch ihr Röntgenphotoelektronenspektrum (1:2:1-odor 2:2-Typ des N_{1s}-Signals) und ihr chemisches Verhalten zu erkennen geben. Das ¹H-NMR-Spektrum von 2 ist gegenüber jenem von 1 nur durch geringfügige Verschiebungen und die Anwesenheit einer Methylengruppe gekennzeichnet, es weist also auf die, zumindest im Zeitmittel gegebene C₂-Symmetrie des Systems hin, so dass 2 die Struktur eines N_A-N_B-methyleneüberbrückten Isomeren zuzuordnen ist. Wie im Fall von 1' wird die Konfiguration (Z, Z, Z) durch Auftreten einer Intensitätserhöhung der Signale für die Protonen in Stellung 5, 10 und 15 bei Einstrahlen in das Methylenignal der Ethylgruppen bestätigt.



Als Nebenprodukte der Verbrückungsreaktion wurden zwei weitere Isomere 3 und 4 erhalten, denen wir vorbehaltlich genauerer Studien die Strukturen der N_A - N_B und N_B - N_C -Überbrückung zuordnen: Wird nämlich in 2 das Methylenignal im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum auf Grund der Anisotropieeffekte der beiden Carbonylgruppen und des gegenüber liegenden Pyromethenfragmentes zu höchsten Frequenzen verschoben, so ist diese Verschiebung für 3 weniger ausgeprägt und am schwächsten für 4 zu erwarten. Ebenso auffällig ist die durch die geringfügigere Aufspaltung der einzelner Signale angedeutete höhere Symmetrie von 4, wie sie in den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren zum Ausdruck kommt. 3 ist chromatographisch etwas weniger wewiglich als 2, 2 und 4 wandern dabei rascher als 1. Die Röntgenphotoelektronenspektren zeigen auch für 3 und 4 das zu 1 und 2 analoge Bild. In diesem Zusammenhang ist es auch interessant festzustellen, dass nur die Lösung von 4 bei Belichtung zwei weitere Photoisomere gibt, 2 ist auch in Anwesenheit eines Donors' photochemisch inert. Einen weiteren interessanten Befund stellt die Möglichkeit zur Bildung von 4 durch kurzes Rückflusskochen von 2 in Ethanol dar. Einen Hinweis auf die Struktur der Isomeren 3 und 4 bieten auch die UV-VIS-Spektren: Die Lage der langwelligen Absorptionsbande deutet auf eine fortschreitende Verdrillung des Systems beim Übergang von 2 nach 3 und 4 hin.

Die Darstellung des rubinoiden Systems 5 aus 2 ist durch die Reduktion von 2 mit Natriumborhydrid einfach zu bewerkstelligen. Die Struktur von 5 folgt unmittelbar aus der Bildungsreaktion und den spektroskopischen Eigenschaften. Bei Bestrahlung von 5 konnten keine Photoisomeren beobachtet werden.

Eigenschaften von 2 und 5 und deren Diskussion

(1) *Absorptionsspektren*: Die Abb. 1 zeigt das Absorptionsspektrum von 2 zusammen mit jenem der protonierten Spezies. Die bathochrome Verschiebung der langwelligen Bande zusammen mit der Zunahme des Intensitätsverhältnisses bestätigt die Voraussagen einschlägiger Rechnungen — so zeigt die in Abb. 1 gegebene PPP-SCF-LCAO-MO-Cl-Rechnung¹⁰ ausgezeichnete Übereinstimmung mit dem Experiment, wenn man die aus Molekülmodellen und $^1\text{H-NMR}$ -Verschiebungsexperimenten (s. Exp. Teil) ableitbare Diederwinkelsumme $|\alpha| + |\beta| + |\gamma| = 30^\circ$, verwendet. Weiters ergibt sich bei 2 nun erstmals die Möglichkeit, die Grösse der "Protonierungsverschiebung" der langwelligen Bande frei von den Anteilen ev. auftretender Änderungen in der räumlichen Anordnung des Chromophors zu erhalten; sie beträgt 600 cm^{-1} . Durch die Zugabe von Zinkionen und Hünigbase tritt keine Änderung des Absorptionsspektrums von 2 ein, die Bildung des Chelates ist aus sterischen Gründen offenbar nicht möglich.

Das Absorptionsspektrum von 5 (s. Abb. 1) zeigt die aus einer weitgehend fixierten, nicht-orthogonalen, bzw. nicht-parallel Anordnung des bichromophoren Systems zu erwartende Aufspaltung der Absorptionsbande, wie sie auch aus PPP-Rechnungen folgt. Da in 5 ausserdem durch die Blockierung der beiden Laktamstickstoffatome auch die Frage der Tautomerie zwangsläufig geklärt ist, besteht hier kein Zweifel am Ursprung des Zweibandensystems. Man beobachtet in den UV-VIS-Spektren von 5 weder eine ausgeprägte Temperaturabhängigkeit, noch eine bemerkenswerte Abhängigkeit der Bandenlagen vom Lösungsmittel; das Lambert-Beer'sche Gesetz ist im

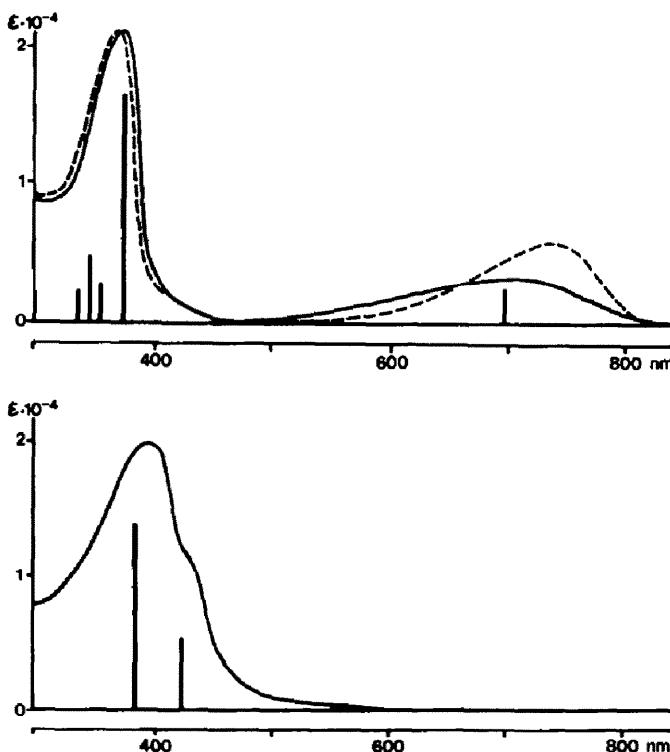


Abb. 1. UV-VIS(CHCl₃) von 2(—) bzw. 2. H⁺(—) oben und 5(—) unten sowie PPP-Rechenergebnisse für 2 ($\alpha = \beta = 10$, $\gamma = -10^\circ$) und 5($\alpha = -\gamma = 15$ und $\beta = \beta' = 10^\circ$).

Konzentrationsbereich von 10^{-3} bis 10^{-2} mol \times dm⁻³ erfüllt, d.h. es besteht keine Neigung zur Ausbildung von Assoziaten.¹¹

Damit konnten hier erstmals die UV-VIS-Spektren von verdinoiden und rubinoiden Pigmenten definierter tautomerer Struktur und weitgehend vorgegebener räumlicher Anordnung erhalten werden, was im Hinblick auf das Verständnis der Absorptionspektroskopie dieser Verbindungsklassen von grundlegender Bedeutung ist.

(2) *Konformationsanalytische Aspekte*: Die Inspektion von Molekülmodellen der Verbindung 2 zeigt, dass man es mit einer etwas verzerrten Helix der Symmetrie C₂ zu tun hat, deren Ganghöhe (O–O–Abstand) etwa 2 Å misst. Der innere, vierzehngliedrige Ring ist einerseits durch die "Klammern" der heterocyclischen Ringe, andererseits durch die Konfiguration (Z, Z, Z) an den exocyclischen Doppelbindungen in seiner Beweglichkeit stark eingeschränkt—das Durchschwingen der Helix scheint dadurch ähnlich erschwert, wie bei überbrückten Biphenylsystemen.¹²

Abkühlen der Lösung von 2 in CDCl₃ führt im ¹H-NMR-Spektrum bei etwa -60° nur zu einer Verbreiterung des Methylen singletts auf ca. 5 Hz., was darauf hindeutet, dass in diesem System der Sprung des Protons im Pyromethenfragment bei tiefen Temperaturen behindert wird (vgl. dazu die analoge Erscheinungen bei Porphinen¹³). Dies reduziert dann die effektive Symmetrie zu C₁, woraus für das CH₂-Signal ein AB-Spinsystem zu erwarten wäre. Dass es sich beim beschriebenen Phänomen nicht um das rasche Durchschwingen der Helix handeln kann, folgt aus dem Zusatz von Tris-[3-(1-hydroxy-2,2-dimethylpropyliden)-d-camphorato]europium: Bei Raumtemperatur erhält man eine Aufspaltung der Methylen-, CH-5,15- und Methyl-2,18-Signale, die bei Zusatz der etwa 0,3 molaren Menge des Reagens 100, 20 und 30 Hz beträgt. Diese Daten weisen auf eine

Mindesthöhe der Inversionsbarriere (des Komplexes von Substrat und Reagens) bei 40° von wenigstens 60 kJ \times mol⁻¹ hin.

Die Flexibilität des Makroringes nimmt bei der Reduktion von 2 zu 5 etwas zu, jedoch scheint auch hier aus groben Molekülmodellbetrachtungen eine C₂-symmetrische Anordnung auf Grund minimaler räumlicher Wechselwirkungen die stabilste zu sein.

Zusatz einer äquimolaren Menge des oben genannten chiralen Verschiebungsreagens bewirkt im ¹H-NMR-Spektrum von 5 eine Aufspaltung der CH₂-Signale mit etwa 10 Hz, d.h. auch hier ist offenbar eine gewisse Inversionsbarriere vorhanden. Die Analyse der Energiehyperfläche solcher verdinoider und rubinoider Systeme mit Hilfe einer Kraftfeldrechnung¹⁴ soll einer diesbezüglichen Mitteilung vorbehalten sein.

(3) *Zur optischen Aktivität von Bilatrienen-abc*: Aus den oben erhaltenen Ergebnissen, nach denen es bei Raumtemperatur eine offenbar erhebliche Inversionsbarriere für 2 gibt, war es naheliegend, die optische Aktivierung von 2 ins Auge zu fassen. Die kürzlich beschriebene reversible Addition von Donoren in Stellung 10 von Bilatrienen-abc² bietet hier einen erfolgversprechenden Ausgangspunkt. Die besten Ergebnisse erzielte man bei Verwendung von (+)-10-Campherthiol,¹⁵ das in einer kinetischen Racematspaltung bis zum etwa halben Umsatz in DMSO-Lösung auf 2 einwirkt. Das verdinoid Pigment wurde vom rubinoiden Addukt chromatographisch abgetrennt und das Addukt mit Hg(II) zerlegt. Da uns die Messung einer optischen Drehung innerhalb des Absorptionsbereiches nicht sinnvoll schien, wurde unmittelbar der Circular dichroismus (CD) der beiden chromatographisch nachgereinigten Fraktionen aufgenommen. Zusätzlich bestimmte man die optische Reinheit¹⁶ aus der Integration von Signalen im ¹H-NMR-Spektrum, die durch das oben genannte chirale

Verschiebungsreagens aufgetrennt worden waren. Die optische Reinheit der beiden Fraktionen mit zueinander entgegengesetzter optischer Aktivität beträgt $2 \pm 0.4\%$ und war für die optische Charakterisierung des Chromophors ausreichend. Erwärmung einer solchen optisch aktiven Fraktion in Chloroform auf 60° bewirkte eine Abnahme der Grösse des ursprünglichen chiroptischen Messwertes mit einer Geschwindigkeitskonstante für eine Reaktion erster Ordnung von etwa $2.3 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$. Die Inversionsbarriere für 2 ist bei dieser Temperatur dann in der Grössenordnung von $105 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ anzusetzen.

Die langwellige Absorptionsbande ($700 \pm 5 \text{ nm}$; $\epsilon = 3700$, $D = 6.6 \times 10^{-36}$) entspricht innerhalb der Fehlerbreite der Bandenlage ($695 \pm 5 \text{ nm}$, $\Delta\epsilon = +100 \pm 20$, $R = +4 \times 10^{-38} \text{ erg} \cdot \text{cm}^3$) der CD-Bande. Ihr Anisotropiefaktor $g = 4R/D = 2.4 \times 10^{-2}$ kennzeichnet sie als einen inhärenten chiralen Übergang.¹⁷ Im kurzweligen Bereich erhält man eine CD-Bande ($\Delta\epsilon = -30 \pm 6$; $R = -1.3 \times 10^{-38} \text{ erg} \cdot \text{cm}^3$), deren Lage ($380 \pm 5 \text{ nm}$) signifikant gegenüber der entsprechenden Absorption ($360 \pm 2 \text{ nm}$, $\epsilon = 21000$, $D = 4 \times 10^{-35} \text{ erg} \cdot \text{cm}^3$) verschoben ist. Wie die PPP-Ergebnisse nahelegen, sind in diesem Bereich mehrere Banden überlagert, d.h. nur die langstwellige Komponente dieser Gruppe zeigt optische Aktivität.

Geht man von der plausiblen Näherung aus, dass auch im Zeitbereich der Aufnahme eines Strahlungsquants das chromophore System von 2 effektive C_2 -Symmetrie aufweist, so folgt für die Vorzeichen von lang- und kurzwelliger Bande (sie gehören nach den PPP-Ergebnissen dem B- bzw. A-Typ an) aus der Vorzeichenregel für C_2 -symmetrische Chromophore,¹⁸ dass die Absolutkonfiguration des oben beschriebenen Enantiomeren durch eine rechtsgängige Helix gekennzeichnet ist. Aber auch die quantitative Übereinstimmung der experimentellen Rotationsstärken mit den für flache Bilatrien-abc-Helices rechnerisch erhaltenen Grössenordnungen¹⁹ ist bemerkenswert.

(4) *Induzierter Circular dichroismus.* Prinzipiell sind bei diesem Phänomen²⁰ drei Situationen zu unterscheiden: 1. Die optische Aktivität eines chiralen Substrates wird durch die Wechselwirkung mit einem achiralen Agens oder Lösungsmittel beeinflusst. 2. Die einzelnen Übergänge eines achiralen Substrates (Symmetrie C_{2v} oder höher liegend) werden durch die Wechselwirkung mit einem Enantiomeren eines chiralen Agens oder Lösungsmittels "optisch aktiv". 3. Ein chirales Substrat (C_n , D_n) tritt mit einem Enantiomeren eines chiralen Agens oder Lösungsmittels in Wechselwirkung, wobei zwei Möglichkeiten zu unterscheiden sind: 3.1 ein optisch stabiles Enantiomer des Substrates liegt vor oder 3.2 ein Racemat wird vorgegeben, wobei sich wiederum zwei Möglichkeiten ergeben, nämlich 3.2.1. Das 50:50-Gemisch kann durch diastereomere Wechselwirkungen nicht aus diesem Verhältnis verschoben werden (optisch stabile Enantiomere) oder 3.2.2. Die beiden Enantiomeren sind durch eine geringe Inversionsbarriere voneinander getrennt, was das 50:50-Verhältnis des Racemates durch eine Art asymmetrischer Induktion zugunsten eines Enantiomeren (d.h. des energetisch bevorzugten Wechselwirkungsdiastereomeren) verschieben kann. Dieser letztere Fall hat natürlich mit dem eigentlichen Phänomen des induzierten CD nichts zu tun und ist sorgfältig von diesem "optischen Induktionsphänomen" zu separieren. All diesen Möglichkeiten überlagert sind die denkbaren Extremsituationen, die sich auf Grund spezifischer, gerichteter Wechselwirkungen und statistisch zueinander orientierter Spezies ergeben — die entsprechende theoretische

Behandlung des Phänomens wurde von S. F. Mason gegeben.²¹

Der induzierte CD von verdinoiden und rubinoiden Pigmenten hat vor allem im Bereich der Komplexbildung dieser Verbindungen mit Serumalbumin grosses Interesse beansprucht²² — mangels geeigneter Modellsysteme sind aber hinsichtlich der molekularen Ursachen Fragen offen geblieben. Über den durch optisch aktive Lösungsmittel, bzw. Agentien induzierten CD dieser Pigmente wurde berichtet²³ und sogar versucht, strukturelle Informationen aus diesen Effekten zu erhalten.^{23b}

Für symmetrisch substituierte Gallenfarbstoffe ist die höchste erreichbare Symmetrie C_{2v} nur in offenkundig energetisch sehr destabilisierten Zuständen zu erzielen, bezüglich ihres Verhaltens in Gegenwart eines optisch aktiven Agens sind sie demnach in diesen Grenzfällen in die Gruppe 2 der obigen Systematik einzuordnen, ansonsten aber in 3.2 einzustufen. Da offenkettige tetrapyrrolische Pigmente relativ niedrige Inversionsbarrieren aufweisen,²⁴ sind sie der Untergruppe 3.2.2 zuzuordnen. Eine Diskussion der Messgrössen ist dann aber nur vor dem Hintergrund des Wissens um einen Modellfall aus der Gruppe 3.2.1 und ein optisch reines, dazugehöriges Enantiomeres angebracht. Beide Voraussetzungen sind nun gegeben: Vor allem in 2 hat man ein räumlich weitgehend fixiertes Racemat vor sich, wobei auch die Eigenschaften der Antipoden bekannt sind.

Werden Biliverdin,²² 1 und 2 bei pH 7 an Rinder-Serumalbumin adsorbiert, so erhält man bei Aufnahme der CD-Daten qualitativ vergleichbare Bilder, die aber in quantitativer Hinsicht dramatische Unterschiede aufweisen. So werden für die langwellige CD-Bande, die gegenüber der Absorptionsbande kaum verschoben ist, $\Delta\epsilon$ -Werte von -30 , $+5$ und $+0.5$ (kurzweliger Bereich: $+80$, -13 , -1.1) erhalten, die mit einem Wert von 100 für optisch reines 2 zu vergleichen sind. Dass bei der Komplexbildung von Biliverdin eine weitgehende Konversion zu einem Antipoden eintritt, ist damit gesichert — das Ausmass derselben ist offenbar kritisch von der Anwesenheit von Carboxylgruppen abhängig. Nur für racemisches 2 erhält man den Wert, der ausschliesslich der "Induktion optischer Aktivität" zuzuschreiben ist.

Ganz analog verhält es sich mit den rubinoiden Systemen: Bilirubin²² gibt bei pH 7 innerhalb der breiten Absorptionsbande ein Couplet mit $\Delta\epsilon$ -Werten von $+40$ und -20 (langwellig/kurzwelzig), welche für Aetobilirubin-IV- γ auf $+3$ und -4 zurückgehen; für 5 wird nur mehr eine langwellige Komponente von etwa $+0.3$ messbar. Dabei bleiben die Komplexierungseigenschaften erhalten — die spezifischen Wechselwirkungsmöglichkeiten und die sterische Anpassungsfähigkeit nehmen aber dramatisch ab, so dass schliesslich bei 5 lediglich der geringfügige Effekt des "optisch induzierten CD" übrig bleibt.

Der durch S-(—)-Ethyllactat²⁰ in razemischem 2 induzierte CD entspricht weitgehend dem Phänotyp des natürlich optisch aktiven 2: im langweligen Bereich tritt eine gegenüber dem Absorptionsmaximum (690 nm) praktisch nicht verschobene CD-Bande ($\Delta\epsilon = -0.5$) auf, die von einer zweiten Bande bei 385 nm ($\Delta\epsilon = +0.4$) gefolgt wird — sie liegt im langweligen Teil der zugehörigen Absorptionsbande (355 nm). Der Anisotropiefaktor beträgt für die langwellige Bande etwa 8×10^{-5} , was im Bereich der üblichen induzierten Effekte²¹ liegt. Bezuglich der Art und der geometrischen Verhältnisse des Chromophors sind demnach aus solchen Daten keine Schlüsse zu ziehen, was ja auch aus der einschlägigen Theorie²¹ ableiten ist.

Vergleicht man dieses Ergebnis mit den Daten, die für

1 und Biliverdindimethylester^{23b} erhalten werden, so zeigt sich in beiden Fällen ein um eine Größenordnung erhöhter Effekt, der darauf hinweist, dass man es mit einer Bevorzugung eines Enantiomeren durch die Diastereomeriebeziehung mit den Lösungsmittel um etwa 5% zu tun hat. Sind hierbei die CD-Extrema im kurzweligen Bereich (1:350 nm, $\Delta\epsilon = +6.1$; Biliverdindimethylester: 380 nm, $\Delta\epsilon = +6$) gegenüber dem Absorptionsmaximum praktisch unverschoben, so liegen sie im langwelligen Bereich unterschiedlich bathochrom angeordnet: 1: Abs. 640 nm, CD 650 nm, $\Delta\epsilon = -3.8$; Biliverdindimethylester²⁵: Abs. 655 nm, CD 680 nm, $\Delta\epsilon = -2$. Da die Grösse des chiroptischen Effekts eine entsprechende Wechselwirkung von Lösungsmittel und Gelöstem signalisiert, ist es naheliegend anzunehmen, dass in der Umgebung der flachen Energiehyperfläche des globalen Energieminimums^{14, 26} gewisse Zustände, je nach Einfluss externer Parameter, wie Lösungsmittel, Temperatur, etc. in der Gesamtmenge der vertretenen, Boltzmann-verteilten Zustände bevorzugt oder benachteiligt werden. Da die Lage der langwelligen Absorptionsbande, aber auch das Intensitätsverhältnis der beiden "Hauptbanden" auf Änderungen der drei Torsionswinkel des Bilatrien-abc-Skeletts enorm empfindlich reagiert,⁸ sind diese spektralen Verschiebungen problemlos einzusehen. Eine ausführliche Diskussion dieses Problemkreises soll im Rahmen einer Kraftfeld-Studie von Gallensfarbstoffen erfolgen.¹⁴

Einen weiteren Hinweis auf das Wirken spezifischer Wechselwirkungen, was die Diastereomeriebeziehung zwischen Lösungsmittel und Substraten anbelangt, erhält man aus der Messung des induzierten CD von Derivaten von 1: so zeigt der Monolactim-methylether von 1²⁷ nur mehr etwa ein Drittel des Effektes (Abs. 655 und 360 nm, CD 670 und 370 nm, $\Delta\epsilon = -1.1$ und +3.8), das 21-Methylderivat³ nur etwa ein Zehntel (Abs. 610 und 360 nm, CD 595 und 355 nm, $\Delta\epsilon = -0.4$ und +0.7) und das 21,24-Dimethylderivat¹ einen Wert an der Erfassungsgrenze (Abs. und CD 600 nm, $\Delta\epsilon = -0.3$). Ebenso sind die Daten für (E, Z, Z)-1⁸ nahe der Größenordnung, die man für 2 erhält, d.h. in diesem Fall ist offenbar ebenfalls keine Bevorzugung eines Enantiomeren durch die Diastereomeriebeziehung zum Lösungsmittel gegeben (es gibt keinen Grund anzunehmen, dass hier die inhärente optische Aktivität dieser Verbindung gegenüber dem Diastereomeren so dramatisch reduziert sein sollte). Dass aber, wie eingangs betont, die rein "optische" Induktion zwischen den Extrempunkten gerichteter und statistischer Solvation liegen kann, dürften die schon jenseits der Geräteempfindlichkeit liegenden Effekte bei Tetraphenylporphyrin und Pyromethenen²³ andeuten—Pyromethenone geben nämlich einen solchen Effekt.

5 zeigt in S-(*—*)-Ethyllactat das aus den eingangs angestellten Betrachtungen zu erwartende Couplet bei 430 nm ($\Delta\epsilon = -8.7$) und 365 nm ($\Delta\epsilon = +0.56$). Die Absorptionsbande in diesem Milieu liegt zwar bei 390 nm, hat aber den Phänotyp zweier überlagerten Banden. Fluoreszenz beobachtet man nur aus der langwelligen Komponente heraus (Excitationsspektrum) s., Exp. Teil.

EXPERIMENTELLER TEIL

Die Schmelzpunkte bestimmte man mit einem Kofler-Heiztischmikroskop (Reichert), sie sind unkorrigiert. Für die Aufnahme der ¹H-NMR-, UV-VIS-, IR-, MS- und Röntgenphotoelektronen-Spektren verwendete man die Varian-XL-100 bzw. EM-360, Cary-15 bzw. Uvikon-800, Perkin-Elmer-237-, Varian-MAT-CH15- bzw. CH7- und McPherson-ESCA-36-Spektrometer. CDCl_3 und CHCl_3 (Merck, p.A.) wurden jeweils vor

der Messung über Al_2O_3 (neutral, Akt. St. II) filtriert. Die Details für die Aufnahme der Röntgenphotoelektronenspektren wurden bereits mitgeteilt.⁷ Zur präparativen Trennung benutzte man HF-254-Dünnsschichtfertigplatten (Merck). Die Reinheitskontrolle erfolgte durch HPLC. Die CD-Daten erhielt man auf einem Jobin-Yvon-Mark III Gerät, Schichtdicken 1 und 10 mm (10^{-3} – 10^{-5} mol l^{-1}); S-(*—*)-Ethyllactat (Fluka) destillierte man vor Gebrauch von etwas Bikarbonat über eine Vigreuxkolonne. Für die Albuminkomplexe verwendete man BSA (Fluka) bei pH 7 (Phosphatpuffer), vgl.²² Biliverdin, Biliverdindimethylester, 1 und dessen Derivate sind in der Lit. beschrieben^{28,8,13}; Bilirubin war Handelsware (Fluka). Die Molmassen wurden an Chloroformlösungen mit einem Dampfdruckosmometer (Knauer) bei Konzentrationen zwischen 0.01 und 0.001 mol kg^{-1} gemessen. Für die Details der PPP-Rechnungen und des verwendeten Parametersatzes s. Lit.¹⁰. Die Messung der Fluoreszenz erfolgte auf einem Perkin-Elmer MPF-4-Spektrofluorimeter an entgasten Lösungen in Ether (f.d. Fluoreszenzsp., Merck).

(Z, Z, Z)-1, 19-Dioxo-3, 8, 12, 17-tetraethyl-2, 7, 13, 18-tetramethyl-21, 24-methylen-1, 19, 22, 24-tetrahydro-21H-bilin (2). 100 mg (0.2 mmol) 1⁶ löste man in 10 ml abs. DMSO, erwärmte auf 100° und fügt dann 30 mg (0.76 mmol) gepulverte KOH zu. Nach 10 Min. Röhren bei dieser Temp. (Argon) versetzte man mit 0.4 ml Diiodmethan und rührte weitere 5 Min. bei 100°. Die Aufarbeitung erfolgte durch Eingießen in 100 ml Eiswasser + 20 ml Chloroform. Nach mehrmaligem Extrahieren mit Chloroform, Waschen mit Wasser und Trocknen mit Natriumsulfat wurde abgetrennt und der Rückstand an Kieselgel-G-Platten mit Chloroform: Methanol = 50:1 chromatographiert. Ausbeute an der rasch wandelnden Zone nach Umkristallisieren aus Methanol/Chloroform 21 mg (20% d.Th.), Schmp. 200–202°—¹H-NMR (100 MHz, δ , CDCl_3): 13.50 (s, NH), 6.99 (s, CH_2), 6.62 (s, H-10), 5.59 (s, H-5 + H-15), 2.50 (m, 4 CH_2CH_3), 2.05 (s, CH_2 -7 + CH_3 -13), 1.77 (s, CH_3 -2 + CH_3 -18), 1.17 (t, 2 CH_2CH_3) ppm. Bei -60° nur Verbreiterung des Signals bei 6.99 ppm auf etwa 5 Hz.—NOE: mit Argon gespülte Lösung. Einstrahlen bei 2.50 ppm gibt Intensitätserhöhung von 11% (6.62 ppm) und 14% (5.95 ppm).—EUSHIFT: Bei Zusatz der 0.3 molaren Menge Eu(dpm)₃ (Merck) (Substratkonzentration ca. 0.02 mol l^{-1} in CDCl_3) erhält man folgend durch Lanthanidionen induzierte Verschiebungen: CH_2 (384.0), CH_3 -3.17 (92.8), CH-5, 15 (67.7), CH-10 (13.8), CH-7, 13 (6.6). Diese gaben bei einer PDIGM-Rechnung²⁹ beste Übereinstimmung bei einer Diederwinkelkombination $\alpha = \beta = -\gamma = 10$ Grad an den drei Methinfragmenten; der R-Wert lag bei 6%. das Verschiebungszentrum kam dabei in einem Abstand von 3.5 Å ($\rho = 80$, $\varphi = 236$ Grad) vom jeweiligen Sauerstoffatom zu liegen. Die magnetische Hauptachse führte dabei jeweils durch das Koordinationszentrum, die beiden daraus resultierenden Felder wurden äquivalent überlagert (vgl. dazu Lit.³⁰).—IR(KBr): $\nu = 1695 \text{ cm}^{-1}$ (C=O).—UV-VIS: in Chloroform s. Abb. 1; an Silikalgel adsorbiert und als Gel in Chloroform gemessen: 370 und 718 nm (vgl. dazu die Daten für 1⁸); KBr-Pressling: 730 nm. Fluoreszenz: $\Phi_F < 5 \cdot 10^{-4}$; vgl. Lit.³¹ für 1.—Molmasse (Chloroform): 506 \pm 7. MS (70 eV, 170°; m/e (%)) = 511 (18), 512 (M⁺, 46), 495 (10), 482 (20), 481 (58), 466 (18), 312 (100), 255 (16), 178 (13).—N_{1s}-Niveau (Mg-K_a, 6 kV, 40 mA): 399.1 und 397.2 eV, Intensitätsverhältnis 3.1:1.—Hochauflösendes MS: $M_{\text{exp.}} = 510.2976 \pm 0.0025$; $M_{\text{ber.}} = 510.2995$ für $\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_2$.

Aus dem obigen Reaktionsansatz wurden zwei weitere Isomere chromatographisch isoliert:

1. (Z, Z, Z) - 1,19 - Dioxo - 3,8,12,17 - tetraethyl - 2,7,13,18-tetramethyl-21,22-methylen-1,19,22,24-tetrahydro-21H-bilin (3, ?) in etwa 1% d.Th. Ausbeute, unmittelbar hinter 2 laufend; Schmp. 200°C (Zers.). ¹H-NMR (100 MHz, δ , CDCl_3): 6.71 (s, H-10), 6.15 (s, H-5), 5.95 (s, CH_2), 5.85 (s, H-15), 2.60 (m, 4 CH_2CH_3), 2.14 (s, CH_3 -7 oder CH_3 -13), 2.05 (s, CH_3 -7 oder CH_3 -13), 1.87 (s, CH_3 -2 oder CH_3 -18), 1.84 (s, CH_3 -2 oder CH_3 -18) 1.20 (m, 4 CH_2CH_3) ppm; NOE analog zu 2.—IR (KBr): $\nu = 1690 \text{ cm}^{-1}$ (C=O).—UV-VIS (CHCl_3): $\lambda_{\text{max.}} = 625$ (4300), 370 (17700) nm (ϵ) MS (70 eV, 160°); m/e (%)) = 510 (M⁺, 35), 481 (26), 255 (16), 199 (19), 168 (18), 167 (21), 58 (68), 57 (28), 55 (21), 44 (34), 28 (100).—N_{1s}-Niveau (Mg-K_a, 6 kV, 40 mA): 399.2 und 397.2 eV, Intensitäten ca. 3.0:1.—Hochauflösendes MS: $M_{\text{exp.}} = 510.3005 \pm 0.0025$; $M_{\text{ber.}} = 510.2995$ für $\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_2$.

(Z, Z, Z) - 1,19 - Dioxo - 2,3,12,17 - tetraethyl - 2,7,13,

18-tetramethyl-22,23-methylen-1,19,22,23-tetrahydro-21-H-bilin (4?) in etwa 2% d.Th. Ausbeute, deutlich abgesetzt wandernd von 2 und 3 aber noch rascher als 1; Schmp. 200° (Zers.). ¹H-NMR (100 MHz, δ , CDCl₃): 6.64 (s, H-10), 6.06 (s, H-5), 5.80 (s, H-15), 4.90 (s, CH₂), 3.28 (q, CH₂CH₃), 2.50 (m, 3 CH₂CH₃), 1.90 (s, 2 CH₃), 1.85 (s, CH₃), 1.80 (s, CH₃), 1.20 (m, 3 CH₃), 0.83 (t, CH₃) ppm; NOE wie bei 2.—IR (KBr): ν = 1690 cm⁻¹ (C=O).—UV-VIS (CHCl₃): $\lambda_{\text{max.}}$ = 600 (5900), 355 (13400) nm (ϵ). N₁₅-Niveau (Mg-K_a, 6 kV, 40 mA): 399.0 und 397 eV, Intensitäten ca. 3.2:1.—MS (70 eV, 180°C; m/e (%)) = 510 (M⁺, 24), 482 (17), 481 (42), 467 (15), 255 (16), 59 (25), 45 (30), 28 (100). Hochauflösendes MS: M_{exp.} = 510.3012 ± 0.0025; M_{ber.} = 510.2995 für C₃₂H₄₈N₂O₂.

(Z, Z) - 1,19 - **Dioxo** - 3,8,12,17 - **tetraethyl** - 2,7,13, 18-tetramethyl-21, 24-methylen-1, 10, 19, 22, 23, 24-hexahydro-21 H-bilin (5). 51 mg (0.1 mmol) 2 löste man in 10 ml kaltem Methanol und kühlte am Eisbad. Nach Zusatz von 100 mg NaBH₄ rührte man bis zum Eintritt der Gelbfärbung (DC-Kontrolle). Man goss auf 100 ml Eiswasser, schüttelte mit Chloroform aus und chromatographierte nach den absamphen an Kieselgel-G-Platten (Chloroform: Methanol = 50:1). Man erhielt nach dem Kristallisieren aus Chloroform-Methanol 20 mg (40% d.Th.), Schmp. 85–98°. Als Nebenprodukt der Reaktion wird auch eine langsamer wandernde Fraktion erhalten, die als Actiobilirubin-IV-γ identifiziert wurde. ¹H-NMR (100 MHz, δ , CDCl₃): 7.39 (br.s 2 NH), 6.09 (s, CH-5 + CH-15), 5.06 (s, CH₂), 3.93 (s, CH₂-10), 2.49 (q, J = 7 Hz, 4 CH₂CH₃), 2.09 (s, CH₃-7 + CH₃-13), 1.83 (s, CH₃-2 + CH₃-18), 1.09 (t, J = 7 Hz, 4 CH₃) ppm. IR (KBr): ν = 1695 cm⁻¹ (C=O).—UV-VIS: s. Abb. 1, CH₃OH gibt keine signifikante Änderung von Bandenlage und Intensitäten. Fluoreszenz: $\lambda_{\text{emiss.}}$ = 467 nm. Φ_F = 3 × 10⁻⁵; $\lambda_{\text{excit.}}$ = 412 nm; $\lambda_{\text{abs.}}$ = 380, 412 (sh) nm; für das analog substituierte Pyrromethenon vgl. Lit.³¹. Hochauflöseltes MS: M_{exp.} = 512.3132 ± 0.0025; M_{ber.} = 512.3151 für C₃₂H₄₈N₂O₂.

Kinetische Racematspaltung von 2

51 mg (0.1 mmol) 2 löste man bei 18° in 5 ml abs. DMSO, fügte 50 mg (+)-10-Campferthiol¹⁵ gelöst in 5 ml abs. DMSO zu und wartete (DC-Kontrolle) den etwa halben Umsatz (ca. 30 Min.) ab. Aufarbeitung mit Eiswasser/Chloroform und rasche chromatographische Trennung bei 5° gab 25 mg 2 (Fraktion I) und 33 mg des Adduktes, das nach Aufnehmen in Chloroform und Schütteln mit 2-proc. eiskalter HgCl₂-Lösung, Abdampfen i. Vak. bei Eistemp. und rascher chromatographischer Reinigung 24 mg 2 (Fraktion II) zurückgab. Die beiden Fraktionen wurden nochmals rasch rechromatographiert und anschließend sofort die CD-Daten, bzw. die optische Reinheit durch zehnmalige Integration aller durch "Chirshift"-Reagens (Merck) separierbarer Signale bestimmt:

Fraktion I: $\Delta\epsilon_{695} = -2.1$; $\Delta\epsilon_{380} = +0.56$
optische Reinheit 2.1 ± 0.4%

Fraktion II: $\Delta\epsilon_{695} = +2.0$; $\Delta\epsilon_{380} = -0.50$
optische Reinheit 2.0 ± 0.4%

Induzierter CD von 3, 3', 5' - Trimethyl - 4, 4' - diethyl - pyrromethenon³² (Ethyllactat): $\Delta\epsilon_{380} \approx -1.4$; $\lambda_{\text{abs.}}$ = 417 nm.

Danksagungen—Die vorliegende Mitteilung wurde vom Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung unterstützt. Frau Dr. M. Ebel (Inst. f. Techn. Physik, TU Wien) danken wir für die Aufnahme der ESCA-Daten auf dem vom genannten Fonds zur Verfügung gestellten Gerät. Unser Dank gilt ferner Herrn Prof. K. Schlägl für die Möglichkeit zur Benützung des ebenfalls vom Fonds zur Verfügung gestellten CD-Gerätes—Herrn Dr. H. Neudeck verdanken wir die Messung einiger dieser Daten. Für NMR-, MS- und Fluoreszenz-Messungen sei den Herren Dr. W. Silhan, Dr. A. Nikiforov und Doz. Dr. H. Kauffmann, Für die Übersendung von Manuskripten vor deren Drucklegung Herrn Prof. K. Schaffner bestens gedankt.

LITERATUR

¹XXXVI: H. Falk und K. Thirring, *Z. Naturforsch.* **35b**, 376–380 (1980).

- ²XXXV: H. Falk, N. Müller und T. Schleiderer, *Mh. Chem.* **111**, 159 (1980) und die dann jeweils zitierten Vorgänger.
³H. Falk und K. Thirring, *Z. Naturforsch.* **34b**, 1448 (1979).
⁴M. Bois-Choussy und M. Barbier, *Heterocycles* **9**, 677 (1978).
⁵vgl. dazu auch die Bildung von 21,24-Methylen-octaethylporphin: D. Ward, P. Batten, A. L. Hamilton, G. Shelton und C. M. Elson, *J. Chem. Soc., Perkin I*, 2076 (1975).
⁶H. Falk und K. Grubmayr, *Synthesis*, 614 (1977).
⁷H. Falk, K. Grubmayr, K. Thirring und N. Gurker, *Mh. Chem.* **109**, 1183 (1978).
⁸H. Falk, K. Grubmayr, E. Haslinger, T. Schleiderer und K. Thirring, *Ibid.* **109**, 1451 (1978).
⁹s. dazu vor allem Lit.² und die Diskussion bei Lit.³
¹⁰für den Parametersatz und eine umfassende Diskussion des Verhaltens verdinoider Systeme bei Konformationsänderung s. H. Falk und G. Höllbacher, *Mh. Chem.* **109**, 1429 (1978).
¹¹vgl. dazu die Ergebnisse für Pyrromethenone: H. Falk, K. Grubmayr, G. Höllbacher, O. Hofer, A. Leodolter, F. Neufingerl und J. M. Ribo, *Ibid.* **108**, 1113 (1977).
¹²s. z. B. H. Joshua, R. Gans und K. Mislow, *J. Am. Chem. Soc.* **90**, 4884 (1968).
¹³C. B. Storm und Y. Teklu, *Ibid.* **94**, 1745 (1972); R. J. Abraham, G. E. Hawkes und K. M. Smith, *Tetrahedron Letters* 1483 (1974).
¹⁴vorl. Mitt.: H. Falk, G. Höllbacher und O. Hofer, *Mh. Chem.* **110**, 1025 (1979).
¹⁵T. M. Lowry und G. C. Donington, *J. Chem. Soc.* **83**, 480 (1903).
¹⁶Übersicht: G. R. Sullivan, *Topics in Stereochem.* **10**, 287 (1978).
¹⁷S. F. Mason, *Quart. Rev.* **17**, 20 (1963).
¹⁸W. Hug und G. Wagniere, *Tetrahedron* **28**, 1241 (1972).
¹⁹G. Wagniere und G. Blauer, *J. Am. Chem. Soc.* **98**, 7806 (1976).
²⁰S. F. Mason und B. J. Norman, *Chem. Commun.* 335 (1965); B. Bosnich, *J. Am. Chem. Soc.* **88**, 2606 (1966) und **89**, 6143 (1967); A. Axelrod, G. Barth und E. Bunnenberg, *Tetrahedron Letters* 5031 (1969); K. Noack, *Helv. Chim. Acta* **52**, 2501 (1969); L. D. Hayward und R. N. Totty, *Can. J. Chem.* **49**, 624 (1971); N. Tokura, T. Nagai, S. Takenaka und T. Oshima, *J. Chem. Soc., Perkin II*, 337 (1974). Von diesem Phänomen ist der durch Flüssigkristalle induzierte CD (LCICD) zu unterscheiden—für diesen wurde nachgewiesen, dass er dem Lineardichroismus orientierter Chromophore äquivalent ist; s. z. B. H. Falk, O. Hofer und H. Lehner, *Mh. Chem.* **105**, 169 (1974) und die dort zitierte Lit.
²¹S. F. Mason, *Chem. Phys. Lett.* **32**, 201 (1975).
²²G. Blauer, D. Harmatz und J. Snir, *Biochem. Biophys. Acta* **278**, 68 (1972); G. Blauer und D. Harmatz, *Ibid.* **278**, 89 (1972); G. Blauer und B. Zvilichovsky, *Isr. J. Chem.* **11**, 435 (1973); G. Blauer und G. Wagniere, *J. Am. Chem. Soc.* **97**, 1949 (1975); G. Blauer, *Structure and Bonding* **18**, 69 (1974).
²³J. H. Perrin und M. Wilsey, *Chem. Commun.* 769 (1971); H. Lehner, S. E. Braslavsky und K. Schaffner, *Ann. Chem.* 1990 (1978); S. E. Braslavsky, A. R. Holzwarth, E. Langer, H. Lehner, J. I. Matthews und K. Schaffner, *Isr. J. Chem.* im Druck.
²⁴für Bilirubin s. P. Manitto und D. Monti, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 122 (1976); für Bilatriene-abc s. d. Wert aus Kraftfeldrechnungen in Lit.¹⁴, der auch eine experimentelle Bestätigung erfahren hat: H. Lehner, W. Riemer und K. Schaffner, *Ann. Chem.* 1798 (1979).
²⁵in Übereinstimmung mit den bei Lit.²³ gegebenen Daten.
²⁶s. auch die diesbezügliche Diskussion in Lit.⁸
²⁷H. Falk, K. Grubmayr und K. Thirring, *Z. Naturforsch.* **33b**, 924 (1978).
²⁸A. F. McDonagh in *The Porphyrins*, (D. Dolphin, Ed.) VI, S. 293. Acad. Press, New York 1979.
²⁹s. d. Übersicht: O. Hofer, *Topics in Stereochem.* **9**, 111 (1976) und die dort zitierte Lit.
³⁰O. Hofer, H. Griengl und P. Nowak, *Mh. Chem.* **109**, 21 (1978).
³¹H. Falk und F. Neufingerl, *Ibid.* **110**, 987 (1979).
³²J. O. Grunwald, R. Cullen, J. Bredfeldt und E. R. Strope, *Org. Prep. Proc. Int.* **7**, 103 (1975).