

Reaktion. 4) Wird die Butadien- durch eine Tetramethylen-Brücke ersetzt, sinkt die Reaktionsgeschwindigkeit drastisch. Bei 250°C beträgt das Verhältnis der Geschwindigkeitskonstanten k_5/k_9 1750 ($\Delta\Delta G^{\ddagger} = 7.8 \text{ kcal/mol}$)^[10]. Auch dieser Wert spricht für den Diradikal-Mechanismus, da das Pentadienylradikal eine Stabilisierungsenergie von ca. 20 kcal/mol hat^[11].

Die Thermolyse des überbrückten Diazen-N-oxids (10) führt über das Diradikal (11) zum Isomer (12)^[12]. Der Ringschluß von (11)→(12) ist bevorzugt, da das 1,1-Diazen-N-oxid (13) thermodynamisch instabil ist. Das Verhältnis der Umlagerungsgeschwindigkeit von (10) zu der von (5) beträgt bei 150°C in $[\text{D}_8]\text{Toluol}$ 28 ($\Delta\Delta G^{\ddagger} = 2.8 \text{ kcal/mol}$). Diese Werte machen deutlich, daß das Freiwerden von Ringspannung und stereoelektronische Faktoren die Reaktivität stark beeinflussen^[13].

Eingegangen am 3. Februar 1981 [Z 903 b]

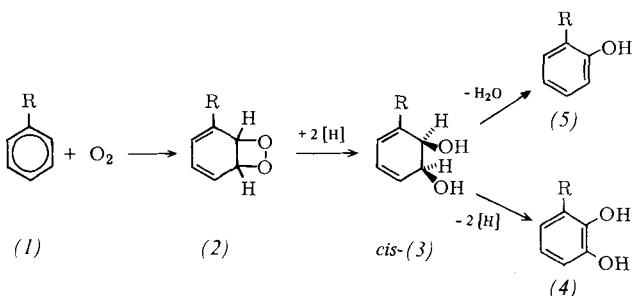
- [1] a) W. D. Hinsberg, III, P. B. Dervan, J. Am. Chem. Soc. 101, 6142 (1979); b) C. J. Casewit, W. A. Goddard, III, ibid. 102, 4057 (1980).
- [2] a) J. F. M. Oth, H. Olsen, J. P. Snyder, J. Am. Chem. Soc. 99, 8505 (1977); b) das NNO-Gruppeninkrement basiert auf der Standardbildungswärme von flüssigem *N*-Nitroso-dimethylamin („Selected Values of Chemical Thermodynamic Properties“, Circular 270-3 des National Bureau of Standards, U. S. Government Printing Office, Washington D.C. 1968, S. 161), auf Bensons Gruppeninkrement für die C—(H)₂(C)-Gruppe (S. W. Benson: Thermochemical Kinetics, 2. Aufl., Wiley, New York 1976) und auf der Annahme, daß $\Delta H_{\text{f}}(N\text{-Nitrosodimethylamin}) \approx 10 \text{ kcal/mol}$.
- [3] Die Isomerisierung (2)→(1) wurde bisher nur beobachtet, wenn mit ihr eine Aromatisierung einhergeht; siehe D. J. C. Adams, S. Bradbury, D. C. Horwell, M. Keating, C. W. Rees, R. C. Storr, Chem. Commun. 1971, 828.
- [4] H. Olsen, J. P. Snyder, J. Am. Chem. Soc. 100, 285 (1978).
- [5] ¹H-NMR (300 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{Me}_3\text{Si}$): $\delta = 6.11$ (1-H, A-Teil eines ABX-Systems, $J_{1,3} = 11.7$, $J_{1,5} = 5.5 \text{ Hz}$), 6.05 (dd, 2-H, $J_{2,4} = 10.7$, $J_{2,6} = 6.5 \text{ Hz}$), 5.87 (3-H, B-Teil eines ABC-Systems, $J_{3,4} = 7.3 \text{ Hz}$), 5.69 (4-H, B-Teil eines ABX-Systems), 5.30 (m, 5-H), 5.05 (m, 6-H), 2.35 (m, 2H), 2.26 (m, 2H). – ¹³C-NMR ($\text{CDCl}_3/\text{Me}_3\text{Si}$): $\delta = 132.8$ (d), 132.6 (d), 124.6 (d), 124.5 (d), 61.8 (d), 53.0 (d), 38.9 (t), 34.3 (t). – IR (KBr): $\nu = 1410, 1350 \text{ cm}^{-1}$. – UV (96% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$): $\lambda_{\text{max}} = 233$ ($\epsilon = 8600$), 351 nm (55).
- [6] A. G. Anastassiou, H. Yamamoto, J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1973, 840.
- [7] Bei dieser und höheren Temperaturen entsteht aus (6) ein komplexes Produktgemisch. Ähnlich verhält sich *N*-Nitroso-9-azabicyclo[4.2.1]nona-2,4,7-trien; siehe W. L. Mock, P. A. H. Isaac, J. Am. Chem. Soc. 94, 2749 (1972).
- [8] I. Fleming: Grenzorbitale und Reaktionen organischer Verbindungen, Verlag Chemie, Weinheim 1979.
- [9] M. H. Abraham, Prog. Phys. Org. Chem. 11, 1 (1974).
- [10] Die Zersetzungsgeschwindigkeit von (9) wurde bei 249.5°C in $[\text{D}_8]\text{Toluol}$ ¹H-NMR-spektroskopisch bestimmt ($k_9 = 1.95 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$).
- [11] H. M. Frey, A. Krantz, J. Chem. Soc. A 1969, 1159; K. W. Egger, M. Jola, Int. J. Chem. Kinet. 2, 265 (1970).
- [12] H. Olsen, J. F. M. Oth, Angew. Chem. 93, 1024 (1981); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 20, Nr. 11 (1981).
- [13] Nach den Resonanzstabilisierungsenergien von Allylradikal (K. W. Egger, D. M. Golden, S. W. Benson, J. Am. Chem. Soc. 86, 5420 (1973)) und Pentadienylradikal [11] allein hätte man erwartet, daß (5) schneller reagiert als (10).

Primärschritte der Umwandlung von Chlorbenzol-Derivaten durch *Pseudomonas putida*^[**]

Von Karlheinz Ballschmiter und Charlotte Scholz^[*]

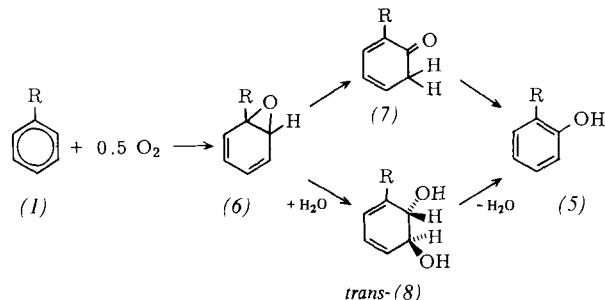
Als der primäre Schritt beim bakteriellen Abbau von Arenen gilt die Reaktion mit einer Dioxygenase^[1].

Ein als Zwischenstufe angenommenes Dioxetan (2) reagiert über ein – in vielen Fällen isoliertes – *cis*-Cyclohexadienol (3) zum Brenzcatechin (4)^[1].



Auf Benzol selektierte Mischkulturen von Bodenbakterien bilden aus lipophil substituierten Benzol- und Biphenyl-Derivaten Phenole^[2]. 1-Naphthol ist der Hauptmetabolit der Umsetzung von Naphthalin durch eine Blaualge (Cyanobacterium)^[3].

Die Phenole könnten durch enzymatische oder spontane Dehydratisierung der *cis*-Cyclohexadienole (3) oder durch Umlagerung oder Hydratisierung von Arenoxiden (Oxiranen) (6) nach Angriff von Monoxygenasen entstanden sein.



Als Hinweis auf (6) als Vorstufe wird die Substituenten-Wanderung (NIH-Verschiebung) in einem Cyclohexadienon (7) angesehen^[4]. Diese NIH-Verschiebung wurde für die bakterielle Bildung von Chlorphenol- aus Chlorbenzol-Derivaten nachgewiesen^[2a]. Die Hydroxylierung von Chlorphenolen zu Chlorbrenzcatechinen wurde für *Pseudomonas* sp. beschrieben^[2c, 5].

Mit drei *Pseudomonas*-Spezies (siehe Experimentelles) erhielten wir nach 100 h Inkubation bei 30°C folgende Ergebnisse: Aus 1,2-Dichlorbenzol werden 2,3-, 3,4- und 2,6-Dichlorphenol gebildet; Chlorphenol kann nicht nachgewiesen werden. Aus 1,3,5-Trichlorbenzol entsteht nur 2,4,6-Trichlorphenol, ebenso bei Inkubation mit einer über Benzol als C-Quelle selektierten Bodenmischkultur. Auch die Inkubation mit Rattenleber-Mikrosomen im pH-7.6-Puffer unter Zusatz von NADPH ergibt unter aeroben Bedingungen das gleiche Produkt. Dichlorphenole sind in keinem Fall entstanden. Im Kulturmedium aus Benzol läßt

[*] Prof. Dr. K. Ballschmiter, C. Scholz

Abteilung Analytische Chemie der Universität
Oberer Eselsberg, D-7900 Ulm

[**] Mikrobieller Abbau von chlorierten Arenen, 7. Mitteilung. – 6. Mitteilung: [2c].

sich bei Biphenyl als Substrat neben Phenol von den drei möglichen Hydroxy-biphenyl-Derivaten nur die 2-Hydroxy-Verbindung nachweisen, falls Pentafluorbenzylbromid als Derivatisierungsreagens benutzt wird.

Die H^+ -katalysierte Dehydratisierung eines 5,6-Dichlor-cyclohexan-3,5-dien-1,2-diols ergibt bei ca. 70% Umsatz des Diols die 2,3-, 3,4- und 3,5-Dichlorphenole im Verhältnis 4:17:1.

Die Dehydratisierung des nach bakterieller Synthese isolierten Dichlor-cyclohexadienols^[8] simuliert den Abbau dieser Verbindung durch *Pseudomonas sp.* nicht vollständig. Zudem tritt bei der Dehydratisierung eines solchen Diols sowohl bei der *cis*- als auch bei der *trans*-Form nach Protonierung und Abspaltung von H_2O das gleiche Intermediat auf^[2c]; es sollten die gleichen Folgeprodukte entstehen, sieht man von kinetischen Unterschieden im Reaktionsablauf ab^[1g]. Das bei der Dehydratisierung gebildete 3,5-Dichlorphenol kann über eine Allylumlagerung des intermediären Carbeniumions entstehen; es wurde aber beim bakteriellen Abbau nicht nachgewiesen. Die Entstehung von 2,6-Dichlorphenol aus 1,2-Dichlorbenzol beim bakteriellen Abbau deutet auf eine Umlagerung eines α -Dichlorepoxyds hin.

Ein weiteres Argument für einen Monooxygenase-Angriff ist die Bildung von 2,4,6-Trichlorphenol aus 1,3,5-Trichlorbenzol, auch wenn keine NIH-Verschiebung des Chloratoms stattfindet. Außerdem wurden mit Pseudomonaden und Rattenleber-Mikrosomen gleiche Ergebnisse erhalten, was auf gleiche enzymatische Reaktionen schließen lässt. Letztlich wird allein der direkte Nachweis der Epoxide oder Dioxetane die Festlegung auf eine Primärreaktion ermöglichen – vorausgesetzt, es existiert nur eine^[1g]; auch Markierungen mit $^{18}O_2$ lassen bei parallel ablaufenden Reaktionen keine eindeutigen Aussagen zu^[3].

Experimentelles

Es wurden Reinkulturen des Aren-Abbauers *Pseudomonas putida* (Nr. 50802, Nr. 50222 und Nr. 548 aus der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen, Grisebachstraße 8, D-3400 Göttingen) verwendet. Parallel dazu wurde der Abbau mit einer auf Benzol als C-Quelle selektierten Bodenmischkultur sowie mit mit Phenobarbital induzierten Rattenleber-Mikrosomen durchgeführt. Als Substrate wurden 1,2-Dichlorbenzol, 1,3,5-Trichlorbenzol und Biphenyl ($10^{-6} M$) bei Benzol als primärer C-Quelle verwendet. Diese Verbindungen wurden durch Diffusion aus Hartparaffin in das Standard-Nährsalzmedium dosiert^[6]. Die Metabolite wurden als Pentafluorphenylether oder Acetate durch Vergleich der Retentionsindizes mit denen von authentischen Verbindungen nach hochauflösender Kapillar-Gaschromatographie mit Elektroneneinfach-Detektion identifiziert^[6] (sichere Identifizierung auch im Nennogramm-Bereich^[7]).

Epoxide oder Cyclohexadienole sollten sich während der Aufarbeitung der Kulturansätze bei der extraktiven Derivatisierung der Phenolacetate aus wässriger K_2CO_3 -Lösung (0.1 M) kaum umwandeln. 5,6-Dichlor-cyclohexa-3,5-dien-1,2-diol – durch Abbau von 1,2-Dichlorbenzol mit einer *Pseudomonas*-Mutante gewonnen^[8] – wurde bei 23 °C in 2 M HCl innerhalb von 24 h H^+ -katalysiert dehydratisiert.

Eingegangen am 6. Februar 1980,
in veränderter Fassung am 17. Juli 1981 [Z 893 a]

Transformations of Non-Steroid Cyclic Compounds, Thieme, Stuttgart 1976; e) K. Haider, G. Jagnow, R. Kohnen, S. U. Lim, Arch. Microbiol. 96, 183 (1974); f) W. Reineke, H. J. Knackmuss, Biochim. Biophys. Acta 542, 412 (1978); g) C. E. Cerniglia, J. C. Morgan, D. T. Gibson, Biochem. J. 180, 175 (1979).

[2] a) K. Ballschmiter, C. Unglert, P. Heizmann, Angew. Chem. 89, 680 (1977); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 16, 645 (1977); b) H. J. Neu, K. Ballschmiter, Chemosphere 6, 419 (1977); c) K. Ballschmiter, C. Scholz, ibid. 9, 457 (1980).

[3] C. E. Cerniglia, C. van Baalen, G. T. Gibson, J. Gen. Microbiol. 116, 485 (1980).

[4] a) J. W. Paly, D. M. Jerina, B. Witkop, Experientia 28, 1129 (1972); b) G. Bonse, M. Metzler, Biotransformationen organischer Trendsubstanzen, Thieme, Stuttgart 1978.

[5] H. J. Knackmuss, M. Hellwig, Arch. Microbiol. 117, 1 (1978).

[6] K. Ballschmiter, C. Unglert, H. J. Neu, Chemosphere 6, 51 (1977).

[7] H. J. Neu, M. Zell, K. Ballschmiter, Fresenius Z. Anal. Chem. 293, 193 (1978).

[8] Wir danken Prof. Dr. G. T. Gibson, University of Texas, Austin, USA, für die Substanz.

Existieren in der Natur alle acht diastereomeren Bacteriochlorophylle?

Von Bernd Scholz und Karlheinz Ballschmiter^[*]

Zahlreiche anaerobe Bakterien, z. B. *Rhodospirillaceae*, sind zur Photosynthese befähigt. Sie enthalten Tetrahydroporphyrine; Chlorophyll a und b (CHL a und b) der grünen Pflanzen sind Dihydroporphyrine. Wir untersuchten Bacteriochlorophyll ap (BCHL ap) und Bacteriochlorophyll agg (BCHL agg) – zusammen im allgemeinen als BCHL a bezeichnet – sowie BCHL b (Abb. 1). Von BCHL a sollten aufgrund unterschiedlicher Anordnung der Substituenten an C3, C4, C7, C8 und C10 acht, von BCHL b vier Diastereomere vorkommen. Bisher wurde nur bei BCHL a die epimere Verbindung BCHL a' nachgewiesen^[1]. Epimere von BCHL a sind – in bezug auf die Stellung der Substituenten an C7 – an C10 unterschiedlich konfiguriert.

Die gute Trennung der C10-Epimere bei CHL a und b durch die Reversed-Phase-Hochdruckflüssigkeitschromatographie (RP-HPLC)^[2] ließ erwarten, daß auch BCHL-a-Diastereomere mit dieser Methode separiert werden können. Die dünnenschichtchromatographische Abtrennung einer unbekannten blauen Verbindung von käuflichem BCHL ap ist ein weiterer Hinweis auf andere Diastereomere^[3].

Die Isolierung der Bacteriochlorophylle aus Kulturen von *Rhodospillum rubrum* (BCHL agg), *Chromatium D* oder *Rhodospillum fulvum* (BCHL ap) und *Rhodopseudomonas viridis* (BCHL b) sowie die Auftrennung der Verbindungen in Diastereomere durch RP-HPLC sind in^[4] beschrieben. Unter optimierten Trennbedingungen ergibt die RP-C18-HPLC eine Aufspaltung von BCHL ap und BCHL agg in insgesamt je acht Banden stark unterschiedlicher Intensität (Abb. 2A + 2C).

Beim BCHL a ist die Unterscheidung der Diastereomere nach Schema 1 möglich. Die Konfiguration der Substituenten an C7 und C8 (Ring IV) sowie an C3 und C4 (Ring II) ist nach früheren Arbeiten^[5] *trans*. NMR-spektroskopisch^[5c] sind Diastereomere, deren Anteil insgesamt nur 10–20% beträgt, nicht zu erkennen. Dagegen ermöglicht es die Detektion bei 365 nm im Soret-Bereich wie auch bei 780 nm im IR-Bereich, nach Flüssigchromatographie noch

[*] Prof. Dr. K. Ballschmiter, Dr. B. Scholz
Abteilung Analytische Chemie der Universität
Oberer Eselsberg, D-7900 Ulm

[1] a) D. T. Gibson, J. R. Koch, C. L. Schuld, R. E. Kallio, Biochemistry 7, 3795 (1968); b) D. T. Gibson, Crit. Rev. Microbiol. 1, 199 (1971); c) H. J. Knackmuss, Chem.-Ztg. 5, 213 (1975), zit. Lit.; d) K. Kieslich, Microbial