

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<sup>+</sup>-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<sup>[8]</sup> 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<sub>2</sub>O das gleiche Intermediat auf<sup>[2c]</sup>; es sollten die gleichen Folgeprodukte entstehen, sieht man von kinetischen Unterschieden im Reaktionsablauf ab<sup>[1g]</sup>. 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  $\alpha$ -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<sup>[1g]</sup>; auch Markierungen mit <sup>18</sup>O<sub>2</sub> lassen bei parallel ablaufenden Reaktionen keine eindeutigen Aussagen zu<sup>[3]</sup>.

#### 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<sup>-6</sup> M) bei Benzol als primärer C-Quelle verwendet. Diese Verbindungen wurden durch Diffusion aus Hartparaffin in das Standard-Nährsalzmedium dosiert<sup>[6]</sup>. Die Metabolite wurden als Pentafluorphenylether oder Acetate durch Vergleich der Retentionsindizes mit denen von authentischen Verbindungen nach hochauflösender Kapillar-Gaschromatographie mit Elektroneneinfach-Detektion identifiziert<sup>[6]</sup> (sichere Identifizierung auch im Nennogramm-Bereich<sup>[7]</sup>).

Epoxide oder Cyclohexadienole sollten sich während der Aufarbeitung der Kulturansätze bei der extraktiven Derivatisierung der Phenolacetate aus wässriger K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-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<sup>[8]</sup> – wurde bei 23 °C in 2 M HCl innerhalb von 24 h H<sup>+</sup>-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. Ungert, 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. Ungert, 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<sup>[\*]</sup>

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<sup>[1]</sup>. 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)<sup>[2]</sup> ließ erwarten, daß auch BCHL-a-Diastereomere mit dieser Methode separiert werden können. Die dünnenschichtchromatographische Abtrennung einer unbekannten blauen Verbindung von künstlichem BCHL ap ist ein weiterer Hinweis auf andere Diastereomere<sup>[3]</sup>.

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<sup>[4]</sup> 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<sup>[5]</sup> *trans*. NMR-spektroskopisch<sup>[5c]</sup> 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

	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	R <sup>6</sup>	R <sup>7</sup>	zusätzliche Doppelbindung
	CHL a	CH <sub>3</sub>	—	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	—	Phytol	H <sub>2</sub> C=CH
	CHL b	CH=O	—	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	—	Phytol	H <sub>2</sub> C=CH
	BCHL ap	CH <sub>3</sub>	H	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	Phytol	H <sub>3</sub> C—C=O
	BCHL agg	CH <sub>3</sub>	H	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	Geranylgeraniol	H <sub>3</sub> C—C=O
	BCHL b	CH <sub>3</sub>	H	=CH—CH <sub>3</sub>	—	Phytol	H <sub>3</sub> C—C=O
	2-Desvinyl-2-acetyl-CHL agg	CH <sub>3</sub>	—	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	—	Geranylgeraniol	H <sub>3</sub> C—C=O
	2-Desvinyl-2-acetyl-Proto-CHL agg	CH <sub>3</sub>	—	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	—	Geranylgeraniol	zwischen C3 und C4 sowie C7 und C8, (-H7, H8)
	2-Desvinyl-2-acetyl-4-( $\alpha$ -hydroxyethyl)-CHL ap	CH <sub>3</sub>	—	—CH—CH <sub>3</sub>   OH	—	Phytol	zwischen C3 und C4

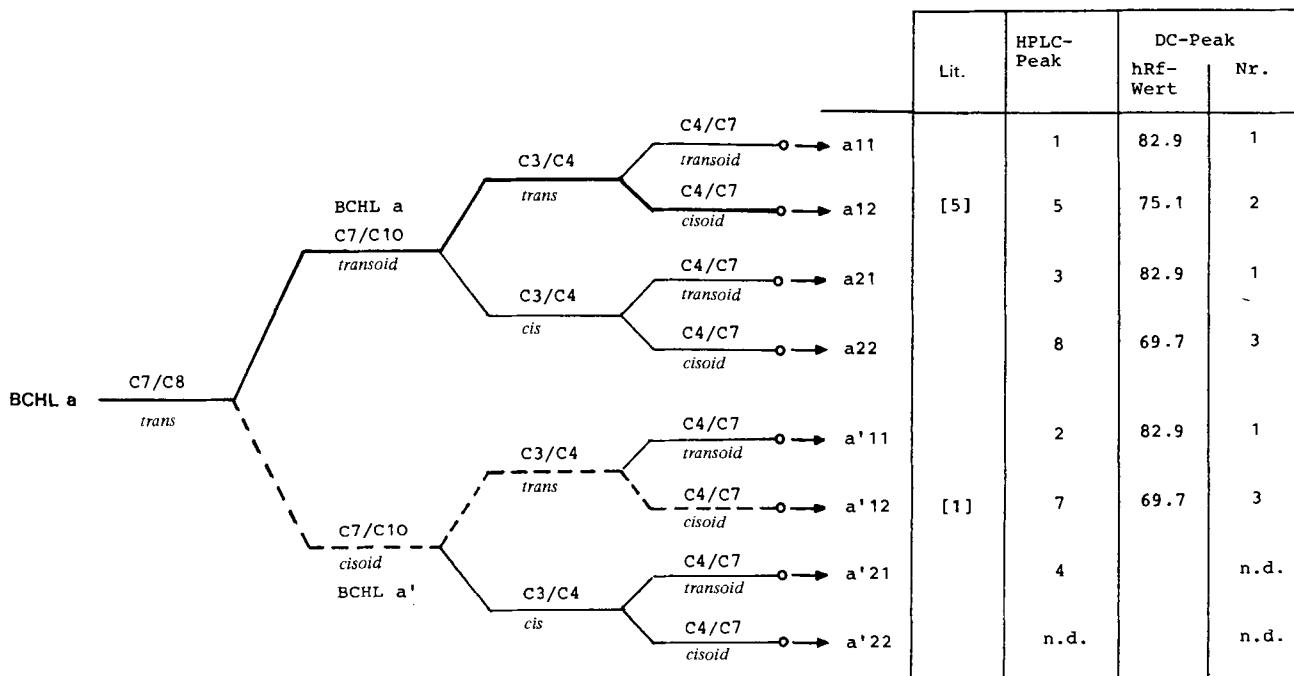
Abb. 1. Struktur verschiedener Chlorophylle und Bacteriochlorophylle ( $R^5 = CO_2CH_3$ ).

solche Komponenten leicht nachzuweisen, die in einem Anteil von nur 1% vorliegen.

Die Isolierung der durch HPLC getrennten Komponenten und deren Oxidation mit 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon (DDQ)<sup>[6]</sup> ergibt die Zuordnung von Peak 6 zu

Falle müßten im Chromatogramm die Peaks von mehr als je zwei oxidierten Bacteriochlorophylle erscheinen.

Die Kombination aus Dünnenschicht(DC)-Verteilungchromatographie<sup>[3]</sup> und RP-C18-HPLC erlaubt die in Schema 1 wiedergegebene Zuordnung der getrennten



Schema 1. Systematik der möglichen Diastereomere von Bacteriochlorophyll ap und agg. Die absolute Konfiguration der Hauptkomponente von Bacteriochlorophyll agg wurde als BCHL agg12 bestimmt [5a]. Das dazugehörige C10-Epimer ist das BCHL a'gg12 [1]. Für BCHL ap gelten die Aussagen analog. n. d. steht für nicht nachgewiesen; hRf-Wert ist Rf-Wert  $\times$  100.

2-Desvinyl-2-acetyl-Proto-CHL agg (Ring II und IV dehydriert); Peak 6 fehlt deshalb auch bei der 780 nm-Detektion. Die Peaks 1–5, 7 und 8 werden durch DDQ in 2-Desvinyl-2-acetyl-CHL agg (Peak 16) und durch DDQ im Überschuß langsam in 2-Desvinyl-2-acetyl-Proto-CHL agg (Peak 6) umgewandelt (Abb. 2B), d. h. die Komponenten 1–5, 7 und 8 sind alle BCHL-agg-Diastereomere. Diese Ergebnisse gelten analog auch für die BCHL-ap-Diastereomere. Ferner ist zu beobachten, daß die *Chromatium*-D-Bakterien neben der Hauptverbindung BCHL ap geringe Mengen von BCHL agg enthalten.

Die DDQ-Oxidation der durch RP-C18-HPLC getrennten Diastereomere beweist auch, daß in beiden Verbindungsgruppen die Seitenkette an C7 gleich ist. Im anderen

BCHL-agg-Diastereomere. Alle in den drei DC-Flecken enthaltenen Verbindungen ergeben nach Reaktionen mit DDQ die Verbindungen 2-Desvinyl-2-acetyl-CHL agg und 2-Desvinyl-2-acetyl-Proto-CHL agg, d. h. auch hier liegen intakte BCHL-agg-Diastereomere vor.

Aus dem Befund  $k'$  BCHL a <  $k'$  BCHL a' – der  $k'$ -Wert als Quotient aus Nettoretentionszeit und Durchbruchszeit ist ein Maß für die Wechselwirkungszeit und damit der Wechselwirkungsstärke der Verbindung mit der stationären Phase – kann abgeleitet werden, daß bei der RP-C18-HPLC die Retention der Diastereomere mit steigender beidseitiger Abschirmung der Porphyrinebene durch *transoid* Stellung der Substituenten herabgesetzt wird. Die geringere Retention von BCHL a gegenüber der von BCHL

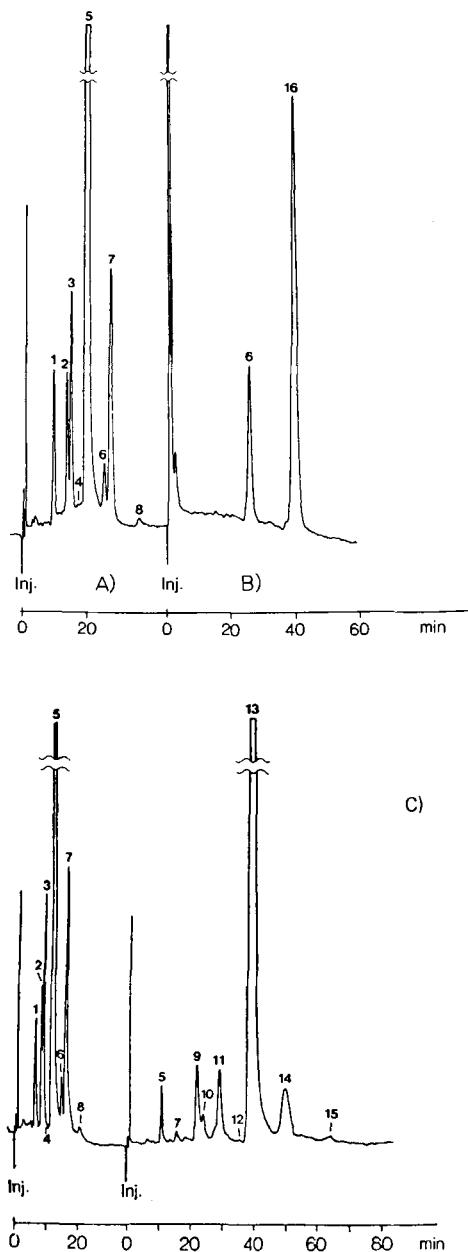


Abb. 2. A) HPLC-Chromatogramm von Bchl agg bei maximaler Auflösung. Mobile Phase: Acetonitril/Wasser, 80/20 (V/V), stationäre Phase: Lichrosorb RP-18, 5 µm. Detektion bei 365 nm. B) HPLC-Chromatogramm von 2-Desvinyl-2-acetyl-Proto-CHL agg (Peak 6) und 2-Desvinyl-2-acetyl-CHL agg (Peak 16) nach Oxidation der Bchl-agg-Diastereomere (Peak 1-8) mit DDQ. Bedingungen wie bei A). C) HPLC-Chromatogramm von Bchl agg (Peak 1-8) und Bchl ap (Peak 9-15). Mobile Phase: Acetonitril/Wasser, 88/12 (V/V), stationäre Phase: Lichrosorb RP-18, 5 µm. Detektion bei 365 nm.

$\alpha'$  spricht für eine bessere Solvatation im Laufmittel Acetonitril/Wasser (80:20). Wird dieser Schluß verallgemeinert, ist z. B. für Bchl a11 eine geringere Retention zu erwarten als für Bchl a12. Diastereomere mit *trans*-ständigen Gruppen an C3 und C4 sollten gegenüber denen mit *cis*-ständigen Gruppen bevorzugt auftreten, was die Zuordnung der Bchl-a-Diastereomere erleichtert.

DC-Fleck 1 kann nach dem erläuterten Sachverhalt maximal ein Bchl  $\alpha'$  enthalten. Durch RP-C18-HPLC sind darin die Komponenten 1, 2 und 3 nachzuweisen, bei denen es sich sehr wahrscheinlich um Bchl a11, Bchl a'11 bzw. Bchl a'21 handelt. Dem Hauptpeak im HPLC-Chromatogramm ordnen wir die üblicherweise für Bchl a angegebene Struktur des Diastereomers Bchl A12 zu. Die

*cisoid*e Anordnung der Gruppen an C4/C7 entspricht auch dem Retentionsverhalten in der DC (Fleck 2). DC-Fleck 3 enthält die HPLC-Peaks 7 und 8 mit wenig 5, d. h. aufgrund ihres Retentionsverhaltens sollten diese Verbindungen eine optimal freie Porphyrinebene haben. Dies ist bei den Diastereomeren Bchl a'12 und Bchl a22 sowie Bchl a'22 und Bchl a'21 gegeben. Nach den Mengenverhältnissen der Substanzen entspricht dem HPLC-Peak 7 Bchl a'12; eine sichere Zuordnung des HPLC-Peaks 8 ist nicht zu treffen, wahrscheinlich handelt es sich jedoch um Bchl a22. Die Mengenverhältnisse Bchl a11 (5.5%), a12 (71), a21 (8.5), a'11 (5.5), a'12 (8.5), a22 (0.8), a'21 – Peak 4 – (0.2) sind in sich konsistent, wenn man aufgrund der Biosynthese der Bacteriochlorophylle am Ring II zwischen C3/C4 bevorzugt eine *trans*-Hydrierung analog Ring IV annimmt. Für die Bchl-ap-Diastereomere (Abb. 2C) gelten die Strukturzuordnungen analog, d. h. Peak 9=a11, 10=a'11, 11=a21, 12=a'21, 13=a12, 14=a'12, 15=a22 (Schema 1).

Obwohl es bisher nicht gelang, ausreichende Mengen der einzelnen Bchl-a- und Bchl-b-Diastereomere für eine NMR-spektroskopische Untersuchung zu isolieren, und der endgültige Beweis für die getroffene Strukturzuordnung noch aussteht, wurden sie doch in den Photosyntheseeinheiten der angegebenen Mikroorganismen eindeutig nachgewiesen. Die strukturbezogene Auswertung der Retentionen in der Kombination von RP-DC und RP-C18-HPLC lieferten mehr als nur Hinweise für die richtige Charakterisierung der einzelnen Bchl-a-Diastereomere.

Eingegangen am 31. März,  
in veränderter Fassung am 17. Juli 1981 [Z 893b]

- [1] J. J. Katz, G. D. Norman, W. A. Svec, H. H. Strain, J. Am. Chem. Soc. 90, 6841 (1968).
- [2] B. Scholz, K. Ballschmiter, J. Chromatogr. 208, 148 (1981).
- [3] B. Scholz, H. Müller, K. D. Willaschek, K. Ballschmiter, J. Chromatogr. 208, 156 (1981).
- [4] B. Scholz, Dissertation, Universität Ulm 1981.
- [5] a) H. Brockmann, Jr., Angew. Chem. 80, 234 (1968); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 7, 222 (1968); H. Brockmann, Jr., I. Kleber, ibid. 81, 626 (1969) bzw. 8, 610 (1969); b) H. Scheer in D. Dolphin: The Porphyrins, Vol. II, Part B, Academic Press, New York 1978, S. 1 ff.; c) J. J. Katz, R. C. Dougherty, L. J. Boucher in L. P. Vernon, G. R. Seely: The Chlorophylls, Academic Press, New York 1966, S. 185 ff.; H. Scheer, J. J. Katz in K. M. Smith: Porphyrins and Metalloporphyrins, Elsevier, New York 1975, S. 399 ff.
- [6] J. R. L. Smith, M. Calvin, J. Am. Chem. Soc. 88, 4500 (1966).

### CC-Verknüpfung und reversible $\gamma$ -H-Abstraktion im Tantalkomplex $\text{Cl}(\eta^5\text{-Cp})(\eta^3\text{-C}_9\text{H}_7)\text{Ta}(\text{CHCMe}_3)$

Von Anton W. Gal und Harry van der Heijden<sup>[\*]</sup>

Koordinativ ungesättigte Cyclopentadienyl(Cp)-Tantal-Neopentylid-Komplexe sind nützliche Vorstufen für reaktive Olefin-Tantal-Verbindungen<sup>[1a]</sup>; sie reagieren mit Alkenen zu Tantalacyclobutan-Zwischenstufen, die über eine  $\beta,\alpha$ -Wasserstoffverschiebung die Olefinkomplexe ergeben<sup>[1a,c]</sup>. Koordinativ gesättigte Neopentylid-Komplexe wie  $\text{Cl}(\eta^5\text{-Cp})_2\text{Ta}(\text{CHCMe}_3)$ <sup>[1d]</sup> reagieren jedoch nicht mit Alkenen; um die Reaktivität zu erhöhen, ersetzten wir einen  $\eta^5$ -Cp-Liganden dieser Verbindung durch die  $\eta^3$ -Indenylgruppe ( $\eta^3\text{-C}_9\text{H}_7$ ), wobei der Komplex  $\text{Cl}(\eta^5\text{-Cp})(\eta^3\text{-C}_9\text{H}_7)\text{Ta}(\text{CHCMe}_3)$  (2)<sup>[2]</sup> entsteht.

Hergestellt wird (2) durch Umsetzung von Indenylnatrat mit  $\text{Cl}(\eta^5\text{-Cp})\text{Ta}(\text{CHCMe}_3)$  (1) (Mol-Verhältnis 1:1)

[\*] Dr. A. W. Gal, H. van der Heijden  
Koninklijke/Shell-Laboratorium (Shell Research B.V.)  
Badhuisweg 3, NL-1031 CM Amsterdam (Holland)