

$K^{+} + 1 H^{+}]^4-$, 839.7 [$\bullet + 6 Me_4N^{+} + 2 K^{+}]^4-$, 1096.2 [$\bullet + 3 Me_4N^{+} + 6 K^{+}]^3-$, 1108.4 [$\bullet + 4 Me_4N^{+} + 5 K^{+}]^3-$, 1120.4 [$\bullet + 5 Me_4N^{+} + 4 K^{+}]^3-$, 1132.5 [$\bullet + 7 Me_4N^{+} + 2 K^{+}]^3-$, 1144.5 [$\bullet + 7 Me_4N^{+} + 2 K^{+}]^3-$; C,H,N-Analyse: ber. für $C_{168}H_{156}Ga_4K_6N_{18}O_{36} \cdot 4 H_2O$ (gef.): C 56.23 (56.22), H 4.61 (4.31), N 7.03 (7.03).

$K_5[Et_4N]_7[Fe_4L_6]$: Dieser Komplex wurde analog zu $K_5[Et_4N]_7[Ga_4L_6]$ unter der Verwendung von [Fe(acac)₃] hergestellt (79 % Ausbeute). Zur Röntgenstrukturanalyse geeignete Einkristalle wurden durch Diffusion von Aceton in eine MeOH/H₂O-Lösung des Komplexes innerhalb von drei Wochen erhalten. ES-MS (Anionendetektion, H₂O/CH₃OH 10/90; $\bullet \equiv [Fe_4L_6]^{12-}$): *m/z*: 613.8 [$\bullet + 2 Et_4N^{+} + 1 Na^{+} + 4 H^{+}]^5-$, 641.7 [$\bullet + 2 Et_4N^{+} + 3 K^{+} + 2 Na^{+}]^5-$, 788.4 [$\bullet + 2 Et_4N^{+} + 1 K^{+} + 3 Na^{+} + 2 H^{+}]^4-$, 1094.5 [$\bullet + 2 Et_4N^{+} + 5 K^{+} + 2 Na^{+}]^3-$, 1123.4 [$\bullet + 3 Et_4N^{+} + 5 K^{+} + 1 H^{+}]^3-$, 1183.8 [$\bullet + 5 Et_4N^{+} + 3 K^{+} + 1 H^{+}]^3-$, 1214.2 [$\bullet + 6 Et_4N^{+} + 2 K^{+} + 1 H^{+}]^3-$, 1244.7 [$\bullet + 7 Et_4N^{+} + 1 K^{+} + 1 H^{+}]^3-$, 1490.9 [$\bullet + 1 Et_4N^{+} + 1 K^{+} + 1 Na^{+} + 7 H^{+}]^2-$; C,H,N-Analyse: ber. für $C_{200}H_{224}Fe_4K_5N_{19}O_{36} \cdot 4 H_2O$ (gef.): C 60.65 (60.38), H 5.90 (5.83), N 6.72 (6.44).

Eingegangen am 20. Januar 1998 [Z11384]

Stichwörter: Cluster · Käfigverbindungen · O-Liganden · Selbstorganisation · Wirt-Gast-Chemie

- [1] a) K. N. Raymond, D. L. Caulder, R. E. Powers, T. Beissel, M. Meyer, B. Kersting, *Proc. 40th Robert A. Welch Found. Chem. Res.* **1996**, *40*, 115; b) T. Beissel, R. E. Powers, K. N. Raymond, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1166; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1084; c) D. L. Caulder, K. N. Raymond, *ibid.* **1997**, *109*, 1508 bzw. **1997**, *36*, 1439; d) B. Kersting, M. Meyer, R. E. Powers, K. N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7221; e) M. Meyer, B. Kersting, R. E. Powers, K. N. Raymond, *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 5179; f) C. Brückner, R. E. Powers, K. N. Raymond, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 1937; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, No. 13/14. (vorhergehender Beitrag).
- [2] Für eine eingehende Diskussion verweisen wir auf eine frühere Mitteilung^[11] dieser Serie.
- [3] Für andere Beispiele von Wirt-Gast-Wechselwirkungen in Metall-Ligand-Clustern siehe: a) R. W. Saalfrank, R. Burak, A. Breit, D. Stalke, R. Herbst-Irmer, J. Daub, M. Porsch, E. Bill, M. Müther, A. X. Trautwein, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 1697; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1621; b) S. Mann, G. Huttner, L. Zsolnai, K. Heinze, *ibid.* **1996**, *108*, 2983 bzw. **1996**, *35*, 2808; c) M. Fujita, D. Oguro, M. Miyazawa, H. Oka, K. Yamaguchi, K. Ogura, *Nature* **1995**, *378*, 469; d) M. Fujita, S. Nagao, K. Ogura, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1649.
- [4] Erste Beiträge hierzu: a) D. L. Caulder, K. N. Raymond, *Chimia* **1997**, *51*, 433; b) D. L. Caulders, R. E. Powers, K. N. Raymond, *Abstract Inorg. 540, Am. Chem. Soc. Natl. Meeting*, San Francisco, CA (USA), **1997**. Ein ähnlicher chiraler Cluster hat einen Hohlraum, der zu klein ist, um ein Molekül einer Gastverbindung aufzunehmen: E. J. Enemark, T. D. P. Stack, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 977; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 932. Ein kürzlich beschriebenes M_4L_6 -Tetraeder: J. S. Fleming, K. L. V. Mann, C.-A. Carrraz, E. Psillakis, J.-C. Jeffery, J. A. McCleverty, *ibid.* **1998**, *110*, 1315 bzw. **1998**, *37*, 1279.
- [5] Beispiele: C. Piguet, G. Bernardinelli, G. Hopfgartner, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2005.
- [6] CAChe, V3.9, Oxford Molecular Group, USA, **1996**.
- [7] T. B. Karpishin, T. D. P. Stack, K. N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 6115, zit. Lit.
- [8] P. Jacobozzi, E. Dalcanale, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 665; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 613.
- [9] Die Gleichgewichtskonstanten wurden bei 298 K durch Integration der ¹H-NMR-Signale (500 MHz, D₂O) der Mischungen aus 5.0 mM K₁₂[Ga₄L₆] und 5.0 mM Gastion ermittelt. Die Spektren wurden nach 30 min und nach 2 d gemessen. Dabei wurde kein Unterschied festgestellt, was für die Einstellung des Gleichgewichtes 30 min nach der Mischung der Reaktionspartner spricht.
- [10] Kristallstrukturanalyse von $K_5[Et_4N]_7[Fe_4L_6] \cdot 8 H_2O \cdot 3 CH_3OH$: Kristallabmessungen 0.25 × 0.23 × 0.10 mm. Datensammlung auf einem Siemens-SMART-Diffraktometer, ausgerüstet mit einem CCD-Flächendetektor.^[12] $T = -120^\circ\text{C}$, $\lambda(\text{MoK}\alpha) = 0.71069 \text{\AA}$; Raumgruppe $I\bar{3}d$

(Nr. 220), $a = 43.706(8) \text{\AA}$, $V = 83488 \text{\AA}^3$, $Z = 16$, $\mu = 0.45 \text{ mm}^{-1}$, $F(000) = 35808$, $\rho_{\text{ber}} = 1.333 \text{ Mg m}^{-3}$, $2\theta_{\text{max}} = 41.67^\circ$. Von den 136 092 gemessenen Reflexen waren 7336 symmetrieeunabhängig ($R_{\text{int}} = 0.214$). Die Struktur wurde mit dem SHELXTL-Programmpaket^[13] mit Direkten Methoden und nachfolgender Fourier-Differenzsynthese gelöst und gegen F^2 verfeinert. Lorentz- und Polarisationskorrektur. Eine empirische Absorptionskorrektur wurde mit Hilfe des Programms XPREP^[14] durchgeführt (ellipsoides Modell, $R_{\text{int}} = 0.036$, $T_{\text{max}} = 0.895$, $T_{\text{min}} = 0.834$). Die Eisen-, Sauerstoff-, Stickstoff- und Kohlenstoffatome des Liganden, die halbbesetzten Kaliumatomlagen und die Kohlenstoff- und Stickstoffatome in den voll besetzten Et₄N⁺-Lagen wurden anisotrop verfeinert. Die Wasserstoffatome wurden, mit Ausnahme der fehlgeordneten Kationen und Lösungsmittelmoleküle, auf berechneten Positionen in die Verfeinerung einbezogen. Für die fehlgeordneten Et₄N⁺-Gegenkationen konnten nicht alle Kohlenstoffpositionen aufgelöst werden. Die N-C- und C-C-Abstände wurden für die fehlgeordneten Ionen auf Zielwerte von 1.4 und 1.5 Å eingestellt. Ein „antibumping restraint“ wurde für die Kohlenstoffatome des fehlgeordneten Et₄N⁺-Ions im Innern des Clusters angewendet; Wichtung: $1/\sigma^2(F_o^2) + (0.1660 p)^2 + 779.98 p] = ((F_o^2, 0)_{\text{max}} + 2F_o^2/3)$ mit $R1 = 0.0978$ für 4672 Reflexe mit $F_o > 4\sigma(F_o)$; 4672 unabhängige Daten ($3.75^\circ < 2\theta < 34.58^\circ$), 542 Variablen, 14 geometrische Restraints; $wR_2 = 0.3288$, GOF = 1.205; max./min. Restelektronendichte = 0.62/-0.32 e Å⁻³, Flack-Parameter = 0.03(5).^[15] Die kristallographischen Daten (ohne Strukturfaktoren) der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Struktur wurden als „supplementary publication no. CCDC-100947“ beim Cambridge Crystallographic Data Centre hinterlegt. Kopien der Daten können kostenlos bei folgender Adresse in Großbritannien angefordert werden: CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ (Fax: (+49) 1223-336-033; E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).

- [11] P. F. Schuda, C. M. Botti, M. C. Venuti, *OPPI Briefs* **1984**, *16*, 119.
- [12] SMART Area Detector Software Package, V4.050, Siemens Industrial Automation, Madison, WI (USA), **1995**.
- [13] G. M. Sheldrick, SHELXTL Crystal Structure Determination Software Package, V5.04, Siemens Industrial Automation, Madison, WI (USA), **1993**.
- [14] XPREP, Teil von SHELXTL.^[13]
- [15] H. D. Flack, *Acta Crystallogr. A* **1993**, *39*, 876.

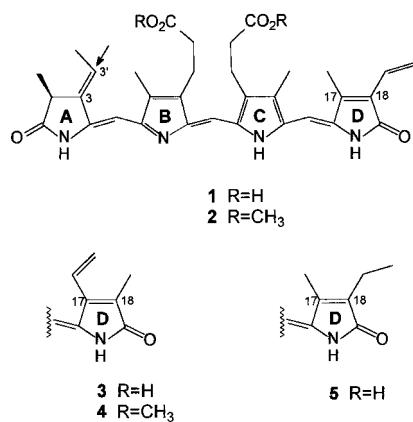
Ein neuartiger Chromophor verändert selektiv die spektralen Eigenschaften eines der beiden stabilen Zustände des pflanzlichen Photorezeptors Phytochrom**

Ingo Lindner, Bernd Knipp, Silvia E. Braslavsky, Wolfgang Gärtner* und Kurt Schaffner

Die Phytochrome, eine Gruppe pflanzlicher Photorezeptoren, bestehen aus einem Protein (125–140 kDa) und dem kovalent daran gebundenen, offenkettigen Tetrapyrrol-Chromophor Phytochromobilin **1** (Schema 1). Durch $Z \rightleftharpoons E$ -Phototautomerisierung einer Doppelbindung von **1**^[1] steuern die

[*] Priv.-Doz. Dr. W. Gärtner, Dipl.-Chem. I. Lindner, Dr. B. Knipp, Prof. Dr. S. E. Braslavsky, Prof. Dr. K. Schaffner
Max-Planck-Institut für Strahlenchemie
Postfach 101365, D-45413 Mülheim an der Ruhr
Fax: (+49) 208-306-3951
E-mail: gaertner@dsa.mpi-muelheim.mpg.de

[**] Wir danken Dr. D. Mozley für die Bereitstellung des rekombinant hergestellten Apophytochroms und Dr. A. McDonagh, University of California, San Francisco, für hilfreiche Informationen zur Hydrolyse der Dimethylester **2** und **4**.

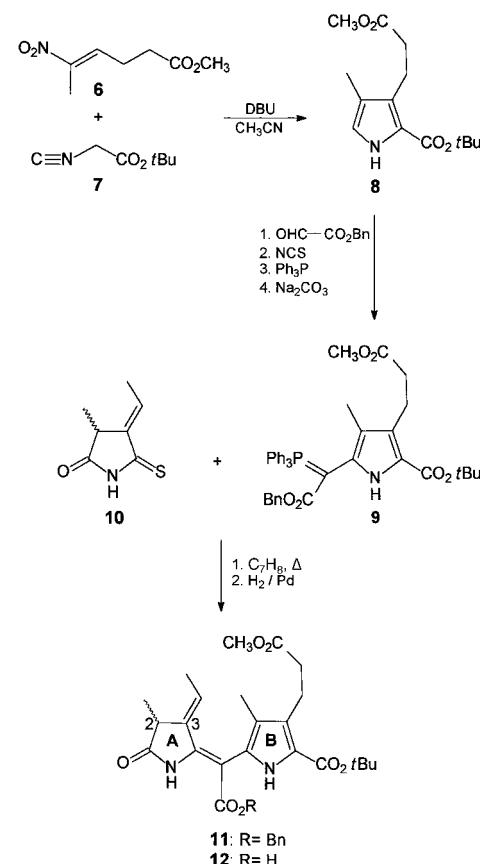


Schema 1. Strukturformeln des nativen Phytochromchromophors Phytochromobilin **1**, des hier erstmals beschriebenen Isomers „Iso“-Phytochromobilin **3**, ihrer Methylester **2** bzw. **4** sowie Strukturformel von Phycocyanobilin **5**. Die durch den Pfeil markierte 3'-Position des A-Rings in **1** wird durch nucleophilen Angriff einer Cystein-SH-Gruppe kovalent an das Protein gebunden. Die hier gezeigte B/C-tautomere Form wurde in Anlehnung an die Kristallstruktur einer 2,3-Dihydrobilatrien-abc-Modellverbindung gewählt.^[20]

Phytochrome eine breite Palette physiologischer Prozesse in Abhängigkeit von der Wellenlänge und der Intensität des absorbierten Lichts.^[2] Infolge der Photoisomerisierung durchläuft das Phytochrom eine mehrstufige Reaktionssequenz, die durch subtile Chromophor/Protein-Wechselwirkungen gesteuert wird. Die anschließende Signaltransduktion induziert die photomorphogenetischen Prozesse. Entsprechend ist es zum Verständnis der Phytochromfunktion wichtig, die Auswirkungen gezielter Veränderungen an Protein- und Chromophorkomponenten auf die Absorptions- und photochemischen Eigenschaften auszuloten. Die Herstellung von nativen und mutierten Formen des chromophorfreien Proteins ist schon mehrfach gelungen,^[3] ebenso die Assemblierung dieser Apoproteine mit nativem **1** sowie mit Phycocyanobilin **5**.^[1c, 3] Allerdings ist der aus Algen isolierbare Chromophor **1**^[4] für eingehende spektroskopische Untersuchungen nur in unzureichenden Mengen verfügbar. Effizientere und variierbare Synthesen von **1**^[5] sowie von Substitutionsisomeren und Isotopomeren^[7] sind daher dringend erforderlich.

Hier berichten wir über neue Synthesen von **1** und einem Substitutionsisomer, „Iso“-Phytochromobilin **3** (Schema 1), die zum Teil auf früheren Arbeiten aufbauen. Während Gossauer und Mitarbeiter^[8] als Zielverbindungen nur die Dimethylester einiger solcher Verbindungen synthetisiert haben, stellen wir hier die labilen freien Säuren **1** und **3** vor und belegen, daß diese mit heterolog erzeugtem Phytochrom-Apoprotein funktionelle Chromoproteine bilden.

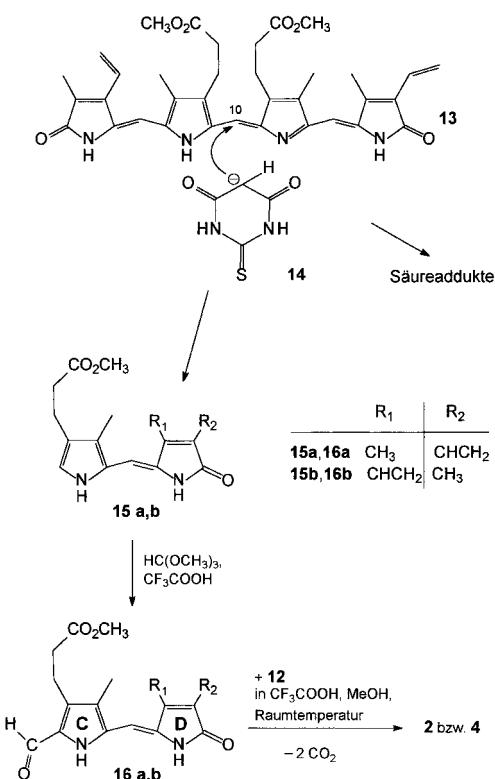
Das racemische Thiosuccinimid **10** (Ring A) wurde auf dem bereits bekannten Weg hergestellt.^[8b] Von besonderer Bedeutung ist es, die Bedingungen der anschließenden Thio-Wittig-Reaktion so zu wählen, daß die 3-Ethylidenstruktur, die zur kovalenten Verknüpfung mit dem Protein essentiell ist,^[9] nicht in die stabilere 2,3-Dehydrostruktur mit ungesättigtem A-Ring umlagert. Der Ring B wurde anders als bei der früheren Synthese nicht über eine Paal-Knorr-Kondensation erhalten, sondern durch Ringschluß^[10] zwischen dem Nitroolefin **6**^[11] und dem Isocyanid **7**^[12] zu **8** (Schema 2). In die



Schema 2. Synthese des Phosphorylyds **9** (Ring B) und Verknüpfung mit separat hergestelltem **10** (Ring A)^[8b] zum Dipyrromethenon **11**. Bn = Benzyl, tBu = *tert*-Butyl, NCS = *N*-Chlorsuccinimid, DBU = 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en.

freie α -Position von **8** wurde die Benzyloxycarbonyl(hydroxy)methyl-Gruppe eingeführt. Nach Chlorierung und Reaktion mit Triphenylphosphan erhielt man das Ylid **9**,^[13] das mit **10** in einer Thio-Wittig-Reaktion zu **11** verknüpft wurde. Aus **11** entstand nach Hydrogenolyse des Benzylesters das Dipyrromethenon **12**. Sämtliche Produkte weisen die zu erwartenden analytischen Daten auf. Da die Ringe B und C von **1** identisch sind und einige Synthesen für den Ring D bekannt sind,^[14] erlaubt der bisher eingeschlagene Weg eines sukzessiven Aufbaus des Ringsystems prinzipiell eine breite Variation des Substitutionsmusters und die Einführung von stabilen Isotopenmarkierungen. Diese sind für die Interpretation der komplexen Schwingungsspektren des Chromophors im Phytochrom von entscheidender Bedeutung.^[3g]

Anstelle des Aufbaus durch schrittweise Anellierung der Ringe C und D wählten wir hier als effizientere Alternative die Spaltung von Biliverdin-IX α -dimethylester **13** an C10 durch das Thiobarbitursäure-Anion **14**,^[15] wodurch die beiden Ringe bereits verknüpft in Form der Dipyrromethenone **15a** und **15b** vorlagen (Schema 3). Nach chromatographischer Trennung (Kieselgel, Chloroform/Ethylacetat 1/1) wurden beide Produkte separat zu **16a** und **16b** formyliert und zum Aufbau von **1** und **3** verwendet. Die Kupplung^[6] beider Hälften, **12** und **16a** bzw. **16b**, zu den Dimethylestern **2** bzw. **4** (siehe Tabelle 1) gelang in zufriedenstellenden Ausbeuten (ca. 40%). Die Zuordnung der Struktur von **4** ergibt sich aus



Schema 3. Spaltung von Biliverdin-IX α -dimethylester **13**. Die Reaktion führt sowohl zu einem Dipyrrromethenon mit den Ringen A-B (**15b**) als auch zum Dipyrrromethenon C-D (**15a**) und dem entsprechenden Addukt mit den Ringen A-B (nicht gezeigt).

Tabelle 1. Physikalische und spektroskopische Daten von **3**, **4** und **16b**.

3: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $[\text{D}_5]\text{Pyridin}$): $\delta = 1.50$ (d, 3 H, $J = 7.51$ Hz), 1.69 (d, 3 H, $J = 7.26$ Hz), 2.02, 2.10, 2.16 (3 s, je 1 H), 2.85 (m, 4 H), 3.10 (t, 2 H, $J = 7.23$ Hz), 3.18 (t, 2 H, $J = 7.35$ Hz), 3.32 (q, 1 H, $J = 8.20$ Hz), 5.59–5.76 (AB, 2 H, teilweise durch H_2O -Peak überlagert), 5.87 (s, 1 H), 6.26 (s, 1 H), 6.32 (q, 1 H, $J = 7.31$ Hz), 6.87 (m, X), 7.35 (s, 1 H)

4: Schmp. 208°C; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.30$ (d, 3 H, $J = 7.54$ Hz), 1.84 (d, 3 H, $J = 6.73$ Hz), 1.88, 2.00, 2.08 (3 s, je 3 H), 2.52 (t, 2 H, $J = 7.80$ Hz), 2.53 (t, 2 H, $J = 7.55$ Hz), 2.87 (t, 2 H, $J = 7.82$ Hz), 2.91 (t, 2 H, $J = 7.53$ Hz), 3.09 (q, 1 H, $J = 7.38$ Hz), 3.65, 3.66 (s, je 3 H), 5.62 + 5.64 (AB, $J_{\text{AB}} = 1.61$, $J_{\text{AX}} = 17.86$, $J_{\text{BX}} = 11.51$ Hz), 5.76 (s, 1 H), 6.09 (s, 1 H), 6.33 (q, 1 H, $J = 7.35$ Hz), 6.59 (s, 1 H), 6.59–6.70 (X, 1 H); UV/Vis (MeOH, 0.5% Triethylamin): λ_{max} (ϵ) = 366 (42000), 617 nm (16100); FT-IR (CCl_4): $\tilde{\nu} = 3435$, 3343, 2987–2915, 1742, 1733, 1698, 1666, 1619, 1590, 1436, 1252, 1165, 986, 954, 917 cm $^{-1}$; FAB-MS: m/z (%) = 613 (18)[M^+], 586 (7), 502 (19), 467 (19), 418 (14), 391 (12), 348 (39), 334 (100); HR-FAB-MS ($\text{C}_{35}\text{H}_{41}\text{N}_4\text{O}_6$): ber. 613.3026, gef. 613.3034

16b: Schmp. 235–237°C; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 2.09$, 2.11 (2 s, je 3 H), 2.58 (t, 2 H, $J = 7.65$ Hz), 3.06 (t, 2 H, $J = 7.64$ Hz), 3.65 (s, 3 H), 5.65 + 5.68 (AB, 2 H, $J_{\text{AB}} = 1.60$, $J_{\text{AX}} = 20.20$, $J_{\text{BX}} = 13.83$ Hz), 6.10 (s, 1 H), 6.59–6.66 (X, 1 H), 9.75 (s, 1 H), 10.55 (br. s, 1 H), 10.75 (br. s, 1 H); UV/Vis (MeOH): λ_{max} (ϵ) = 405 (24250), 271 (11500), 243 nm (11800); FT-IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3335$, 2949–2858, 1734, 1675, 1559, 1443, 1340, 1302, 1250, 1173, 1057, 993, 761 cm $^{-1}$; EI-MS: m/z (%) = 328 (100)[M^+], 313 (7), 299 (18), 269 (15), 241 (19), 225 (20), 197 (5), 183 (4), 134 (5), 120 (4), 106 (3); HR-MS ($\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4$): ber. 328.1423, gef. 328.1421

den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der beiden Diester, da die ABX- und AMX-Signalgruppen unzweifelhaft die Positionen der Vinylgruppen an C17 (**4**) bzw. C18 (**2**) festlegen.^[16] Die Herstellung der Säuren **1** und **3** aus den Estern führte wegen der Instabilität der Reaktionsprodukte zu unerwarteten Schwie-

rigkeiten und gelang nur durch Hydrolyse an saurem Ionenaustauscher (Dowex-50WX8-200, 40% Trifluoressigsäure, 48 h, Raumtemperatur, chromatographische Reinigung und Kristallisation aus Chloroform/1 % Methanol/n-Hexan). Wegen ihrer Instabilität wurden die freien Säuren nach Aufnahme der $^1\text{H-NMR}$ -Spektren sofort für die Assemblierungs-Experimente eingesetzt. Hier ist erstmals ein variierbarer Zugang zu diesen Verbindungen erschlossen worden, der ausreichende Mengen für spektroskopische Untersuchungen liefert. Die Gesamtausbeute ist allerdings noch immer relativ gering.

Die Verbindungen **1** und **3** – in Form ihrer Racemate – wurden unter Standardbedingungen mit rekombinant hergestelltem Apophytochrom^[17] inkubiert, um – für **1** – die Reproduzierbarkeit der Phytochrom-Absorptionswerte des nativen Chromoproteins ($\lambda_{\text{max}} = 667$ nm für P_r und 730 nm für P_{fr})^[18] und – für **3** – die Auswirkungen des veränderten Substitutionsmusters am Ring D auf die spektralen Eigenchaften zu überprüfen. Die Maxima des in Abbildung 1 wiedergegebenen Differenzspektrums für das mit **1** assemblierte Chromoprotein ($\lambda_{\text{max}} = 665$ nm für P_r und 728 nm für

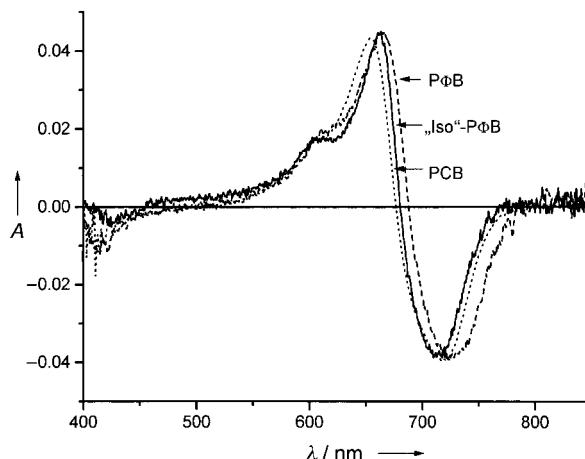


Abb. 1. $\text{P}_r\text{-P}_{\text{fr}}$ -Differenzspektren der rekombinanten Phytochrome, die durch Assemblierung des heterolog exprimierten Apoproteins mit Phytochromobilin **1** (PfB) und mit „Iso“-Phytochromobilin **3** („Iso“-PfB) erhalten wurden. Ebenfalls dargestellt ist das Differenzspektrum des mit Phycocyanobilin **5** (PCB)^[17] assemblierten, rekombinanten Phytochroms. Die Zahlenwerte der Ordinate (Absorption) beziehen sich auf die Spektren der beiden mit **1** und **3** assemblierten Chromoproteine. Die Amplitude des kurzwelligen Maximums von **5** wurde auf die von **1** normiert.

P_{fr}) stimmen sehr gut mit den Werten von natürlichem Phytochrom aus etioliertem Hafer überein. Die hypsochrome Abweichung um einige Nanometer ergibt sich erfahrungsgemäß^[3d] aus einer leicht veränderten Konformation des Apoproteins, die durch die heterologe Expression in Hefe bedingt ist.^[19] Rekombinantes Apophytochrom kann auch mit Phycocyanobilin **5** assembliert werden, das durch Extraktion aus Algen erhältlich ist. Vom nativen Chromophor **1** unterscheidet sich **5** nur in der Absättigung des Vinylsubstituenten am D-Ring (18-Ethyl anstatt 18-Vinyl; Schema 1); entsprechend sind auf Grund des verkürzten π -Elektronensystems beide Maxima im Chromoprotein um ca. 14 nm hypsochrom verschoben ($\lambda_{\text{max}} = 653$ nm für P_r und 717 nm für P_{fr} ; siehe auch Kurve „PCB“ in Abb. 1; bezüglich der Absorptionsmaxima der Phytochrome siehe Tabelle 2).

Tabelle 2. Absorptionsmaxima von nativem und rekombinannten Phytochromen.

Phytochromart	Chromophor	λ_{max} [nm]; P _r , P _{fr}
Natives Phytochrom ^[a]	1	667, 730
Rekombinantes Phytochrom	1 ^[b, c]	665, 728
Rekombinantes Phytochrom	3 ^[b]	663, 714
Rekombinantes Phytochrom	5 ^[c]	653, 717

[a] Aus Hafer präpariert. [b] Synthetisch hergestellte Verbindung. [c] Aus Algen extrahiertes Material.

Bemerkenswerterweise weist das mit dem hier synthetisierten „Iso“-Phytochromobilin **3** assemblierte Chromoprotein in der P_r-Form ein Absorptionsmaximum auf, das annähernd mit dem des nativen Chromophors **1** übereinstimmt ($\lambda_{\text{max}} = 663 \text{ nm}$), während in der P_{fr}-Form, ebenso wie im mit Phycocyanobilin **5** assemblierten Chromoprotein, die Absorption hypsochrom nach 714 nm verschoben ist.^[17] Die Bandenlagen der Absorptionsmaxima deuten darauf hin, daß der veränderte Substitutionstyp von **3** in der P_r-Form durch die Proteinumgebung toleriert wird, während sich die Chromophor/Protein-Wechselwirkung in der P_{fr}-Form selektiv und signifikant ändert. Die Frage bleibt offen, ob diese Änderungen der Wechselwirkungen im ersten Schritt der Phytochrom-Signaltransduktionskette auf unterschiedliche sterische und/oder elektronische Aspekte zurückzuführen sind (siehe dazu Abb. 2).

Eingegangen am 30. Dezember 1997 [Z11303]

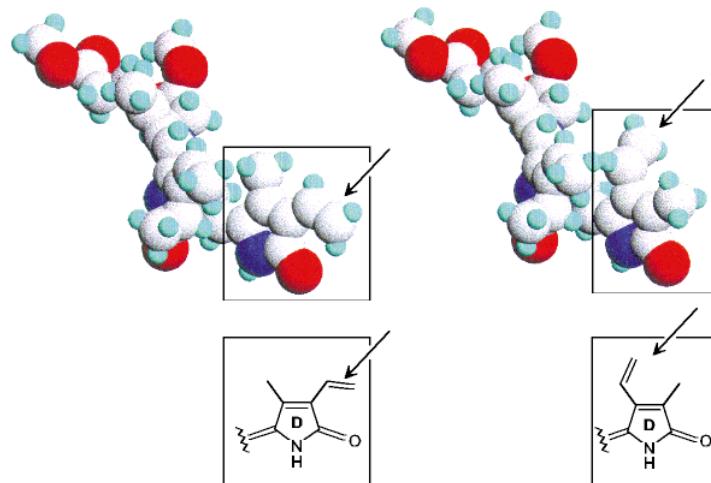


Abb. 2. PM3/MM⁺-Optimierte Strukturen der Z,Z,E-konfigurierten Verbindungen **1** und **3** (Hyperchem, Version 4.0). Es ist zu beachten, daß diese unterschiedlichen Konformationen im Ring D ohne Wechselwirkungen mit der Proteintasche des Phytochroms generiert wurden. Die Pfeile zeigen die Position der Vinylsubstituenten.

Stichwörter: Chromophore • Photochromie • Phytochrome
• Tetrapyrrole • UV/Vis-Spektroskopie

- [1] a) K. Schaffner, S. E. Braslavsky, A. R. Holzwarth in *Frontiers in Supramolecular Organic Chemistry and Photochemistry* (Hrsg.: H.-J. Schneider, H. Dürr), VCH, Weinheim, **1991**, S. 421; b) W. Rüdiger, F. Thümmler, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1242; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1216; c) S. E. Braslavsky, W. Gärtner, K. Schaffner, *Plant Cell Environ.* **1997**, *20*, 700.

- [2] *Photomorphogenesis in Plants* (Hrsg.: R. E. Kendrick, G. H. M. Kronenberg), 2. Aufl., Kluwer Academic, Dordrecht, **1994**.
[3] a) J. A. Wahleithner, L. Li, J. C. Lagarias, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 10387; b) L. Deforce, M. Furuya, P.-S. Song, *Biochemistry* **1993**, *32*, 14165; c) T. Kunkel, K.-I. Tomizawa, R. Kern, N.-H. Chua, E. Schäfer, *Eur. J. Biochem.* **1993**, *215*, 587; d) W. Gärtner, C. Hill, K. Worm, S. E. Braslavsky, K. Schaffner, *ibid.* **1996**, *236*, 978; e) P. Schmidt, U. H. Westphal, K. Worm, S. E. Braslavsky, W. Gärtner, K. Schaffner, *J. Photochem. Photobiol. B* **1996**, *34*, 73; f) A. Ruddat, P. Schmidt, C. Gatz, S. E. Braslavsky, W. Gärtner, K. Schaffner, *Biochemistry* **1997**, *36*, 103; g) C. Kneip, D. Mozley, P. Hildebrandt, W. Gärtner, S. E. Braslavsky, K. Schaffner, *FEBS Lett.* **1997**, *414*, 23.
[4] J. Cornejo, S. I. Beale, M. J. Terry, J. C. Lagarias, *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 14790.
[5] Der Dimethylester **2** wurde erstmals von Gossauer und Mitarbeitern^[6] synthetisiert.
[6] J.-P. Weller, A. Gossauer, *Chem. Ber.* **1980**, *113*, 1603.
[7] Siehe auch: B. Knipp, K. Kneip, J. Matysik, W. Gärtner, P. Hildebrandt, S. E. Braslavsky, K. Schaffner, *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 263.
[8] a) A. Gossauer, W. Hirsch, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1974**, 1496; b) A. Gossauer, R.-P. Hinze, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 283.
[9] L. Li, J. C. Lagarias, *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 19204.
[10] M. A. Drinan, T. D. Lash, *J. Heterocycl. Chem.* **1994**, *31*, 255.
[11] K. Kohori, M. Hashimoto, H. Kinoshita, K. Inomata, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1994**, *67*, 3088.
[12] N. Ono, H. Katayama, S. Nisiyama, T. Ogawa, *J. Heterocycl. Chem.* **1994**, *31*, 707.
[13] J. E. Bishop, J. F. O'Connell, H. Rapoport, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 5079.
[14] K. Ichimura, S. Ichikawa, K. Iamamata, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1976**, *49*, 1157.
[15] P. Manitto, D. Monti, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1980**, 178.
[16] Die Signalgruppen der Ring-D-Substitutionsmuster von **2** und **4** korrespondieren außerdem mit den entsprechenden Signalen der Biliverdin-IX α - und -XIII α -dimethylester: H. Lehner, S. E. Braslavsky, K. Schaffner, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1978**, 1990.
[17] D. Mozley, A. Remberg, W. Gärtner, *Photochem. Photobiol.* **1997**, *66*, 710.
[18] P_r und P_{fr} stehen für die thermisch stabilen Formen im Photozyklus des Phytochroms (r = red, fr = far red).
[19] Entsprechend verschobene Absorptionswerte werden auch erhalten, wenn Phytochrom aus rekombinant hergestelltem Apoprotein mit aus Algen extrahiertem Phytochromobilin **1** rekonstituiert wird. Diese zusätzliche Reproduktion der Phytochrombildung unter Verwendung des schwierig isolierbaren nativen **1** mindert Artefaktrisiken bei der Rekonstitution mit dem jetzt gut zugänglichen synthetischen Material.
[20] C. Kratky, H. Falk, K. Grubmayr, U. Zrunek, *Monatsh. Chem.* **1985**, *116*, 761.