

Synthesen von Gallenfarbstoffen, X<sup>1)</sup>

## Synthese und Photoisomerisierung des *racem.* Phytochromobilin-dimethylesters

Jens-Peter Weller und Albert Gossauer\*)\*

Institut für Organische Chemie der Technischen Universität Braunschweig,  
Schleinitzstraße, D-3300 Braunschweig

Eingegangen am 31. Juli 1979

Phytochromobilin-dimethylester (**5**), der aus pflanzlichem Phytochrom bisher nur in für die Aufklärung seiner Konstitution unzureichenden Mengen isoliert werden kann, wurde totalsynthetisch dargestellt und eindeutig charakterisiert. Bei Bestrahlung von **5** in benzolischer Lösung findet lediglich Konfigurationswechsel an der Ethyliden-Gruppe unter Bildung des thermodynamisch labilen *Z*-konfigurierten Isomeren **6** statt. Unter gleichen Bedingungen läßt sich Phycocyanobilin-dimethylester ebenfalls in sein *Z*-Isomeres photoisomerisieren.

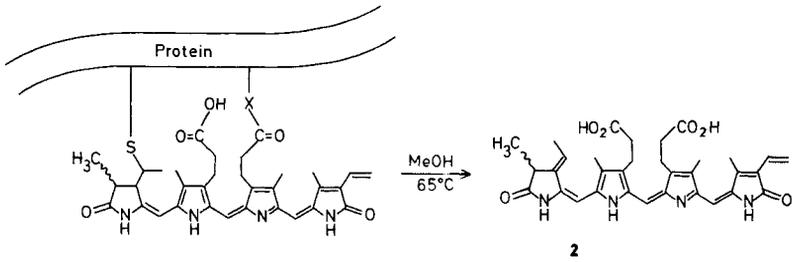
### Syntheses of Bile Pigments, X<sup>1)</sup>

#### Synthesis and Photoisomerization of Racemic Phytochromobilin Dimethyl Ester

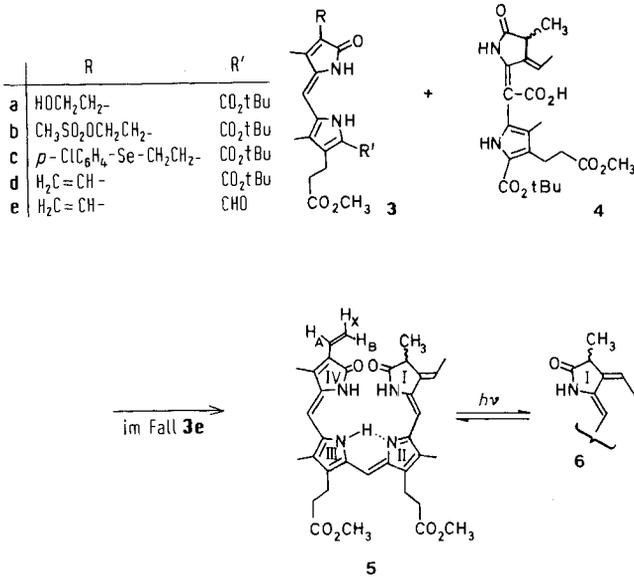
Phytochromobilin dimethyl ester (**5**) which can be isolated from plant chromoprotein phytochrome, but hitherto in insufficient quantities for the elucidation of its structure, has been prepared by total synthesis and fully characterized. On irradiation of **5**, dissolved in benzene, only change of configuration at the ethylidene group takes place yielding the thermodynamic unstable *Z*-isomer **6**. Under the same conditions, phycocyanobilin dimethyl ester can also be photoisomerized to its *Z*-isomer.

Phytochrom ist ein Chromoprotein, das als Photorezeptor bei der lichtabhängigen Regulation der Morphogenese der höheren Pflanzen fungiert<sup>2–5</sup>). Für die physiologische Funktion des Phytochroms ist das Vorliegen eines photoreversiblen Gleichgewichtes zwischen zwei (sog. P<sub>r</sub>- und P<sub>fr</sub>-) Formen des Chromoproteids, die durch Bestrahlung mit Licht der Wellenlängen λ<sub>max</sub> 665 bzw. 725 nm ineinander umgewandelt werden, ausschlaggebend<sup>6</sup>). Die konstitutive Beziehung der prosthetischen Gruppe des Phytochroms zu der Substanzklasse der Gallenfarbstoffe wurde bereits vor dreißig Jahren aufgrund der Ähnlichkeit des Wirkungsspektrums der P<sub>r</sub>-Form des Chromoproteids mit dem UV/VIS-Absorptionsspektrum des Allo-phycocyanins postuliert<sup>7</sup>). Durch oxidativen Abbau des denaturierten Chromoproteids wurde nicht nur diese Annahme bestätigt<sup>8</sup>), sondern konnte auch später<sup>9,10</sup>) die Konstitution **1** für die P<sub>r</sub>-Form des Phytochroms vorgeschlagen werden, welche die Bindung des Chromophors an das Protein berücksichtigt. Demnach dürfte dem aus denaturiertem Phytochrom unter denselben Bedingungen, die im Falle der Phycobilin zur Abspaltung des kovalent gebundenen Proteins führen<sup>11</sup>), freigesetzten Farbstoff<sup>12</sup>) (sog. Phytochromobilin) die Konstitution **2** zukommen.

\*) Gegenwärtige Adresse: Institut für Organische Chemie der Technischen Universität Berlin, Straße des 17. Juni 135, D-1000 Berlin 12.



Die Aufklärung der Konstitution des Phytochrom-Chromophors ist bisher durch die experimentellen Schwierigkeiten, die sowohl die Isolierung und Reinigung des Chromoproteids<sup>13)</sup> als auch die mäßige Ausbeute (<10%) bei der Spaltung der prosthetischen Gruppe bereiten, erheblich erschwert. Es schien infolgedessen wünschenswert, über synthetisches Material zu verfügen, das analytisch vollständig charakterisiert und ggf. mit den aus dem natürlichen Chromoprotein erhaltenen Präparaten identifiziert werden könnte.



Nachdem im Rahmen unserer Totalsynthesen von Phycocyanobilin-dimethylester<sup>14,15)</sup> und Phycoerythrobilin-dimethylester<sup>1,16)</sup> das 3,4-Dihydro-5(1*H*)-pyrromethenon-Derivat **4**, ein ebenfalls geeigneter Vorläufer der linken Molekülhälfte des Phytochromobilins (s. Formel **2**) dargestellt werden konnte, lag es nahe, die Synthese des letzteren in Angriff zu nehmen. Der benötigte Reaktionspartner für die konvergente Synthese des Gallenfarbstoffes stellt der 5'-Formyl-[4-vinyl]isoneoxanthobilirubinsäure-methylester (**3e**\*) dar. Er ist sowohl durch Formylierung des bekannten<sup>17)</sup> [4-Vinyl]isoneoxanthobilirubinsäure-methylesters als auch dessen 5'-*tert*-Butoxycarbonyl-

\*) Zur Nomenklatur siehe Lit.<sup>18)</sup>, Fußnote<sup>2)</sup>.

Derivats (**3d**) mittels Orthoameisensäure-trimethylester in Gegenwart von Trifluoressigsäure zugänglich. Als Edukt zur Darstellung von **3d** diente das im Rahmen der Totalsynthese von [18-Vinyl]mesourubin-dimethylester beschriebene 5(1*H*)-Pyrromethenon-Derivat **3a**<sup>18)</sup>, dessen Mesylat **3b** in das *p*-Chlorphenylselenid **3c** übergeführt wurde. Durch Oxidation des letzteren mittels Wasserstoffperoxid wurde das entsprechende thermolabile Selenoxid erhalten, dessen spontane Zersetzung bei Raumtemperatur das gewünschte Vinyl-5(1*H*)-pyrromethenon **3d** in 36proz. Gesamtausbeute (bezogen auf **3a**) lieferte. Die Kondensation des entsprechenden Aldehyds **3e** mit **4** ergab Phytochromobilin-dimethylester (**5**) in 45proz. Ausbeute.

Sämtliche spektroskopischen Daten (UV/VIS-, IR-, <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR- sowie Massenspektren) stehen mit der für das synthetische Produkt angegebenen Konstitution im Einklang (s. Exp. Teil). Bemerkenswerterweise unterscheidet sich das in HCl-haltigem Methanol aufgenommene UV/VIS-Spektrum von demjenigen der freien Base durch die beträchtliche bathochrome Verschiebung und hyperchrome Intensitätsänderung des längstwelligen Absorptionsmaximums (Abb. 1). Sowohl die Reversibilität des Vorganges als auch das Vorkommen von isosbestischen Punkten bei der spektralphotometrisch verfolgten Titration der methanolischen Lösung des Gallenfarbstoffes deuten darauf hin, daß es sich dabei lediglich um das Gleichgewicht zwischen der freien Base und der entsprechenden protonierten Spezies handelt. Die in alkalischem Medium beobachteten, ebenfalls außergewöhnlichen Änderungen der Lichtabsorption von Gallenfarbstoffen, die eine Ethyliden-Gruppe am C-3 tragen, sind vermutlich auf tiefergreifende Änderungen des Chromophors zurückzuführen<sup>8,19)</sup>.

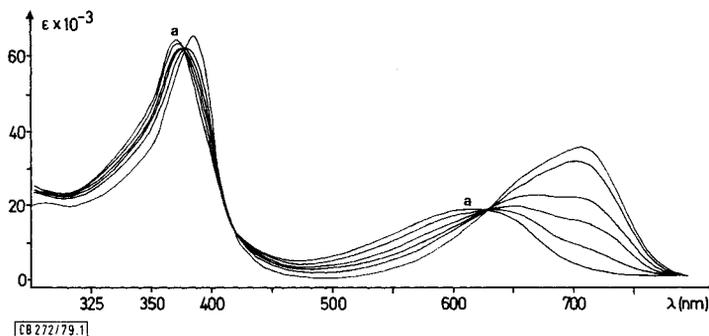


Abb. 1. Änderung des UV/VIS-Spektrums von Phytochromobilin-dimethylester (**5**) in Methanol. (a) bei gradueller Zugabe von 2proz. methanolischem HCl

Obwohl es bekannt ist, daß denaturierte Phytochrom-Präparationen keine Photoreversibilität aufweisen<sup>20)</sup>, und zwar wahrscheinlich weil der Protein-Teil an der Photochromie des Phytochrom-Chromophors beteiligt ist (vgl. z. B. Lit.<sup>21)</sup>), war es naheliegend, das photochemische Verhalten des synthetisch dargestellten Phytochromobilin-dimethylesters zu untersuchen. Bei der Bestrahlung einer Lösung von **5** in Benzol mit einer Quecksilberhochdrucklampe stellt sich ein photostationäres Gleichgewicht zwischen dem Edukt und einem Isomerisierungsprodukt, das sich thermisch relativ leicht wieder in **5** zurückverwandelt, ein. Aufgrund ihrer verschiedenen  $R_F$ -Werte konnten beide Komponenten des Gemisches chromatographisch getrennt werden.

Die spektroskopischen Daten des Photoisomerisierungsproduktes sprechen für eine geringfügige Änderung der Struktur des Edukt-Moleküls. Insbesondere die Unterschiede in den Absorptionsbereichen der Methyl- und Methinprotonen der Ethylyden-Gruppe im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum, die denjenigen für *E*- und *Z*-Ethylyden-methyl-succinimid<sup>22)</sup> entsprechen, deuten auf eine Konfigurationsänderung an der C-3-ständigen Ethylyden-Gruppe von **5** hin. Damit im Einklang erhält man bei oxidativem Abbau von **5** und **6** hauptsächlich *E*- bzw. *Z*-konfiguriertes Ethylyden-methyl-succinimid, deren  $R_F$ -Werte mit denjenigen von authentischen Proben<sup>23)</sup> übereinstimmen.

Daß bei der Bestrahlung von **5** außer der Ethylyden-Gruppe keine andere exocyclische Doppelbindung isomerisiert wird, läßt sich durch den sowohl bei **5** als auch bei **6** in *L*-Milchsäure-ethylester-Lösung nennenswerten induzierten Circular dichroismus beweisen (Abb. 2). Ein derartiger Effekt ist im Falle des Biliverdin-dimethylesters als Hinweis für die helicale *all-Z*-Konfiguration, *all-syn*-Konformation des Chromophors gedeutet worden<sup>24)</sup>. Dagegen weisen Gallenfarbstoffe mit *E,Z,Z*-Konfiguration an den exocyclischen Doppelbindungen keinen meßbaren ICD-Effekt auf<sup>25)</sup>.

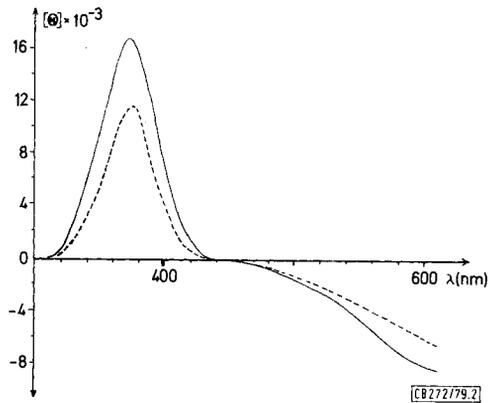


Abb. 2. ICD-Spektrum von **5** (—) und **6** (---) in (-)-Milchsäure-ethylester ( $1 \cdot 10^{-4}$  M)

Unter den voranstehend erwähnten Bedingungen läßt sich Phycocyanobilin-dimethylester ebenfalls in das *Z*-konfigurierte Isomere photochemisch umwandeln (s. Exp. Teil).

Über die Ergebnisse der Experimente, die zur Identifizierung des synthetischen Phytochromobilin-dimethylesters mit dem aus Phytochrom erhaltenen Farbstoff in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. *W. Rüdiger* (Botanisches Institut der Universität München) durchgeführt worden sind, werden wir demnächst gemeinsam berichten.

Die vorliegende Arbeit wurde durch Mittel des *Niedersächsischen Vorabs der Stiftung Volkswagenwerk* gefördert. Der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und dem *Fonds der Chemischen Industrie* danken wir für die Gewährung von Sachbeihilfen. Wir danken Herrn Dr. *L. Grotjahn* (Abteilung für Physikalische Meßtechnik der Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH., Braunschweig-Stöckheim) und Herrn Dr. *H.-M. Schiebel* für die Messung der EI-Massenspektren sowie Herrn Dr. *R. Kutschan* für die Aufnahme der 90-MHz- und  $^1\text{H-NMR}$ -

Spektren. Herrn Dr. *L. Ernst* und Herrn Dr. *V. Wray* (Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH) gilt unser Dank für die Aufnahme und Interpretation der  $100\text{MHz}^1\text{H-NMR}$ - und  $25.2\text{MHz}^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren.

## Experimenteller Teil

Schmelzpunkte: Kofler-Heiztischmikroskop der Fa. Reichert, nicht korrigiert. – Elementaranalysen: I. Beetz (D-8640 Kronach). – Massenspektren (MS): Spektrometer MS 9 und MS 30 der Fa. AEI sowie CH-4 der Fa. Varian MAT. Die Zuordnungen der Fragment-Ionen entsprechen plausiblen, z. T. bekannten Fragmentierungsprozessen<sup>26)</sup>, die mit der Konstitution der untersuchten Verbindungen zu vereinbaren sind. Sie sind jedoch weder durch hochaufgelöste Massenspektren noch durch Messung isotope-markierter Derivate belegt. – UV/VIS-Spektren: In Methanol, Spektralphotometer SP 800 B der Fa. Leitz-Unicam. – IR-Spektren: Von KBr-Preßlingen, Spektralphotometer IR-5 der Fa. Beckman. –  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren: Wenn nicht anders angegeben, in  $\text{CDCl}_3$ , Geräte T-60 und XL-100 der Fa. Varian sowie HFX 90 der Fa. Bruker-Physik AG, Tetramethylsilan interner Standard. – Circular dichroismus-Spektren (CD): Dichrograph II der Fa. Roussel-Jouan. – Präparative Schichtchromatographie (PSC): Glasplatten  $20 \times 100\text{ cm}$  (Schichtdicke 1–2 mm, Aktivierung 4 h bei  $140^\circ\text{C}$ , Beladung pro Platte 0.1–1 g Komponentengemisch), Kieselgel H (bei farbigen Produkten) sowie Kieselgel 60 PF<sub>254+366</sub> (bei farblosen Produkten) der Fa. Merck. – Analytische Dünnschichtchromatographie: DC-Aluminiumfolie der Fa. Woelm, beschichtet mit Kieselgel bzw. mit Kieselgel F 254/366. – Säulenchromatographie: Kieselgel 60, Korngröße 0.063–0.200 mm, Fa. Merck.

### 5(1H)-Pyromethenone

*5'-tert-Butoxycarbonyl-1,5-dihydro-3,3'-dimethyl-4-[2-(methylsulfonyloxy)ethyl]-5-oxo-2,2'-pyromethen-4'-propionsäure-methylester (3b)*: 500 mg *5'-tert-Butoxycarbonyl-1,5-dihydro-4-(2-hydroxyethyl)-3,3'-dimethyl-5-oxo-2,2'-pyromethen-4'-propionsäure-methylester (3a)*<sup>18)</sup> werden in einem Gemisch aus 20 ml Benzol, 10 ml Dimethylformamid und 10 ml Ethyldiisopropylamin gelöst. In die gerührte eisgekühlte Lösung werden 0.25 ml Methansulfonylchlorid zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird 90 min bei Raumtemp. weitergerührt, anschließend mit 100 ml Benzol verdünnt und dreimal mit je 30 ml 2 N HCl sowie einmal mit 30 ml Wasser gewaschen. Die organische Phase wird getrocknet ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) und i. Vak. eingedampft. Der Rückstand wird aus Methylenchlorid/Ether/n-Hexan umkristallisiert. Ausb. 480 mg (81%), Schmp.  $171-173^\circ\text{C}$ .

UV/VIS:  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 404 (sh), 386 (4.46), 259 (4.28), 253 (sh); UV/VIS (in  $\text{CH}_3\text{OH} + \text{Zn}(\text{OAc})_2$ ): 442 (4.48), 425 (sh), 272 (sh), 265 nm (4.24). – IR: 3290 (NH), 2890 (CH), 1720 (C=O), 1680 (C=O), 1660 (C=C), 1440, 1360 (*tert*-Butyl-CH), 1280, 1160, 1140  $\text{cm}^{-1}$ , u. a. –  $90\text{ MHz}^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  = 1.57 (s, *tert*-Butyl), 2.13 und 2.20 (je 1 s, 3- und 3'- $\text{CH}_3$ ), 2.49 (t,  $J$  = 7 Hz, Propionsäure- $\alpha$ - $\text{CH}_2$ ), 2.8–3.2 (m, 4H, Propionsäure- $\beta$ - $\text{CH}_2$  sowie Ethyl- $\alpha$ - $\text{CH}_2$ ), 2.89 (s, Mesyl- $\text{CH}_3$ ), 3.69 (s,  $\text{OCH}_3$ ), 4.44 (t,  $J$  = 6 Hz, Ethyl- $\beta$ - $\text{CH}_2$ ), 6.09 (s, Methin-H), 10.1 und 11.1 (je 1 s, NH). – MS (70 eV):  $m/e$  (%) = 496 (10)  $\text{M}^+$ , 440 (47)  $\text{M}^+$  – Isobuten, 400 (32)  $\text{M}^+$  –  $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$ , 380 (18), 344 (100) 400 – Isobuten, u. a.

*5'-tert-Butoxycarbonyl-4-[2-(4-chlorphenylselenyl)ethyl]-1,5-dihydro-3,3'-dimethyl-5-oxo-2,2'-pyromethen-4'-propionsäure-methylester (3c)*: Zu einer Lösung aus 1.4 g Bis(4-chlorphenyl)diselelid (Fluka AG) in 400 ml Ethanol werden portionsweise 340 mg Natriumborhydrid gegeben, wobei sich die gelbe Lösung unter Gasentwicklung entfärbt. Nach Abdampfen des Ethanols wird zu dem farblosen Rückstand eine Lösung von 940 mg **3b** in 330 ml Tetrahydrofuran gegeben und das Gemisch 40 min bei Raumtemp. gerührt. Nach Zugabe von 500 ml Wasser wird mit wenigen Tropfen 2 N HCl angesäuert und die Lösung viermal mit je 100 ml Methylenchlorid extrahiert.

Die vereinigten Extrakte werden trockenfiltriert, i. Vak. eingedampft und der Rückstand durch PSC an Kieselgel mit Methylchlorid/Methanol (98:2) als Elutionsmittel gereinigt. Ausb. 765 mg (68%), Schmp. 195 °C (aus Methylchlorid/Ether/n-Hexan).

UV/VIS:  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 406 (sh), 388 (4.52), 260 (4.39), 255 (sh); UV/VIS (in CH<sub>3</sub>OH + Zn(OAc)<sub>2</sub>): 443 (4.55), 424 (4.51), 266 nm (4.41). – IR: 3290 (NH), 2880 (CH), 1730 (C=O), 1690 (C=O), 1640 (C=C), 1440, 1370 (*tert*-Butyl-CH), 1280, 1160, 1140, 1110, 1015 cm<sup>-1</sup>, u. a. – 90 MHz<sup>-1</sup>H-NMR:  $\delta$  = 1.53 (s, *tert*-Butyl-CH<sub>3</sub>), 2.04 und 2.10 (je 1 s, 3- und 3'-CH<sub>3</sub>), 2.3–2.7 (m, 2H, Propionsäure- $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 2.7–3.3 (m, 6H, Propionsäure- $\beta$ -CH<sub>2</sub>, sowie Ethyl- $\alpha$ - und - $\beta$ -CH<sub>2</sub>), 3.67 (s, OCH<sub>3</sub>), 5.99 (s, Methin-H), 7.20 (m, 4H, Phenyl-H), 9.9 und 10.3 (je 1 s, NH). – MS (70 eV):  $m/e$  (%) = 592 (16) M<sup>+</sup>, 536 (66) M<sup>+</sup> – Isobuten, 492 (68) 536 – CO<sub>2</sub>, 301 (94), 287 (100), u. a.

*5'-tert-Butoxycarbonyl-1,5-dihydro-3,3'-dimethyl-5-oxo-4-vinyl-2,2'-pyrromethen-4'-propionsäure-methylester (3d)*: Zu einer Lösung von 500 mg **3c** in 100 ml Tetrahydrofuran werden bei 0 °C 2 ml 30proz. Wasserstoffperoxid getropft. Nach 5stdg. Rühren bei Raumtemp. wird das Gemisch mit 300 ml Wasser verdünnt und die erhaltene Lösung 4mal mit je 100 ml Methylchlorid extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden über Aluminiumoxid (Aktivitätsstufe II) filtriert, das Aluminiumoxid mit Essigester nachgewaschen und das Filtrat i. Vak. eingedampft. Der Rückstand wird aus Methylchlorid/Ether/n-Hexan umkristallisiert. Ausb. 220 mg (65%), Schmp. 192 °C.

UV/VIS:  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 415 (sh), 400 (4.54), 265 (4.26); UV/VIS (in CH<sub>3</sub>OH + Zn(OAc)<sub>2</sub>): 454 (4.55), 280 (sh), 274 nm (4.26). – IR: 3300 (NH), 2890 (CH), 1720 (C=O), 1690 (C=O), 1660 (C=C), 1445, 1370 (*tert*-Butyl-CH), 1270, 1170, 1090 cm<sup>-1</sup>, u. a. – 100 MHz<sup>-1</sup>H-NMR:  $\delta$  = 1.56 (s, *tert*-Butyl-CH<sub>3</sub>), 2.11 und 2.19 (je 1 s, 3- und 3'-CH<sub>3</sub>), 2.6–2.8 (m, 2H, Propionsäure- $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 2.9–3.2 (m, 2H, Propionsäure- $\beta$ -CH<sub>2</sub>), 3.70 (s, OCH<sub>3</sub>), 5.41 (dd,  $J_{\text{AX}} = 11.7$  Hz,  $J_{\text{BX}} = 2.0$  Hz, H<sub>X</sub><sup>27)</sup>), 6.07 (s, Methin-H), 6.22 (dd,  $J_{\text{AB}} = 17.7$  Hz,  $J_{\text{BX}} = 2.0$  Hz, H<sub>B</sub><sup>27)</sup>), 6.60 (dd,  $J_{\text{AB}} = 17.7$  Hz,  $J_{\text{AX}} = 11.7$  Hz, H<sub>A</sub><sup>27)</sup>), 9.8 und 10.2 (je 1 s, NH). – MS (70 eV):  $m/e$  (%) = 400 (24) M<sup>+</sup> 344 (100) M<sup>+</sup> – Isobuten, 284 (31) 344 – HCO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>,  $m^* = 234.5$  [344 → 284], u. a.

*5'-Formyl-1,5-dihydro-3,3'-dimethyl-5-oxo-4-vinyl-2,2'-pyrromethen-4'-propionsäure-methylester (3e)*

a) *Durch Reaktion von 3d mit Orthoameisensäure-trimethylester*: 300 mg **3d** werden in 3 ml Trifluoressigsäure gelöst und 3 min bei Raumtemp. gerührt. Nach Zugabe von 3 ml Orthoameisensäure-trimethylester wird die Lösung 30 min bei Raumtemp. gerührt, mit Methylchlorid verdünnt und mit Wasser sowie mit gesättigter wäbr. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird trockenfiltriert, i. Vak. eingedampft und der Rückstand durch PSC an Kieselgel mit Tetrachlorkohlenstoff/Essigsäure-ethylester (1:1) als Elutionsmittel gereinigt. Ausb. 150 mg (61%), Schmp. 192 °C (aus Methanol).

UV/VIS:  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 275 (4.35), 408 (4.54), 428 (4.51); UV/VIS (in CH<sub>3</sub>OH + Zn(OAc)<sub>2</sub>): 284 (4.38), 442 (4.48), 466 nm (4.54). – IR: 3290 (NH), 2900 (CH), 1740 (C=O), 1700 (C=O), 1590 (C=C), 1450, 1345, 1260, 1160 cm<sup>-1</sup>, u. a. – 100 MHz<sup>-1</sup>H-NMR:  $\delta$  = 2.14 und 2.16 (je 1 s, 3- und 3'-CH<sub>3</sub>), 2.60 (t,  $J = 7$  Hz, Propionsäure- $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 3.07 (t,  $J = 7$  Hz, Propionsäure- $\beta$ -CH<sub>2</sub>), 3.68 (s, OCH<sub>3</sub>), 5.48 (dd,  $J_{\text{AX}} = 11.7$  Hz,  $J_{\text{BX}} = 2.0$  Hz, H<sub>X</sub><sup>27)</sup>), 5.99 (s, Methin-H), 6.23 (dd,  $J_{\text{AB}} = 17.7$  Hz,  $J_{\text{BX}} = 2.0$  Hz, H<sub>B</sub><sup>27)</sup>), 6.54 (dd,  $J_{\text{AB}} = 17.7$  Hz,  $J_{\text{AX}} = 11.7$  Hz, H<sub>A</sub><sup>27)</sup>), 9.67 (s, Formyl-H), 10.6 und 11.0 (je 1 s, NH). – MS (70 eV):  $m/e$  (%) = 328 (100) M<sup>+</sup>, 297 (10) M<sup>+</sup> – OCH<sub>3</sub>, 269 (17), M<sup>+</sup> – CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, 254 (29), 211 (24), u. a.

b) *Durch Formylierung von [4-Vinyl]isoneoxanthobilirubinsäure-methylester*: 300 mg [4-Vinyl]isoneoxanthobilirubinsäure-methylester<sup>17)</sup> werden in 0.5 ml Orthoameisensäure-trimethylester suspendiert und mit 5 ml Trifluoressigsäure versetzt. Das Gemisch wird 30 min bei Raumtemp. gerührt und anschließend das Lösungsmittel i. Vak. abgedampft. Der Rückstand wird in

Methylenchlorid aufgenommen und wie voranstehend beschrieben aufgearbeitet. Ausb. 197 mg (60%).

### Gallenfarbstoffe

3(E)-Ethyliden-1,2,3,19,21,24-hexahydro-2,7,13,17-tetramethyl-1,19-dioxo-18-vinyl-22H-bilin-8,12-dipropionsäure-dimethylester (5): 88 mg 5'-tert-Butoxycarbonyl-3(E)-ethyliden-1,3,4,5-tetrahydro-4'-[2-(methoxycarbonyl)ethyl]-3',4-dimethyl-5-oxo-2,2'-pyrromethen-*ms*-carbonsäure (4)<sup>15</sup> werden in 4 ml Trifluoressigsäure gelöst, 20 min bei Raumtemp. gerührt, mit 66 mg 3e versetzt und 12 h bei -15 °C stehengelassen. Anschließend wird bei -15 °C 1 ml Methanol zugesetzt und die Lösung 30 min bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wird durch Überleiten eines Stickstoffstromes entfernt und der Rückstand in Methylenchlorid aufgenommen. Die Lösung wird mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen, trockenfiltriert und der nach Abdampfen des Lösungsmittels verbleibende Rückstand durch PSC an Kieselgel mit Tetrachlorkohlenstoff/Essigester (1:1) als Elutionsmittel gereinigt. Ausb. 55 mg (45%), Schmp. 180 °C (Zers.).

UV/VIS:  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 610 (4.25), 372 (4.76); UV/VIS (in 2proz. methanol. HCl): 708 (4.58), 386 nm (4.81). – IR: 3310 (NH), 2810 (CH), 1720 (C=O), 1670 (C=O), 1590 (C=C), 1440 cm<sup>-1</sup>, u. a. – 100 MHz<sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$  = 1.30 (d,  $J$  = 8 Hz, 2-CH<sub>3</sub>), 1.81 (dd, <sup>3</sup> $J$  = 8 Hz, <sup>5</sup> $J$   $\approx$  1 Hz, Ethyliden-CH<sub>3</sub>), 2.03, 2.12 und 2.20 (je 1 s, CH<sub>3</sub>), 2.4–2.7 (m, Propionsäure- $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 2.8–3.2 (m, Propionsäure- $\beta$ -CH<sub>2</sub>), 3.68 und 3.70 (je 1 s, OCH<sub>3</sub>), 5.41 (dd,  $J_{AX}$  = 11.7 Hz,  $J_{BX}$  = 2.1 Hz, H<sub>X</sub><sup>27</sup>), 5.82 und 6.08 (je 1 s, 5- und 15-H), 6.22 (dd,  $J_{AB}$  = 17.7 Hz,  $J_{BX}$  = 2.1 Hz, H<sub>B</sub><sup>27</sup>), 6.52 (dd,  $J_{AB}$  = 17.7 Hz,  $J_{AX}$  = 11.7 Hz, H<sub>A</sub><sup>27</sup>), 6.38 (dq, <sup>3</sup> $J$  = 7.0 Hz, <sup>4</sup> $J$  = 2.2 Hz, Ethyliden-H), 6.63 (s, 10-H). – 25.2 MHz<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):  $\delta$  = 9.45, 9.85 und 9.93 (je 1 q, C-7<sup>1</sup>, C-13<sup>1</sup> und C-17<sup>1</sup>), 14.89 und 15.74 (je 1 q, C-2<sup>1</sup> und C-3<sup>2</sup>), 20.06 und 20.24 (je 1 t, C-8<sup>1</sup> und C-12<sup>1</sup>), 35.57 (t, C-8<sup>2</sup> und C-12<sup>2</sup>), 38.26 (d, C-2), 51.84 (q, C-8<sup>4</sup> und C-12<sup>4</sup>), 87.42 (d, C-5), 97.95 (d, C-15), 111.33 (d, C-10), 119.28 (t, C-18<sup>2</sup>), 123.19 (d, C-3<sup>1</sup>), 124.73 (s, C-13), 126.33 (d, C-18<sup>1</sup>), 126.58 (s, C-18), 166.37 (s, C-14 oder C-6), 131.44, 132.95, 133.40, 133.89, 136.63, 141.70, 142.25, 146.35, 149.92 (je 1 s, sonstige quartäre C-Atome), 127.87 (s, C-19), 173.39 (s, C-8<sup>3</sup> und C-12<sup>3</sup>), 178.13 (s, C-1). – MS (70 eV):  $m/e$  (%) = 612 (58) M<sup>+</sup>, 597 (37) M<sup>+</sup> – CH<sub>3</sub>, 328 (74), 326 (64), 302 (100), 300 (74), u. a. – ICD (1 · 10<sup>-4</sup> M in (-)-Milchsäure-ethylester):  $\lambda$  (⊙) = 610 (–8400), 372 nm (+16800 °).

C<sub>35</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub> (612.7) Ber. C 68.61 H 6.58 N 9.15 Gef. C 68.65 H 6.65 N 9.07

3(Z)-Ethyliden-1,2,3,19,21,24-hexahydro-2,7,13,17-tetramethyl-1,19-dioxo-18-vinyl-22H-bilin-8,12-dipropionsäure-dimethylester (6): Eine sauerstoff-freie Lösung von 2 mg 5 in 100 ml Benzol wird 2 h unter Durchleiten von Stickstoff bei 20 °C bestrahlt<sup>28</sup>. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und aus dem Rückstand werden durch PSC an Kieselgel mit Tetrachlorkohlenstoff/Essigester (1:1) neben 1 mg Edukt 0.5 mg 6 als schneller laufende Komponente isoliert. Schmp. 170 °C (Zers.).

UV/VIS:  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 610 (4.13), 368 (4.62); UV/VIS (in 2proz. methanolischem HCl): 702 (4.39), 382 nm (4.58). – 100 MHz<sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$  = 1.28 (d,  $J$  = 8 Hz, 2-CH<sub>3</sub>), 2.07, 2.16 und 2.22 (je 1 s, CH<sub>3</sub>), 2.12 (dd, <sup>3</sup> $J$  = 8 Hz, <sup>5</sup> $J$  = nicht bestimmbar, Ethyliden-CH<sub>3</sub>), 2.4–2.7 (m, Propionsäuren- $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 2.8–3.2 (m, Propionsäuren- $\beta$ -CH<sub>2</sub>), 3.70 und 3.71 (je 1 s, OCH<sub>3</sub>), 5.41 (dd,  $J_{AX}$  = 11.7 Hz,  $J_{BX}$  = 2.2 Hz, H<sub>X</sub><sup>27</sup>), 5.86 (m, Ethyliden-H), 5.96 und 6.10 (je 1 s, 5- und 15-H), 6.23 (dd,  $J_{AB}$  = 17.8 Hz,  $J_{BX}$  = 2.2 Hz, H<sub>B</sub><sup>27</sup>), 6.53 (dd,  $J_{AB}$  = 17.8 Hz,  $J_{AX}$  = 11.7 Hz, H<sub>A</sub><sup>27</sup>), 6.73 (s, 10-H). – MS (70 eV):  $m/e$  (%) = 612 (5), M<sup>+</sup>, 424 (19), 300 (60), 294 (100), 279 (90), u. a. – ICD (1 · 10<sup>-4</sup> M in (-)-Milchsäure-ethylester):  $\lambda$  (⊙) = 610 (–6600), 375 nm (+11500 °C).

18-Ethyl-3(Z)-ethyliden-1,2,3,19,21,24-hexahydro-2,7,13,17-tetramethyl-1,19-dioxo-22H-bilin-8,12-dipropionsäure-dimethylester = 3(Z)-Phycocyanobilin-dimethylester: Eine Lösung von

2 mg synthetischem Phycocyanobilin<sup>15)</sup> in 100 ml Benzol wird wie voranstehend beschrieben bestrahlt und aufgearbeitet. Neben 1 mg Edukt isoliert man 0.7 mg des Z-konfigurierten Isomeren, das aus Methylenchlorid/n-Hexan umkristallisiert wird. Schmp. 115 °C (Zers.).

UV/VIS:  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 599 (4.32), 360 (4.76); UV/VIS (in 2proz. methanol. HCl): 685 (4.57), 368 nm (4.67). – 100 MHz<sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$  = 1.07 (t,  $J$  = 7 Hz, Ethyl-CH<sub>3</sub>), 1.25 (d,  $J$  = 8 Hz, 2-CH<sub>3</sub>), 2.04 (s, 7-CH<sub>3</sub>), 2.08 (dd,  $^3J$  = 8 Hz,  $^5J$  = nicht bestimmbar, Ethylen-CH<sub>3</sub>), 2.12 (s, 6-H, 13- und 17-CH<sub>3</sub>), 2.34 (q,  $J$  = 7 Hz, Ethyl-CH<sub>2</sub>), 2.4–2.7 (m, 4H, Propionsäuren- $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 2.8–3.1 (m, 5H, Propionsäuren- $\beta$ -CH<sub>2</sub> und 3-H), 3.68 und 3.69 (je 1 s, OCH<sub>3</sub>), 5.84 (m, Ethylen-H), 5.93 und 6.00 (je 1 s, 5- und 15-H), 6.72 (s, 10-H), 7.10 (br. s, 3H, NH). – MS (70 eV):  $m/e$  (%) = 614 (7) M<sup>+</sup>, 302 (100), 287 (19) 302 – CH<sub>3</sub>, 271 (9) 302 – OCH<sub>3</sub>.

**Oxidativer Abbau:** Zu einer Lösung von 25 mg NaHSO<sub>4</sub> und 25 mg Natriumdichromat in 0.6 ml Wasser wird eine Lösung von 1 mg **5** in 0.2 ml Tetrahydrofuran getropft und das Gemisch 2 h bei Raumtemp. gerührt. Die erhaltene Lösung wird mit 1 ml Wasser verdünnt und mehrfach mit Methylenchlorid extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden trockenfiltriert, i. Vak. eingedampft und der Rückstand durch DSC an Kieselgel mit Tetrachlorkohlenstoff/Essigester/Cyclohexan (5:3:1) als Elutionsmittel analysiert. Durch Anfärben mit Chlor/Benzidin (vgl. Lit.<sup>29)</sup>) werden die Abbau-Imide sichtbar gemacht. Als Hauptprodukt wird 2(*E*)-Ethylen-3-methylsuccinimid nachgewiesen, das aufgrund seines  $R_F$ -Wertes mit einer gemäß Lit.<sup>23)</sup> dargestellten Probe identifiziert wurde.

Unter gleichen Bedingungen wurden **6** bzw. 3(*Z*)-Phycocyanobilin-dimethylester oxidativ abgebaut, wobei in beiden Fällen das isomere 2(*Z*)-Ethylen-3-methylsuccinimid als Hauptprodukt nachgewiesen wurde.

## Literatur

- 1) IX. Mitteil.: A. Gossauer und J.-P. Weller, J. Am. Chem. Soc. **100**, 5928 (1978).
- 2) P. Rollin, Phytochrome, Photomorphogenese et Photoperiodisme, Masson et Cie. Ed., Paris 1970.
- 3) K. Mitrakos und W. Shropshire jr., Phytochrome, Academic Press, Inc. Ltd., London 1972.
- 4) H. Smith, Phytochrome and Photomorphogenesis, McGraw-Hill, New York 1975.
- 5) R. E. Kendrick und C. J. P. Spruit, Photochem. Photobiol. **26**, 201 (1977).
- 6) H. Mohr, Lectures on Morphogenesis, Springer Verlag, Heidelberg 1972, und dort zitierte Literatur.
- 7) H. A. Borthwick, M. W. Parker und S. B. Hendricks, Am. Nat. **84**, 117 (1950).
- 8) W. Rüdiger und D. L. Correll, Liebigs Ann. Chem. **723**, 208 (1969).
- 9) S. Grombein, W. Rüdiger und H. Zimmermann, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **356**, 1709 (1975).
- 10) G. Klein, S. Grombein und W. Rüdiger, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **358**, 1077 (1977).
- 11) H.-P. Köst und W. Rüdiger, Liebigs Ann. Chem. **1975**, 1582.
- 12) H. W. Siegelmann, B. E. Turner und S. B. Hendricks, Plant Physiol. **41**, 1289 (1966).
- 13) R. E. Kendrick und H. Smith, in Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments (T. W. Goodwin, Ed.), 2. Aufl., Vol. 2, 23 Kap., Academic Press, New York 1976.
- 14) A. Gossauer und W. Hirsch, Liebigs Ann. Chem. **1974**, 1496.
- 15) A. Gossauer und R.-P. Hinze, J. Org. Chem. **43**, 283 (1978).
- 16) A. Gossauer und E. Klahr, Chem. Ber. **112**, 2243 (1979).
- 17) H. Plieninger, F. L. Barkawi, K. Ehl, K. Kohler und A. F. McDonagh, Liebigs Ann. Chem. **758**, 195 (1972).
- 18) A. Gossauer und J.-P. Weller, Chem. Ber. **111**, 486 (1978).
- 19) W. Rüdiger und P. O'Carra, Eur. J. Biochem. **7**, 509 (1969).
- 20) W. L. Butler, H. W. Siegelmann und C. O. Miller, Biochemistry **3**, 851 (1964).

- 21) *R. Pasternak* und *G. Wagnière*, *J. Am. Chem. Soc.* **101**, 1662 (1979).
- 22) *H. Brockmann jr.* und *G. Knobloch*, *Chem. Ber.* **106**, 803 (1973).
- 23) *S. Schoch*, *G. Klein*, *U. Linsenmeier* und *W. Rüdiger*, *Liebigs Ann. Chem.* **1976**, 549.
- 24) *H. Lehner*, *S. E. Braslavsky* und *K. Schaffner*, *Liebigs Ann. Chem.* **1978**, 1990.
- 25) *M. Blacha-Puller*, Dissertation, Techn. Univ. Braunschweig 1979.
- 26) *H. Budzikiewicz*, *C. Djerassi*, *A. H. Jackson*, *G. W. Kenner* und *J. M. Wilson*, *J. Chem. Soc.* **1964**, 1949.
- 27) Die Protonen der Vinyl-Gruppe sind entsprechend Formel **5** zugeordnet worden.
- 28) Als Lichtquelle wurde eine Quecksilber-Hochdrucklampe S 81 der Quarzlampengesellschaft Hanau, sowie eine Filterlösung, die aus 650 g NaBr + 2H<sub>2</sub>O und 3 g Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> in 1 l Wasser (*A. Schönberg*, *Preparative Organic Photochemistry*, S. 491, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1968) hergestellt wurde, verwendet.
- 29) *W. Rüdiger*, *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.* **350**, 1291 (1969).

[272/79]