

- [22] a) *H. Brockmann jr.*, «Zur Stereochemie der Chlorophylle», Habilitationsschrift TU Braunschweig, Bönecke-Druck, Clausthal-Zellerfeld 1969, S. 90; *H. Brockmann jr. & I. Kleber*, *Angew. Chem.* **81**, 626 (1969); b) *H. Fischer & J. Hasenkamp*, *Liebigs Ann. Chem.* **515**, 148 (1935).
- [23] a) *H. Fischer & H. Walter*, *Liebigs Ann. Chem.* **549**, 44 (1941); b) *A. S. Holt & H. V. Morley*, *Canad. J. Chemistry* **37**, 507 (1959).
- [24] *R. Pappo, D. S. Allen jr., R. U. Lemieux & W. S. Johnson*, *J. org. Chemistry* **21**, 478 (1956).
- [25] *H. H. Inhoffen, P. Jäger, R. Mählihop & C.-D. Mengler*, *Liebigs Ann. Chem.* **704**, 188 (1967); *H. Brockmann jr.* l.c. [22a], S. 50.
- [26] a) *H. Fischer, E. Lakotos & J. Schnell*, *Liebigs Ann. Chem.* **509**, 201 (1934); b) *H. Wolf, I. Richter & H. H. Inhoffen*, *Liebigs Ann. Chem.* **725**, 177 (1969).
- [27] *R. Willstätter & A. Stoll* l.c. [10], S. 285; *J. J. Katz et al.* l.c. [2b], S. 226.
- [28] *H. Fischer, S. Breitner, A. Hendschel & L. Nüssler*, *Liebigs Ann. Chem.* **503**, 1 (1933).
- [29] *P. S. Song, T. A. Moore & M. Sun*, 'Excited States in Some Plant Pigments' in C. O. Chichester (Edit.) 'The Chemistry of Plant Pigments', Academic Press, N. Y. 1972, S. 33.

**255. Über enolisierte Derivate der Chlorophyllreihe.  
13<sup>2</sup>-Desmethoxycarbonyl-17<sup>3</sup>-desoxy-13<sup>2</sup>,17<sup>3</sup>-cyclochlorophyllid a-enol  
und eine Methode zur Einführung von Magnesium in porphinoide  
Ligandsysteme unter milden Bedingungen**

(Vorläufige Mitteilung)

von **Hans-Peter Isenring, Engelbert Zass, Keith Smith, Heinz Falk,  
Jean-Luc Luisier und Albert Eschenmoser**

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

(8. X. 75)

**Enol derivatives in the chlorophyll series. 13<sup>2</sup>-Desmethoxycarbonyl-17<sup>3</sup>-desoxy-13<sup>2</sup>,17<sup>3</sup>-cyclochlorophyllid a-enol and a method for the introduction of magnesium into porphinoide ligands under mild conditions.** *Summary.* Magnesium transfer from the iodo-magnesium salt of 3,5-di-*n*-butyl-4-hydroxy-toluene (BHT) into methyl pheophorbide a is a fast process in methylenechloride/ether solution at ambient temperature. This procedure for the introduction of magnesium into labile chlorin ligands has made possible the preparation of a crystalline 13<sup>2</sup>,17<sup>3</sup>-cyclochlorophyllid a-enol. Concomitant use of the lithium salt of BHT facilitates the more critical insertion of magnesium into methyl bacteriopheophorbide a. The preparative success of these magnesium transfers depends crucially upon the solvent system used. Under conditions where the complexation of methyl pheophorbide a with iodo-magnesium-BHT is essentially complete within 2 minutes at 12° in methylenechloride/ether solution, strong inhibition of the magnesium transfer is observed by cosolvents such as pyridine, dimethylacetamide, dioxan or tetrahydrofuran.

Eines der präparativen Ziele der in der voranstehenden Mitteilung [1] beschriebenen Untersuchungen über 13<sup>2</sup>,17<sup>3</sup>-Cyclophäophorbid-enole war die Herstellung entsprechender (zentraler) Magnesiumkomplexe. Bei Versuchen, den Magnesiumeinbau mit Hilfe beschriebener Komplexierungsmethoden zu erreichen, traten Schwierigkeiten auf, welche eine Bearbeitung des generellen Problems der Einführung von Magnesium in Ligandsysteme des Chlorin- und Bakteriochlorin-Typs erzwangen. Wir sind dabei auf ein neues Komplexierungsverfahren gestossen, das nicht nur eine Lösung des Problems der Darstellung von 13<sup>2</sup>,17<sup>3</sup>-Cyclochlorophyllid-enolen brachte, sondern darüber hinaus als Methode des Einbaus von Magnesium in porphinoide Liganden unter milden Reaktionsbedingungen von allgemeinerem Interesse ist. Das Verfahren scheint uns zudem mechanistische Fragen aufzuwerfen, deren Beantwort-

tung eine vertiefte Einsicht in die Problematik der Übertragung von Magnesium-Ionen bringen könnte. Wir beschreiben hier in vorläufiger Form die präparativen Aspekte der Methode an den Modellbeispielen Methylphäophorbid a, Methylpyrophäophorbid a und Octaäthyl-porphyrin, sowie eine für schwieriger komplexierbare Ligandensysteme wie Methylphäophorbid b oder Methylbakteriophäophorbid a notwendige Modifikation des Verfahrens. Für die Reihe der Cyclophäophorbid-enole teilen wir die Darstellung des im Titel genannten Cyclochlorophyllid a-Derivats mit<sup>1)</sup>.

Der Einbau von Magnesium in Chlorinliganden ist ein altes und vielbearbeitetes Problem der Chlorophyllchemie [4]. Es ist z.B. viel leichter, Zink in porphinoide Liganden einzubauen als Magnesium, Chlorine sind schwieriger mit Magnesium zu komplexieren als Porphyrine, und am schwierigsten scheint der Magnesiumeinbau beim Ligandensystem der Bakteriochlorine zu sein. In der ursprünglichen, von *Fischer et al.* [5] angewandten Methode der Komplexierung von Phäophorbidestern wird Äthylmagnesiumbromid mit einem (der Phäophorbidestergruppe entsprechenden) Alkohol zersetzt und der Chlorinligand mit einem Überschuss des so erhaltenen Alkoxymagnesiumbromids *in Pyridin auf 100° erhitzt*. *Fischer et al.* [5] war es auf solche Weise gelungen, von den entsprechenden Phäophorbidestern ausgehend z.B. kristallines Äthylchlorophyllid a<sup>2)</sup> [5a] in guter Ausbeute, kristallines Äthylchlorophyllid b<sup>3)</sup> [5b] jedoch nur in einer solchen von ca. 1% zu isolieren; beim Äthylbakteriophäophorbid a blieb der Einbau auch nach mehrstündigem Erhitzen derart unvollständig, dass eine Isolierung von Äthylbakteriophäophyllid a nicht möglich war [5c]. *Gekocht in Pyridin* wird auch bei der von *Wei et al.* [6] empfohlenen Methode der Komplexierung von Porphyrinen mit dem Reagens «Magnesium-Viologen», womit nach Angaben der Autoren [6b] z.B. die Darstellung des Methylpyrochlorophyllids a aus Methylpyrophäophorbid a in hoher Ausbeute gelingen soll<sup>4)</sup>. Das für Porphyrine bewährte Komplexierungsverfahren mit Magnesiumperchlorat in Pyridin [8] [9] erfordert *mehrstündiges Erhitzen unter Rückfluss*, und *Scheer & Katz* deuten in ihrer jüngsten Arbeit [10] an, dass sich auf diese Art zwar Chlorinliganden des Pyrophäophorbid-Typs, nicht aber solche mit intakter  $\beta$ -Ketoester-Gruppierung im Ring E komplexieren lassen. Sowohl die hier aufgeführten, wie auch andere<sup>5)</sup> in der Literatur erwähnte Methoden des Magnesiumeinbaus in Chlorine erfordern alle energische und – im Hinblick auf empfindliche Substrate – potentiell aggressive Reaktionsbedingungen, und es ist deshalb nicht verwunderlich, dass zur Reindarstellung von Chlorophylliden meistens Verfahren verwendet wurden (vgl. z.B. [7]), die von den pflanzlichen oder bakteriellen Chlorophyllen ausgehen und – wie z.B. die enzymatische Umesterung [13] [7] – ohne Verlust des biogenetisch eingebauten Magnesiums durchführbar sind.

In ersten orientierenden Versuchen mit dem 13<sup>2</sup>,17<sup>3</sup>-Cyclophäophorbid-enol der Chlorophyll a-Reihe [1] unter Anwendung sowohl bekannter, wie auch bisher bei

1) Teilergebnisse aus [2].

2) Magnesiumkomplex des Phäophorbid a-äthylesters.

3) Magnesiumkomplex des Phäophorbid b- (d.h. 7<sup>1</sup>-oxo-phäophorbid a-) äthylesters; zur Nomenklatur vgl. [1] Fussnote 6.

4) Die Reinheit dieses Reaktionsproduktes wurde später [7] in Frage gestellt.

5) Grignardverbindungen [11], Magnesium-dijodid in Pyridin [6a], Magnesiumkomplexe des 4,4'-Dipyridyls [6a], Magnesiumsalze in siedendem DMF [12], Magnesiumphenolat [6b].

Chlorinen unversucht gebliebener<sup>6)</sup> Komplexierungsagentien erwies es sich als sehr schwierig, schlüssige und reproduzierbare Hinweise für die Bildung eines Zentral-Magnesiumkomplexes zu erhalten. Die hohe Luftempfindlichkeit von relativ leicht zugänglichen Lösungen des entsprechenden Zink(II)-Komplexes<sup>7)</sup> wies überdies eindringlich darauf hin, dass eine präparative Herstellung des (vermutlich noch empfindlicheren [16]) Magnesiumkomplexes nur mit Hilfe eines solchen Metallierungsagens zu erhoffen war, welches Magnesium unter milden Reaktionsbedingungen quantitativ und ohne Nebenproduktbildung einbaut, so dass zur Produktisolierung keinerlei Reinigungsoperationen erforderlich sind. Auf der Suche nach einem solchen Reagens haben wir am Modell-Liganden Methylpyrophosphorbid a [6b] [7] u. a. das Verhalten von Magnesium-mercaptiden [17] geprüft und dabei die Erwartung bestätigt gefunden, dass das mit («weichen») Mercaptid-Liganden komplexierte («harte») Magnesium-Ion kinetisch sehr labil ist und *in schwach oder nicht koordinierenden Lösungsmitteln bei Raumtemperatur* den Chlorinliganden sehr rasch zu komplexieren vermag. In UV./VIS.-spektroskopisch verfolgten Testversuchen in ca.  $3 \cdot 10^{-6}$  M Lösungen mit dem (relativ wenig basischen und relativ gut löslichen) Phenylmercaptomagnesium-jodid<sup>8)</sup> beobachtete man praktisch quantitativen Einbau von Magnesium innerhalb höchstens 30 Min. bei Raumtemperatur in (1:1)-Lösungsmittelgemischen von Methylenchlorid mit Diäthylsulfid, Schwefelkohlenstoff, Thiophen, Tetrahydrothiophen oder Diäthyläther<sup>9)</sup>. Präparative Ansätze (in Methylenchlorid) offenbarten jedoch, dass der Einbau von Magnesium von einer schwerwiegenden Nebenreaktion begleitet war, die vermutlich<sup>10)</sup> in einer Anlagerung von Thiophenol an die Vinylgruppe des Ringes A bestand und die eine chromatographische Produktreinigung unumgänglich machte. In Aussicht genommene Versuche, die (möglicherweise radikalisch ablaufende<sup>11)</sup>) Nebenreaktion durch Verwendung eines sterisch gehinderten Thiophenols, wie z. B. 2,6-Di-*t*-butyl-thiokresol, oder durch Zusatz von geeigneten Antioxydantien zu verhindern, gelangten nicht mehr zur Ausführung; denn auf dem Wege dahin war die entscheidende Beobachtung gemacht worden<sup>12)</sup>, dass das als

<sup>6)</sup> Z. B. Magnesium-acetylacetonat in Imidazolschmelze [14], Magnesium-bis-hexamethyldisilazanat [15] und dessen Magnesiumdibromid-diätherat-Addukt [15].

<sup>7)</sup> Damals dargestellt in Methylenchlorid/Propionitril 1:1 mit Hexaacetonitrilo-Zink(II)-perchlorat in Gegenwart von Äthyl-diisopropylamin (20 Min. bei RT.) unter Ausschluss von Sauerstoff (Schlenk-Apparatur). Später gelang es, den (Zentral-) Zinkkomplex des 13<sup>a</sup>, 17<sup>b</sup>-Cyclophosphorbid a in kristalliner Form zu bereiten (Zinkchlorid, Wasser/Propionitril/Methylenchlorid 16:63:21, 38°, 1,5 Min. unter Argon, vgl. [3], S. 126).

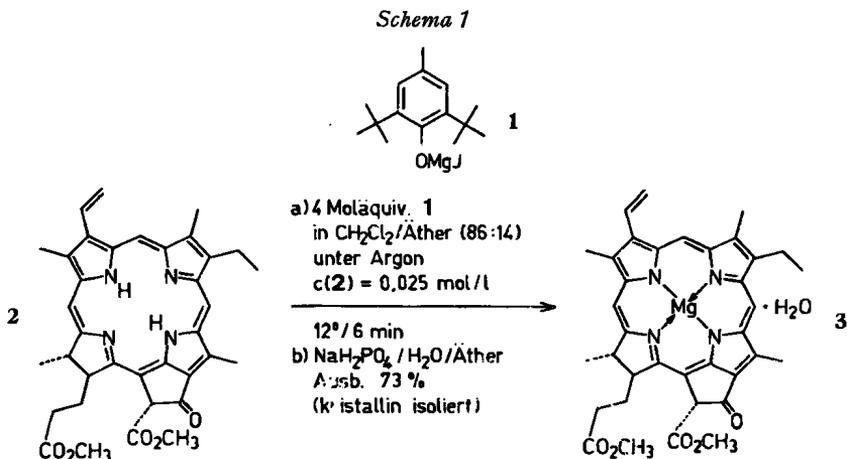
<sup>8)</sup> Reagenslösung dargestellt durch Zugabe von 1,0 mmol Thiophenol im Gemisch von je 3 ml Methylenchlorid und Diäthyläther zu 1 ml 0,88 molarer ätherischer Lösung von Äthylmagnesiumjodid; verwendet in ca. 10fachem molarem Überschuss bezüglich ca.  $5 \cdot 10^{-5}$  mol Methylpyrophosphorbid a in 15 ml des (jeweils angegebenen, entgasten) Lösungsmittelgemisches (Luftauschluss).

<sup>9)</sup> Am raschesten (innert Min.) mit Diäthylsulfid und Tetrahydrothiophen; mit Propionitril benötigte der Einbau unter sonst gleichen Bedingungen über einen Tag, mit THF über 3 Std. Mit Pyridin, DMF, Diglyme und DMSO verlief die Reaktion unübersichtlich.

<sup>10)</sup> Chromatographische (Cellulose) Abtrennung einer schwefelhaltigen Nebenproduktfraktion mit dem vom Chromophortyp der Chlorobium-Chlorophylle 650 her bekannten [18] UV./VIS.-Spektrum.

<sup>11)</sup> Orientierende Versuche hatten angedeutet, dass Zusatz von «Galvinoxyl» [20] das Reaktionsbild zu beeinflussen vermag.

<sup>12)</sup> Beobachtung von H.-P. Iserning (A. E.).



Antioxydants für die Chromatographie von Chlorophyllderivaten empfohlene [19] 3,5-Di-*t*-butyl-4-hydroxy-toluol (= BHT) den Magnesiumeinbau selbst, und zwar unter überraschend milden Bedingungen zu vermitteln vermag. Die experimentelle Verfolgung dieser «heissen Spur» führte zu folgenden Ergebnissen.

Bei der Umsetzung von *Methylphäophorbid a* (**2**) mit überschüssigem BHT-Magnesiumjodid im Lösungsmittelgemisch Methylenchlorid/Äther erfolgt bei Raumtemperatur innert Minuten UV./VIS.-spektroskopisch vollständiger Einbau von Magnesium; Reaktionsbedingungen und Ergebnis präparativer Ansätze fasst das *Schema 1* zusammen. Eine so gewonnene, aus Äther (unter Argon bei 4°) kristallisierte Probe von Methylchlorophyllid **a** (**3**; C<sub>36</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>Mg · 1,2 H<sub>2</sub>O) zeigte UV./VIS.-, IR.- und <sup>1</sup>H-NMR.-Spektren, die mit den Angaben von *Katz et al.* [7] über die Spektren einer durch enzymatische Umesterung aus Chlorophyll **a** gewonnenen Probe übereinstimmen<sup>13)</sup>. Von einer analog ausgehend vom Äthylester des Phäophorbids **a** gewonnenen, aus Aceton (+ 10% Wasser) unter Argon kristallisierten Probe von Äthylchlorophyllid **a** haben *Kratky & Dunitz*<sup>14)</sup> in einem anderen Zusammenhang eine Röntgenstrukturanalyse durchgeführt.

*Methylpyrophäophorbid a* erforderte für quantitativen Einbau des Magnesiums leicht erhöhte Reaktionstemperatur und Konzentrierung der Reaktionslösung: 5minütiges Erwärmen einer 0,025 M Lösung (CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Äther 50:38:12) auf 50° in Gegenwart von 4 Mol-Äqu. des Reagens und anschliessendes Abdampfen des Lösungsmittelgemisches im Vakuum bei Raumtemperatur<sup>15)</sup> ergab ein Edukt- und Nebenprodukt-freies Material, aus welchem sich aus Äther/Hexan analytisch und

<sup>13)</sup> Über exper. Details und spektroskopische Charakterisierung von **3** vgl. [2a] S. 167–175. Die DC.-Analyse (Cellulose-Al-Folie, Hexan/Aceton/Propanol 100:10:0,45) der Mutterlauge zeigte neben weiterem **3** die Anwesenheit geringer Mengen eines (rascher laufenden) Nebenprodukts. Nach den spektroskopischen Daten einer nach Dekomplexierung chromatographisch isolierten (nicht kristallinen) Probe, ist in diesem Nebenprodukt vermutlich eine BHT-Molekel in die Stellung 13<sup>2</sup> von **3** eingebaut. Ungenügender Ausschluss von Luftsauerstoff bei der Kristallisation von **3** führt zu teilweiser «Allomerisierung».

<sup>14)</sup> Vgl. [20a] sowie eine noch zu erscheinende Arbeit von *C. Kratky & J. D. Dunitz*.

<sup>15)</sup> Bei 12° erfolgte kein Einbau und ohne Abzug des Lösungsmittels war die Komplexbildung nicht vollständig. Über die Röntgenstrukturanalyse einer nach diesem Verfahren gewonnenen Probe Methylpyrochlorophyllid **a** vgl. Fussnote 14.

spektroskopisch reines Methylpyrochlorophyllid a [7] in 80% Ausbeute kristallisieren liess. 3minütiges Erwärmen von *Octaäthylporphyrin* auf 50° in 0,01 M Lösung (CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Äther 63:29:9) mit 8 Mol-Äqu. Reagens lieferte ebenfalls 80% reinen Magnesiumkomplex [21] nebst 14% Edukt.

Das Komplezierungsreagens wird durch Umsetzung einer ätherischen Lösung von Äthylmagnesiumjodid mit 1.02 Mol-Äqu. 3,5-Di-*t*-butyl-4-hydroxy-toluol dargestellt und als frisch bereitete 0,2M Lösung in Methylenchlorid/Äther 76:24 verwendet<sup>16)</sup>. *Die Wahl des Lösungsmittels ist für den Erfolg des Einbaus von Magnesium in Chlorinliganden entscheidend.* UV./VIS.-spektroskopisch verfolgte Versuche mit Methylphäophorbid a unter Standardbedingungen (Substrat 0,025M/Reagens 0,100M/50 Vol.-% Methylenchlorid/Äther 76:24 und 50 Vol.-% Testlösungsmittel/6 Min./12°) zeigten vollständigen Einbau in Methylenchlorid, Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff und 1,2-Dichloräthan, aber gar keinen in «wasserfreiem» Pyridin, Dimethylacetamid, *t*-Butylalkohol, Dioxan, Tetrahydrofuran und Aceton. Wie Fig. 1<sup>17)</sup> zeigt, ist im Lösungsmittelgemisch Methylenchlorid/Äther 86:14<sup>18)</sup> der Einbau bereits innerhalb 2 Min. praktisch vollständig; durch Zusatz von geringen Mengen Aceton wird er stark verlangsamt und bereits bei 5 Vol.-% Aceton ist er beinahe völlig unterbunden<sup>19)</sup>.

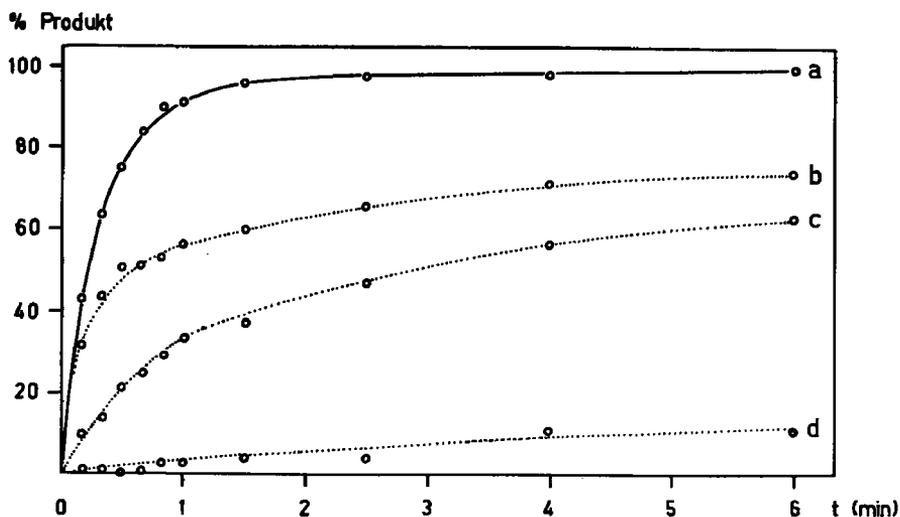
Mit einem 7fachen Überschuss an BHT-Magnesiumjodid unter den in *Schema 2* zusammengefassten Reaktions- und Aufarbeitungsbedingungen gelangen ein UV./VIS.-spektroskopisch quantitativer Einbau von Magnesium in das 13<sup>2</sup>,17<sup>3</sup>-Cyclophäophorbid a-enol (4) wie auch die Isolierung von kristallinem, analytisch und spektroskopisch reinem 13<sup>2</sup>,17<sup>3</sup>-Cyclochlorophyllid a-enol (5) in 76% Ausbeute. Entscheidend bei der verwendeten Arbeitsmethodik ist die Abtrennung des BHT aus dem Rohprodukt durch Sublimation im Hochvakuum und die Durchführung der Kristallisation von 5 (3 Wochen, RT.) unter einer Argonatmosphäre mit weniger als 5 ppm

<sup>16)</sup> *Darstellungsvorschrift für 0,2M Reagenslösung von 1* (alle Operationen unter Argon ausgeführt): 780 mg (3,55 mmol) frisch bei 60° am HV sublimiertes BHT (*Fluka purum*) in 13 ml (über Calciumhydrid destilliertem) Methylenchlorid in 25 ml-Schliffkolben mit Zweihals-Aufsatz (Serumkappe und Schliffhahn mit Argonballon) lösen und hierzu unter intensivem Rühren (Magnet) durch Serumkappe mittels Spritze 4,0 ml (3,48 mmol) 0,87M frisch hergestellte Lösung von Äthylmagnesiumjodid in Äther inert ca. 15 Sek. zutropfen (heftige Reaktion). Die klare und farblose Reagenslösung ist nach 10 Min. gebrauchsfertig (vor Licht schützen); sie soll innerhalb von ca. 30 Min. verwendet werden; beim stundenlangen Stehenlassen (unter Argon) färbt sie sich gelb und über Nacht schwarz. Die zur Verwendung gelangende *Grignardlösung* soll ebenfalls frisch hergestellt sein (vgl. [2a]). Versuche mit Äthylmagnesiumbromid ergaben weniger gute Einbauresultate (langsamerer Einbau), und Äthylmagnesiumchlorid ergab keine homogene Reagenslösung.

<sup>17)</sup> Die UV./VIS.-spektroskopische Bestimmung des Einbaus erfolgte durch Probeentnahme nach Aufarbeitung mit Phosphatpuffer (pH 4,5) und Ausmessung in ätherischer Lösung mit Hilfe einer Eichkurve. Letztere bestimmte man an 9 Gemischlösungen bekannter Zusammensetzung von Methylchlorophyllid a (3) und Methylphäophorbid a (2) durch Ermittlung des Verhältnisses der optischen Dichten bei 427 nm (*Soret*bande von 3) zu jener bei 407 (*Soret*bande von 2); Verhältnis = 1,52 bei reinem Chlorophyllid und 0,23 bei reinem Phäophorbid ( $\Sigma$  der Substratkonzentrationen 0,811–0,835 · 10<sup>-5</sup> mol/l in Äther).

<sup>18)</sup> Der Ätheranteil stammt aus der Reagenslösung.

<sup>19)</sup> «Aceton *pro analysi*» *Merck*, Wassergehalt  $\leq$  0,2% (entspräche bei 5% Acetonzusatz ca. 1 mol Wasser auf ca. 18 mol BHT). Die mechanistische Interpretation des Aceton-Effekts erfordert Vorsicht (Aldolisierung?), und der Einfluss von Wasserspuren auf die Geschwindigkeit des Magnesiumeinbaus bedarf noch der Abklärung.



Kurve	Lösungsmittel (Vol.-%)		
	Methylenchlorid	Äther <sup>18)</sup>	Aceton
a	86,0	14,0	—
b	85,5	14,0	0,5
c	83,5	14,0	2,5
d	81,0	14,0	5,0

Fig. 1. Einbau von Magnesium in Methylphäophorbid a (2) ( $c = 0,025$  mol/l) mit BHT-Magnesiumjodid ( $c = 0,100$  mol/l) bei  $12^\circ$

$O_2$ -Gehalt<sup>20)</sup>. Für die Komplexierung und die Aufarbeitung erwies sich das Problem des Luftausschlusses als weniger kritisch, vermutlich weil das BHT als Antioxydans [19] das Substrat vor «Allomerisierung» teilweise zu schützen vermag.

Nach den Verbrennungsdaten sowie dem  $^1H$ -NMR.-Spektrum kristallisiert der Magnesiumkomplex 5 mit zwei Mol. THF. Solche Kristalle sind z.B. in Methylenchlorid bis zu einer Konzentration von  $2 \cdot 10^{-5}$  mol/l bei Raumtemperatur löslich, jedoch nicht mehr, wenn das (vermutlich am Magnesium koordinierte) THF durch vorheriges Erhitzen im Hochvakuum entfernt wird. Die Löslichkeitsgrenzen in THF, DMF, Dimethylacetamid und Dioxan liegen um  $3 \cdot 10^{-2}$  bis  $1 \cdot 10^{-3}$  mol/l. Entgaste Lösungen sind unter Argon ( $\leq 5$  ppm  $O_2$ ) bei Raumtemperatur wochenlang stabil; in nicht entgasten Lösungsmitteln setzt sofort (durch Licht beschleunigte) «Allomerisierung» ein<sup>21)</sup>. Der Komplex lässt sich dünnschicht-chromatographisch (Cellulose auf Aluminiumfolie; Hexan/Aceton 85:15) vom rascher wandernden Cyclophäophor-

<sup>20)</sup> Die Einführung dieser Arbeitstechnik in unser Laboratorium verdanken wir Herrn Prof. Dr. K. Hodgson, Dept. of Chemistry, Stanford University (Drybox der VAC Vacuum/Atmospheres Corporation, Hawthorne, Calif. USA, Modell HE-493 Dri Train;  $O_2$ -Gehalt der Argonatmosphäre  $\leq 5$  ppm).

<sup>21)</sup> UV./VIS.-spektroskopisch leicht erkennbar am Auftauchen eines Spektrums vom Methylchlorophyllid a-Typ.

bid-enol **4** leicht differenzieren; dabei muss in Argonatmosphäre (Drybox<sup>20</sup>) chromatographiert werden.

Die spektroskopischen Daten des Magnesiumkomplexes **5** (vgl. Tabelle) weisen das Vorliegen der freien Enolgruppierung im Ringe E nach: im <sup>1</sup>H-NMR.-Spektrum (in perdeuteriertem Dioxan) tritt bei 13,18 ppm das scharfe Signal des chelierten Enolprotons auf, die höchstliegende IR.-Bande im Carbonylschwingungsbereich liegt bei 1660 cm<sup>-1</sup> (in THF), und das UV./VIS.-Spektrum entspricht – bei relativ geringer bathochromer Verschiebung der Banden im *Soret*-Bereich – eindeutig dem Spektraltyp des 13<sup>2</sup>,17<sup>3</sup>-Cyclophäophorbid a-enols (**4**) (vgl. Fig. 2). Eine Probe der Verbindung **5** zeigte ein Fluoreszenzmaximum<sup>22</sup> bei 664 nm, das nur 0,5% der Intensität des Emissionsmaximums von Methylchlorophyllid a (666 nm) aufwies (1,56 · 10<sup>-5</sup> mol/l in entgastem Dioxan bei Raumtemperatur). Diese schwache Emission stammt nicht von der Struktur **5**, denn das Anregungsspektrum war sehr ähnlich jenem des Methylchlorophyllids a. Mögliche Kandidaten für den Ursprung der Emission sind Spuren eines «Allomerisierungsprodukts» oder entsprechend geringe Mengen der Diketonform von **5**.

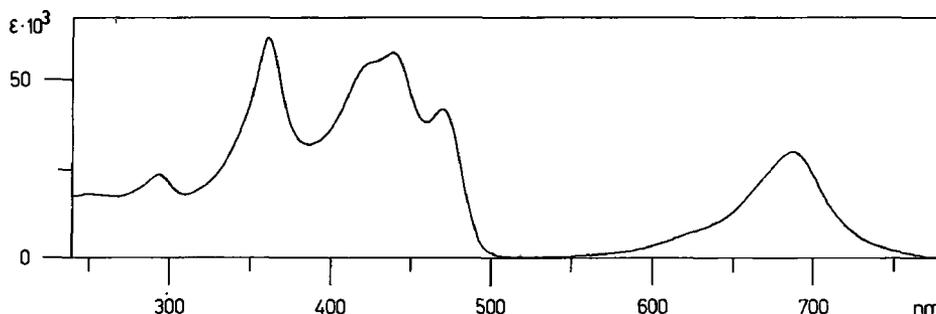
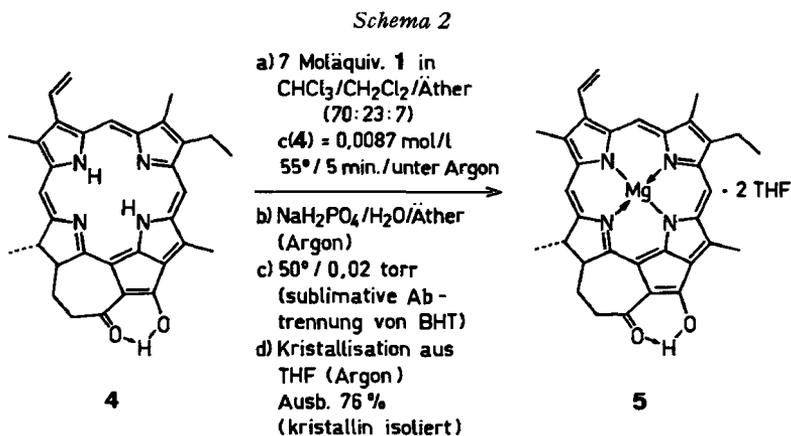


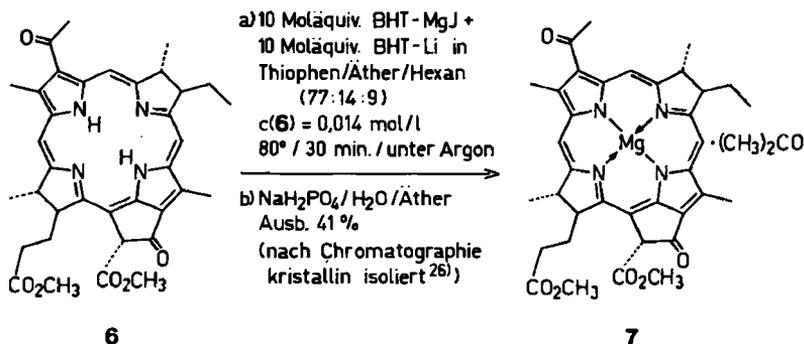
Fig. 2. UV./VIS.-Absorptionsspektrum von **5** in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, c = 1,48 · 10<sup>-5</sup> mol/l, bei Raumtemperatur (vgl. Tabelle)<sup>23</sup>

<sup>22</sup>) Wir danken Herrn M. Hadorn (ETH) für die Aufnahme der Fluoreszenzspektren (Gerät Perkin-Elmer MPF-3).

<sup>23</sup>) Je nach Lösungsmittel ist der unstrukturierte, längstwellige Absorptionsbandenbereich mehr oder weniger asymmetrisch ausgebildet; die Form der Asymmetrie ist temperaturabhängig (Versuche von B. Jaun).

Beim *Methylbakteriophäophorbid a* (**6**) geschieht unter den in der Chlorophyll a-Reihe erfolgreichen Reaktionsbedingungen überhaupt kein Magnesiumeinbau. Versucht man einen solchen durch Erhöhung der Reaktionstemperatur zu erzwingen (z.B. in Thiophen oder 1,2-Dichloräthan 80°, 1 Std.), so beobachtet man nebst beginnendem Einbau konkurrierende Veränderungen des Substrats. Aus eingehenden Versuchen, mit Hilfe von starken Zusatz-Basen den Einbau zu beschleunigen, resultierte das modifizierte Reagenssystem BHT-Magnesiumjodid/BHT-Lithium 1:1<sup>24</sup>). Mit ihm gelang unter den im *Schema 3* angegebenen Reaktionsbedingungen ein UV./VIS.-spektroskopisch vollständiger Einbau<sup>25</sup>) von Magnesium in **6** und die Isolierung von kristallinem Methylbakteriochlorophyllid a (**7**) (vgl. Fig. 3 und Tabelle); dieses war bisher nur durch enzymatische Umesterung von Bakteriochlorophyll a zugänglich gewesen [22]. Die Diskrepanz zwischen der UV./VIS.-spektroskopisch beurteilten Vollständigkeit des Magnesiumeinbaus und der mässigen Ausbeute an kristallisiertem Reaktionsprodukt ist darauf zurückzuführen, dass (nach sublimativer Entfernung des BHT's) eine chromatographische Abtrennung des Produkts von einem DC.-analytisch als Startfleck erkennbaren (unbekannten) Nebenprodukt notwendig war<sup>26</sup>).

Schema 3



<sup>24</sup>) Darstellungsvorschrift für 0,3M Reagenslösung von BHT-MgJ/BHT-Li 1:1 (alle Operationen unter Argon ausgeführt; Apparatur vgl. Fussnote 16): Zu einer nach der Ausfriertechnik entgasten Lösung von 1,252 g (5,68 mmol) BHT<sup>19</sup>) in 4,0 ml Thiophen (über Kalium und anschliessend über LiAlH<sub>4</sub> frisch destilliert) bei 0° unter Rühren mit Spritze innert 1 Min. 1,8 ml (2,57 mmol) 1,43M Lösung von *n*-Butyllithium in Hexan zugeben und nach 5 Min. 2,7 ml (2,59 mmol) 0,96M Lösung von Äthylmagnesiumjodid in Äther einspritzen. Die klare, farblose Reagenslösung ist nach 15minütigem Rühren bei Raumtemperatur gebrauchsfertig und soll sofort verwendet werden.

<sup>25</sup>) Erkennbar am Verschwinden der UV./VIS.-Bande von **6** bei 530 nm und am Entstehen einer solchen bei 580 nm; vgl. Daten von **7** in Tabelle. Erhitzen von **6** mit wasserfreiem Magnesiumperchlorat in Pyridin auf 100° [8] während 3,5 Std. ergab nach Aufarbeitung den unkomplexierten Liganden zurück.

<sup>26</sup>) DC. des Rohprodukts (Cellulose auf Aluminiumfolie, Hexan/Aceton 5:2): Produktfleck nebst Startfleck, kein Eduktfleck; UV./VIS.-Spektrum des Startfleckmaterials praktisch identisch mit dem Spektrum von **7**; Chromatographie an Kieselgel 60 *Merck* (Aceton/Hexan 1:1) mit entgasten Lösungsmitteln in Argonatmosphäre (Drybox<sup>20</sup>)); **7** kristallisiert aus Aceton/Methylenchlorid 9:1 in der Drybox.

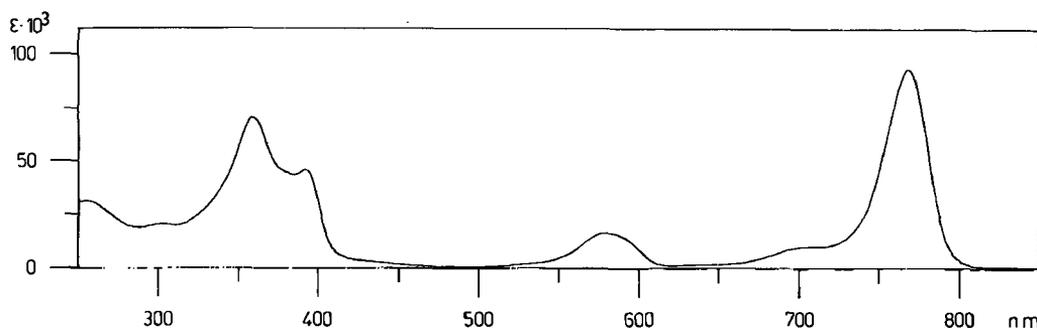


Fig. 3. UV./VIS.-Spektrum von Methylbakteriochlorophyllid a (7) in Äther,  $c = 0,890 \cdot 10^{-5}$  mol/l (vgl. Tabelle)<sup>27)</sup>

Wie ein Vergleich unter standardisierten Bedingungen beim Methylphäophorbid a zeigte, erfolgt der Einbau von Magnesium bei Raumtemperatur mit dem Doppelreagens ungefähr dreimal rascher als mit BHT-Magnesiumjodid allein. Die kinetische Überlegenheit des Doppelreagens ist nicht gross, in der Bakteriophäophorbidreihe jedoch präparativ entscheidend. So gelingt damit auch der Einbau von Magnesium in das  $^{13}\text{C},^{17}\text{C}$ -Cyclobakteriophäophorbid a-enol [1] ( $80^\circ$ ; 30 Min., 15facher Reagensüberschuss); darüber werden wir in einer späteren Arbeit berichten. Nach Ergebnissen orientierender Versuche erfolgt unter ähnlichen Bedingungen (innert 7 Min.) auch vollständiger Einbau in das Methylphäophorbid b; d. h. in eine Verbindung, die bedeutend schwieriger zu komplexieren ist als ihr Analogon in der Chlorophyll a-Reihe<sup>28)</sup>.

Es dürfte sich lohnen, den Gründen der bemerkenswerten Eignung des BHT-Magnesiumjodids als Übertragungsreagens für Magnesium-Ionen nachzugehen; bislang sind wir grösstenteils auf Vermutungen angewiesen. Ein entscheidender Faktor ist zweifellos schon die einfache Tatsache der Löslichkeit dieses speziellen Magnesiumsalzes, indem Übertragungs-Reaktionen in solchen Lösungsmitteln durchführbar sind, welche Magnesium-Ionen nicht oder nur schwach koordinieren. Darüber hinaus besteht die Möglichkeit, dass die lipophile Natur und die Raumbeanspruchung der flankierenden *t*-Butylgruppen sich destabilisierend auf die Koordinationshülle des Magnesium-Ions auswirken, oder gar eine koordinative Absättigung des Magnesiums mit den in der Reagenslösung vorhandenen Liganden verhindern; sterische Beschleunigung wäre in einem solchen Fall sowohl kinetisch wie auch thermodynamisch ein plausibler Reaktions-mitbestimmender Faktor<sup>29)</sup>. Orientierende Versuche mit analogen, jedoch sterisch weniger beladenen Jodmagnesium-phenolaten gaben Hinweise auf eine abnehmende Reaktivität in der Reihenfolge BHT > 2-*t*-Butyl-4,6-dimethylphenol > 2-*t*-Butyl-5-methylphenol > 2,6-Dimethylphenol<sup>30)</sup>. Experimentell er-

<sup>27)</sup> UV./VIS.-Spektrum von 7 in Äther vgl. auch [22].

<sup>28)</sup> Mit BHT-Magnesiumjodid allein unter den im Schema 1 angegebenen Bedingungen erfolgt beim Methylphäophorbid b kein Einbau; bei  $80^\circ$  in Thiophen (10facher Reagensüberschuss) braucht er (UV./VIS.-spektroskopisch beurteilt) über 30 Min.

<sup>29)</sup> Vgl. die Eignung des Kaliumsalzes von 2,6-Di-*t*-butylphenol als sterisch gehinderter Protonenacceptor [23].

<sup>30)</sup> Methylphäophorbid b,  $c = 0,008$  mol/l, in Thiophen, 30 Min.  $80^\circ$ , 10facher Reagensüberschuss: UV./VIS.-spektroskopisch fast vollständiger Einbau mit BHT-Magnesiumjodid, gerade erst beginnender Einbau mit dem Salz von 2,6-Dimethylphenol.

mittelte Einsichten in die Struktur und den Zustand des BHT-Magnesiumjodids in der Reagenslösung liegen bisher nicht vor.

Über Redox-Eigenschaften von  $13^2, 17^3$ -Cyclochlorophyllid-enolen sowie von daraus zugänglichen Peripher-Komplexen beabsichtigen wir in einer kommenden Arbeit zu berichten<sup>81)</sup>.

Tabelle. *Spektroskopische Daten von 5<sup>82)</sup> und 7*

$13^2$ -Desmethoxycarbonyl-17<sup>3</sup>-desoxy-13<sup>2</sup>, 17<sup>3</sup>-cyclochlorophyllid *a*-enol (5):  $C_{33}H_{30}N_4O_2Mg \cdot 2THF$ . Smp.  $> 300^\circ$  (Zers.). – IR. ( $c \sim 1\%$ , THF, entgaste, gesättigte Lösung): 1660s, 1626w, 1618w, 1603w, 1576w, 1555m, 1543w, 1511w  $cm^{-1}$ . – UV./VIS. ( $c = 1,481 \cdot 10^{-5}$  mol/l;  $CH_2Cl_2$ , entgast, vgl. Fig. 2):  $\lambda_{max} = 688$  (4,478), 470 (4,620), 439 (4,760), 362 (4,789), 294 (4,372), 250 (4,259); Schultern bei 630 (3,90), 428 (4,74);  $\lambda_{min} = 530$  (2,301), 460 (4,579), 387 (4,501), 310 (4,253), 268 (4,238) nm (log  $\epsilon$ ); Spektren in Äther, Dioxan, Pyridin und Benzol vgl. [2a]. –  $^1H$ -NMR. ( $c = 0,009$  m, Dioxan- $d_8$ , entgast, Varian XL-100 CAT 25 scans):  $\delta = 1,62$  (t/J = 8/ $H_3C(8^2)$ ); 1,78 (m/THF), 2,17 (d/J = 7,5/ $H_3C(18^1)$ ), 3,16 (s/ $H_3C(7^1)$ ), 3,20 (s/ $H_3C(2^1)$ ), 3,45 (s/ $H_3C(12^1)$ ), 3,50–3,75 (Dioxan + THF), 5,86–6,27 (AB-Teil/ $H_2C(3^2)$ ), 7,78–8,17 (X-Teil/ $HC(3^1)$ ), 8,04 (s/ $HC(20)$ ), 9,00 (s/ $HC(5)$ ), 9,24 (s/ $HC(10)$ ), 13,18 (s/OH) ppm; folgende Signale vermutlich im Untergrund:  $H_2C(17^1)/H_2C(17^2)$  zwischen 1,5–2,0;  $H_2C(8^1)/HC(17)$  und  $HC(18)$  zwischen 2,5–3,5.

*Methylbakteriochlorophyllid a* (7):  $C_{36}H_{38}N_4O_6Mg \cdot ca. 1,5$  Aceton  $\cdot ca. 0,1$   $CH_2Cl_2$ ; Smp.  $> 300^\circ$ ; IR. ( $CHCl_3$  entgast,  $c \sim 3\%$ ): 3003m, 2962m, 2928m, 2876m, 1730s, 1710s, 1667s, 1608s, 1521s  $cm^{-1}$  usw. UV./VIS. (Äther entgast,  $c = 0,890 \cdot 10^{-5}$  mol/l; vgl. Fig. 3):  $\lambda_{max} = 768$  (4,974), 711 (4,007), 580 (4,220), 392 (4,664), 370 (4,852), 303 (4,316), 256 (4,497); Schultern bei 534 (3,44), 377 (4,67);  $\lambda_{min} = 622$  (3,197), 498 (2,750), 385 (4,642), 311 (4,316), 288 (4,278).  $^1H$ -NMR. (Dioxan- $d_8$  entgast,  $c = 0,08$  molar, Varian XL-100):  $\delta = 1,82/1,90$  (2d/J  $\sim 6/ $H_3C(7^1)/H_3C(18^1)$ ), 3,14 (s/ $H_3C(3^2)$ ), 3,50 (s/ $H_3C(2^1)$ ) oder  $H_3C(12^1)$ ); eines der beiden  $CH_3$ -Signale offenbar von breitem Dioxan-Singlett bei 3,6 überdeckt), 3,73/3,81 (2s/2  $H_3C$ ), 6,22 (s/ $HC(13^2)$ ), 8,49/8,65 (2s/ $HC(10)$  und  $HC(20)$ ), 9,17 (s/ $HC(5)$ ), Signalhaufen bei 1,35–1,55 (triplettoid/ $H_2C(8^2)$ ), 2,4–2,8 ( $H_2C(8^1)/H_2C(17^1)/H_2C(17^2)$ ), 4,0–4,7 ( $HC(7, 8, 17, 18)$ ); Kristall-Lösungsmittelsignale 0,22 (s/ca. 0,2 Mol Aceton an Mg koordiniert?), 2,06 (s/ca. 1,2 Mol Aceton), 5,58 (s/ $CH_2Cl_2$ ), Fremdabsorption um 0,9–1,6 (ca. 3H) ppm.$

Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung unterstützt. K. S. dankt für ein European Exchange Postdoctoral Fellowship der Royal Society London, E. Z. für ein Doktoratsstipendium der Studienstiftung des Deutschen Volkes und H.-P. I. für ein Doktoratsstipendium des Stipendienfonds zur Unterstützung von Doktoranden auf dem Gebiet der Chemie, Basel.

#### LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. Falk, G. Hoornaert, H.-P. Isenring & A. Eschenmoser, *Helv.* 58, 2347 (1975).
- [2] a) H.-P. Isenring, «Neue Derivate der Chlorophyllreihe», Diss. ETH Zürich, Prom. Nr. 5369, Juris-Verlag Zürich 1974; b) E. Zass, Diss. ETH (noch nicht erschienen).
- [3] J.-L. Luisier, «Etude des potentiels d'oxydo-réduction de dérivés de la chlorophylle», Diss. ETH Zürich, Prom. Nr. 5423, Juris-Verlag Zürich 1975.
- [4] G. R. Seely, 'The Structure and Chemistry of Functional Groups' in L. P. Vernon & G. R. Seely 'The Chlorophylls', Academic Press N. Y. 1966 S. 67.
- [5] a) H. Fischer & G. Spielberger, *Liebigs Ann. Chem.* 510, 156 (1934); H. Fischer & S. Goebel, *ibid.* 524, 269 (1936); b) H. Fischer & G. Spielberger, *ibid.* 515, 130 (1935); c) H. Fischer, R. Lambrecht & H. Mittenzwei, *Z. physiol. Chem.* 253, 1 (1938).
- [6] a) P. A. Wei, A. H. Corwin & R. Avellano, *J. org. Chemistry* 27, 3344 (1962); b) A. H. Corwin & P. E. Wei, *ibid.* 27, 4285 (1962).
- [7] F. C. Pennington, H. H. Strain, W. A. Svec & J. J. Katz, *J. Amer. chem. Soc.* 86, 1418 (1964).
- [8] S. J. Baum, B. F. Burnham & R. A. Plane, *Proc. Nat. Acad. Science* 52, 1439 (1964).
- [9] J. Fuhrhop «Die Reaktivität des Porphinliganden in seinen Metallkomplexen», Habilitationsschrift TU Braunschweig 1972.

<sup>81)</sup> Arbeiten von J.-L. Luisier, B. Jaun, E. Zass & F. Thönen.

<sup>82)</sup> Über exper. Details und Abbildungen des IR.- und  $^1H$ -NMR.-Spektrums vgl. [2a].

- [10] H. Scheer & J. J. Katz, J. Amer. chem. Soc. 97, 3273 (1975).
- [11] R. Willstätter & L. Forsén, Liebigs Ann. Chem. 396, 180 (1913); K. Noack & W. Kiessling, Z. physiol. Chem. 182, 13 (1929).
- [12] A. D. Adler, F. R. Longo, F. Kampas & J. Kim, J. inorg. nucl. Chemistry 32, 2443 (1970).
- [13] R. Willstätter & A. Stoll, Liebigs Ann. Chem. 378, 18 (1911); 380, 148 (1911); vgl. auch [4] S. 79 und [5c].
- [14] J. W. Buchler, G. Eikermann, L. Puppe, K. Rohbock, H. H. Schneehage & D. Weck, Liebigs Ann. Chem. 745, 135 (1971).
- [15] U. Wannagai & H. Kuckertz, Angew. Chem. 75, 95 (1963); U. Wannagai, H. Antzen, H. Kuckertz & H. J. Wismar, Z. anorg. allg. Chem. 394, 254 (1972).
- [16] J. H. Fuhrhop & D. Mauzerall, J. Amer. chem. Soc. 91, 4174 (1969).
- [17] H. Hepworth & H. W. Clapham, J. chem. Soc. 1921, 1188; H. Gilman & W. B. King, J. Amer. chem. Soc. 47, 1136 (1925); G. E. Coates & J. A. Heslop, J. chem. Soc. A 1968, 631.
- [18] A. S. Holt 'Recently Characterized Chlorophylls' in L. P. Vernon & G. R. Seely, *l.c.* [4], S. 111.
- [19] I. D. Jones, L. S. Butler, E. Gibbs & R. C. White, J. Chromatogr. 70, 87/206 (1972).
- [20] Galvin (!) M. Coppinger, J. Amer. chem. Soc. 79, 501 (1957); P. D. Bartlett & C. Rüchardt, *ibid.* 82, 1756 (1960); P. D. Bartlett & T. Funahashi, *ibid.* 84, 2596 (1962).
- [20a] C. Kratky & J. D. Dunitz, Acta crystallogr. B31, 1586 (1975).
- [21] J. H. Fuhrhop & D. Mauzerall, J. Amer. chem. Soc. 91, 4174 (1969); H. Ogoshi, N. Masai, Z. Yoshida, J. Takemoto & K. Nakamoto, Bull. chem. Soc. Japan 44, 49 (1971).
- [22] A. S. Holt & E. E. Jacobs, Amer. J. Bot. 41, 718 (1954); Plant Physiol. 30, 553 (1955).
- [23] H. C. Brown, H. Nambu & M. M. Rogic, J. Amer. chem. Soc. 91, 6852 (1969); vgl. auch E. J. Corey & R. H. K. Chen, Tetrahedron Letters 1973, 3817.

## 256. A $^{13}\text{C}$ -NMR. Study of *cis-trans* Isomeric Vitamins A, Carotenoids and Related Compounds

by Gerhard Englert

F. Hoffmann-La Roche & Co., Ltd., Department of Physics and Physical Chemistry,  
CH-4002 Basle

(25. VII. 75)

**Summary.** The  $^1\text{H}$ -decoupled  $^{13}\text{C}$ -NMR. spectra of 35 all-*trans*, 17 mono-*cis* vitamin A compounds (acetates, alcohols, aldehydes, acids and esters) and of one 11,13-di-*cis* compound (11,13-di-*cis* retinol) are reported. Included in this investigation are desmethyl-, desmethylethyl, and aryl-vitamin A analogues and others as well as 30 reference compounds of smaller molecular weight. Furthermore, the  $^{13}\text{C}$ -NMR. spectra of 23  $\beta$ -apo- and other carotenoids were studied. A complete assignment of the signals of all 106 compounds to the specific carbon atoms was achieved by extensive application of lanthanide shift reagents, mainly  $\text{Yb}(\text{dpm})_3$ , by CW-offset and selective  $^1\text{H}$ -decoupling experiments, by comparison of the shifts of related compounds, and in three cases by utilization of specifically deuteriated compounds (11,12- $\text{D}_2$ -retinol and retinyl acetate, 15,15'- $\text{D}_2$ - $\beta$ -carotene). The chemical shift differences between the *cis*- and *trans*-vitamin A compounds and the applicability of the shift reagents for the assignment of the  $^{13}\text{C}$ -NMR. spectra are discussed.

**Introduction.** –  $^{13}\text{C}$ -NMR. spectroscopy plays an increasingly important role as a powerful tool for structural elucidation of various classes of compounds, as for example steroids, alkaloids, sugars, and others. Apparently, exceptions to this are vitamin A compounds and carotenoids for which, to the best of our knowledge, only a few publications have appeared most of which only very recently (see [1–5]).