

111. Der Einbau von Magnesium in Liganden der Chlorophyll-Reihe mit (2,6-Di-*t*-butyl-4-methylphenoxy)magnesiumjodid

von Engelbert Zass, Hans Peter Isenring¹), Rolf Etter und Albert Eschenmoser

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidgenössischen Technischen Hochschule,
Universitätstrasse 16, CH-8092 Zürich

(26. II. 80)

Introduction of Magnesium into Ligands of the Chlorophyll Series by (2,6-Di-*t*-butyl-4-methylphenoxy)magnesium Iodide

Summary

Experimental details are given for the new method of introducing magnesium into porphinoide ligands by (2,6-di-*t*-butyl-4-methylphenoxy)magnesium iodide (**1**), previously published in preliminary form [1]. Besides magnesium octaethylporphyrinate (**14**), methyl pyrochlorophyllide a (**10**), methyl chlorophyllide a (**8**), and methyl bacteriochlorophyllide a (**12**), the complexation of pheophytin a (**2**) to chlorophyll a (**3**) and of pheophytin b (**4**) to chlorophyll b (**5**) are described.

In einer vorläufigen Mitteilung [1] haben wir vor vier Jahren erstmals auf (2,6-Di-*t*-butyl-4-methylphenoxy)magnesiumjodid (**1**) als Reagens zum Einbau von Magnesium in porphinoide Liganden aufmerksam gemacht. Zahlreiche seither in der Chlorophyll-Chemie bekannt gewordene Anwendungen [2] [3] bestätigen, dass dieses Reagens das zur Zeit überlegene Mittel zur Lösung des oftmals nicht einfachen präparativen Problems²⁾ darstellt, Magnesium unter möglichst milden Bedingungen und Schonung labiler funktioneller Gruppen in hydroporphinoide Ligandensysteme einzubauen.

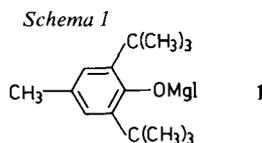
Wir selbst haben seither die Leistungsfähigkeit des Reagens auch noch an zwei klassischen Komplexierungsproblemen der synthetischen Chlorophyll-Chemie überprüft, nämlich der partialsynthetischen Herstellung der Chlorophylle a und b aus den entsprechenden Phäophytinen. Die Umwandlung von Phäophytin a in Chlorophyll a ist die Endstufe der rein chemischen Totalsynthese des grünen Blatt-

¹⁾ Derzeitige Anschrift: Fa. F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Grenzacherstrasse 124, CH-4058 Basel.

²⁾ So waren z.B. Phäophorbide b und Bakteriophäophorbide a bis anhin nicht präparativ befriedigend mit Magnesium komplexierbar; vgl. Fussnoten 4 und 23. Eine bis Anfang 1977 vollständige Literaturzusammenstellung über den Einbau des Magnesiums in Chlorophyll-Derivate findet sich in [4]. Vgl. auch eine seither erschienene Arbeit zur Komplexierung des Phäophorbid-a-methyl-esters mit Magnesiumacetat in siedendem Dimethylsulfoxid (ca. 190°!) [5].

farbstoffs [7]³), und die Komplexierung von Phäophytin b ist die Endstufe der Partialsynthese von Chlorophyll b aus Chlorin-*c*₆-trimethylester [8]. Während die Einführung von Magnesium in Phäophytin b unseres Wissens bisher überhaupt noch nicht durchgeführt worden ist⁴), muss als Realisierung der Endstufe der chemischen Chlorophyll-a-Synthese bislang immer noch das im Jahre 1936 von *Fischer & Goebel* [9b] beschriebene Experiment gelten⁵), in welchem Phäophytin a mit Phytoloxymagnesiumbromid in Pyridin bei 100° umgesetzt worden war. Das dabei partialsynthetisch in unbekannter Ausbeute gewonnene, mit Phytol verunreinigte Chlorophyll a wurde lediglich durch den Phasentest⁶) und das (mit den damaligen Mitteln aufgenommene) VIS.-Spektrum⁷) «identifiziert».

Wir beschreiben hier die Komplexierung von Phäophytin a (**2**) mit Reagens **1** sowie die chromatographische und spektroskopische Charakterisierung des dabei gewonnenen partialsynthetischen Chlorophylls a (**3**), ferner die Komplexierung des Phäophytins b (**4**) zu Chlorophyll b (**5**). Schliesslich enthält der experimentelle Teil auch noch die bereits in unserer vorläufigen Mitteilung [1] erwähnten Komplexierungen von Phäophorbid-a-methylester (**7**), Pyrophäophorbid-a-methylester (**9**), Bakteriophäophorbid-a-methylester (**11**) und Oktaäthylporphyrin (**13**) zu **8**, **10**, **12** bzw. **14**.

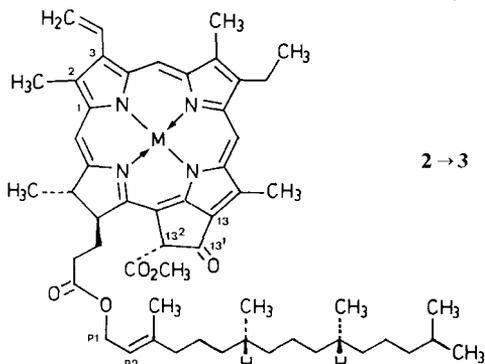


Als Ausgangsmaterial für die Komplexierungsexperimente diente durch Säulenchromatographie an Kieselgel aus einem rohen Gemisch **2/4**⁸) isoliertes und durch einmaliges Umfällen aus heissem Aceton/Methanol unter Argon gereinigtes Phäophytin a (**2**)⁹). Der amorphe, violettblaue Niederschlag enthielt laut Flüssigchromatogramm (HPLC.) **Phäophytin a** ((13²*R*)-**2**) und dessen «unnatürliches» C(13²)-Epimeres Phäophytin a' ((13²*S*)-**2**)¹⁰) im Verhältnis 73,5:26,5 nebst

- ³) Die *enzymatische* Partialsynthese von Chlorophyll a aus Chlorophyllid a und Phytol mittels Chlorophyllase haben *Willstätter & Stoll* durchgeführt [6a].
- ⁴) Hingegen hat *Fischer* die Komplexierung von Äthylphäophorbid b mit Äthoxymagnesiumbromid (Pyridin/100°, Ausbeute an kristallinem Chlorophyllid-b-methylester 0,6%) beschrieben [9a].
- ⁵) Wie bereits *Fischer* erwähnte [10], darf die von *Willstätter & Forsén* [11] beschriebene Einführung von Magnesium in Phäophytin a (vgl. auch [12]) mit Methylmagnesiumjodid nicht als Partialsynthese von Chlorophyll a gelten (*Grignardreagens* + Estergruppen!).
- ⁶) *Qualitative* Farbprobe auf Allomerisierung (= Oxydation an C(13²), vgl. Fussnote 14) mit konz. methanolischer Kaliumhydroxid-Lösung und einer Lösung des Chlorophylls in Äther, s. [13], S. 75, 86-90.
- ⁷) Bei den in [9b], S. 279, angegebenen vier Absorptionsbanden muss es sich um das Spektrum des Chlorophylls a, und nicht um dasjenige des daraus zurückgewonnenen Phäophytins a handeln, obwohl dies aus dem Zusammenhang nicht eindeutig hervorgeht.
- ⁸) Dekomplexierter Spinat-Rohextrakt, der Phäophytin a (**2**), Phäophytin b (**4**), deren Zersetzungsprodukte und geringe Mengen Carotinoide enthielt (Geschenk von Prof. *H. H. Inhoffen*).
- ⁹) Für Einzelheiten vgl. [14].
- ¹⁰) Die von *Strain & Manning* [15] erstmals isolierten Chlorophyll- bzw. Phäophytin-Isomeren a' und b' wurden von *Katz* [16] aufgrund von ¹H-NMR.-Spektren als C(13²)-Epimere mit (*S*)- statt der «natürlichen» [17] (*R*)-Konfiguration erkannt. ORD.- und CD.-Spektren bestätigten später diese Zuordnung [18]; zur Widerlegung einer abweichenden Annahme von *Hynninen* [19] vgl. [20] [21].

geringfügigen Verunreinigungen (6 schwache Signale) und zeigte im Dünnschichtchromatogramm (DC.) neben dem Produktfleck noch eine schwache, nur durch ihre Fluoreszenz im 366-nm-Licht erkennbare Verunreinigung mit kleinerem Rf-Wert. Das Material gab eine korrekte C,H,N-Analyse und mit der Literatur übereinstimmende $^1\text{H-NMR-}$ [22a] und IR.-Spektren [22b]; sein $^{13}\text{C-NMR-}$ Spektrum war unter Zuhilfenahme der Spektren von Phäophorbid-a-methylester (7) [23a] [23c] und Essigsäurephytylester [23b] vollständig interpretierbar ($^{13}\text{C-NMR-}$ Daten von **2** selbst sind bisher nicht veröffentlicht). Das UV./VIS.-Spektrum wies bei Übereinstimmung der Bandenlagen um 16 bzw. 8% tiefere Extinktionen im Vergleich zur Literatur [24] [25a] auf; in Dioxan betrug die Abweichungen der ϵ -Werte relativ zu Phäophorbid-a-methylester (7; kristalline, charakterisierte Probe [14]) ca. 4%¹¹⁾.

Schema 2



- a) **2** zu **1** im Molverhältnis 1,0:18,6,
 $c(\mathbf{2}) = 0,03 \text{ M}$, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Äther}$ 72:28, 12°,
 5 Min., entgast unter Argon
 b) Aufarbeitung mit $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{H}_2\text{O}/\text{Äther}$,
 0°, unter Argon
 c) Abtrennung des 2,6-Di-*t*-butyl-4-methyl-
 phenols durch Sublimation bei 50–60°/
 0,01 Torr
 d) 2mal Umfällen aus Dioxan/ H_2O
 (Handschuhkasten): Ausbeute 73%¹²⁾

(*R*)-Konfiguration an C(13²)

2 M = 2 H

3 M = Mg (· 0,75 Dioxan · 0,25 H_2O)

Wir haben eine Reihe von orientierenden Versuchen zur Auffindung optimaler Reaktions-, Aufarbeitungs- und Isolierungsbedingungen für die Komplexbildung **2** → **3** durchgeführt^{9,13)}. Dabei fanden wir, dass mit einem ca. 20fachen Überschuss an Reagens **1** Phäophytin a (**2**) unter sehr milden Bedingungen (Schema 2) schon nach 5 Minuten zu über 99% (HPLC.) komplexiert wird. Zur Verringerung der Bildung von Nebenprodukten¹⁴⁾ mussten alle Lösungen einschliesslich des für die Herstellung von **1** verwendeten Äthylmagnesiumjodids strikt durch Ausfrieren entgast werden (vgl. exper. Teil); nur durch derart rigorosen Sauerstoffausschluss gelang es, ein Chlorophyll-a-Rohprodukt mit laut HPLC. weniger als 5% Verunreinigungen zu erhalten.

Das UV./VIS.-Spektrum der Reaktionslösung **2/1** war mit seiner aufgespaltenen *Soret*-Bande (s. Figuren in [14], S. 49) typisch für an der β -Ketoester-Gruppierung enolisierte Chlorophyll-Derivate [20] [29] und zeigte hohe Ähnlichkeit mit den peripheren Phäophorbid-Komplexen von Katz & Scheer [30] sowie sehr gute Übereinstimmung mit dem Spektrum eines peripheren Magnesium-Komplexes

¹¹⁾ Die UV./VIS.-Spektren von Chlorophyll-Derivaten sind im Bereich über 250 nm von der Alkoholkomponente unabhängig, s. [25b] [25c] [26] [27].

¹²⁾ Ohne Berücksichtigung des aus den Mutterlaugen noch isolierbaren Materials, vgl. exper. Teil.

¹³⁾ Für Einzelheiten vgl. [20].

¹⁴⁾ Vermutlich Allomere (=typische, in dieser Arbeit nicht charakterisierte Oxydationsprodukte der Chlorophylle mit einer zusätzlichen Hydroxy- oder Alkoxygruppe an C(13²) [28]).

des 13^2 -Desmethoxycarbonyl- 17^3 -desoxy- $13^2, 17^3$ -cyclochlorophyllid-a-enols [31]. Der gleiche Spektrentyp trat auch bei der Umsetzung von Chlorophyll a (3) mit 1 auf (peripherer Mg-Komplex von 2⁷, vgl. [30]⁹). Demnach liegen in der Reaktionslösung sehr wahrscheinlich am β -Ketoester-System enolisierte und dort mit Magnesium komplexierte Derivate von 2 und/oder 3 vor.

Da die Aufarbeitung dieser Reaktionslösung (s. unten) ein Chlorophyll-a-Rohprodukt mit den Epimeren (13^2R - und (13^2S)- 3^{10}) im Verhältnis von 98,4:1,6 lieferte¹⁵), das Ausgangsmaterial 2 aber aus einem entsprechenden (R/S)-Gemisch 73,5:26,5 bestanden hatte¹⁶), muss bei der Aufarbeitung eine stereoselektive Protonierung an C(13^2) stattgefunden haben.

Im Anschluss an die übliche Aufarbeitung des Komplextierungsgemisches mit Äther/Phosphatpuffer (vgl. z.B. [9] [11]) wurde das vom Reagens stammende 2,6-Di-*t*-butyl-4-methylphenol im Hochvakuum bei ca. 60° aus dem Rohprodukt absublimiert, was sich als die beste Methode zu seiner Entfernung erwies. Zweimaliges Umfällen des Roh-Chlorophylls aus Dioxan/Wasser [33] in der N₂-Atmosphäre eines Handschuhkastens gab nach Trocknen im Vakuum **Chlorophyll a (3)** als feines grünes Pulver in 73% Ausbeute¹²). Dieses Material bestand laut HPLC. (s. Fig. 1b, exper. Teil) zu 92% aus (13^2R)-3 und zu 7% aus dem Epimeren (13^2S)-3 (ca. 99% konstitutionell einheitlich) und enthielt nach Elementaranalyse und ¹H-NMR.-Spektrum noch ca. 0,75 mol Dioxan und ca. 0,25 mol Wasser (über die Koordination von Wasser an Magnesium s. [34]). Das UV./VIS.-Spektrum (s. Fig. 3, exper. Teil) zeigt die typische Bandenverschiebung relativ zu Phäophytin a (2) (s. Fig. 2, exper. Teil) und mit den Literaturwerten [24] [25] [35] übereinstimmende Bandenlagen und Extinktionskoeffizienten ϵ ¹⁷); die ϵ -Werte liegen ca. 4% tiefer als die von kristallinem Chlorophyllid-a-methylester (8)¹¹). Die IR.- [22b] [22c] [37], ¹H-NMR.- [22a] [22b] [36a] und ¹³C-NMR.-Spektren [23a] [23b] unseres umgefällten Materials stimmen mit den veröffentlichten Daten für Chlorophyll a (3), das aus natürlichen Quellen isoliert worden war, überein¹⁸).

Im Hinblick auf die Durchführung einer Röntgenstrukturanalyse haben wir versucht, das partialsynthetische Chlorophyll a (3) in der für eine solche Analyse geeigneten kristallinen Form zu erhalten [37a] [38]. Diese Bemühungen waren wenig erfolgreich; über Einzelheiten orientiert der experimentelle Teil.

¹⁵) Durch Epimerisierung bestimmtes Gleichgewichtsverhältnis von (R/S)-3 bei RT.: in Aceton oder Äther 79:21, in Methanol 83:17, in Dioxan 88:12 (HPLC.); relative Geschwindigkeit der Epimerisierung: Aceton \ll Äther $<$ Dioxan \ll Methanol [14].

¹⁶) Das Verhältnis (R/S)-2 betrug vor Umfällung 81:19; das durch Epimerisierungsversuche ermittelte Gleichgewichtsverhältnis bei RT. war 84:16 in Aceton bzw. 80:20 in Äther (HPLC.) [14]. Im Gegensatz zu 2 reicherte sich bei der Umfällung von Phäophytin b (4) [4] und Bakteriophäophytin a [32] aus Methanol/Aceton nicht das (S)-Epimer, sondern das (R)-Epimer im Niederschlag an.

¹⁷) *Ausnahmen*: Die in Äther bestimmten ϵ -Werte von Sanders *et al.* [36a] (zusätzlich noch Abweichungen der Bandenlagen um bis zu +7 nm) liegen bis zu 20%, die von Brown [36b] ca. 15–20% höher. Höhe und Breite der Absorptionsbanden (und damit die ϵ -Werte) sind von der Konzentration und dem Wassergehalt (vgl. z.B. Fussnote 37) der Messlösung abhängig; die entsprechenden Angaben fehlen aber in der Literatur [36].

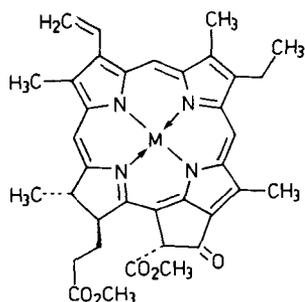
¹⁸) Partialsynthetisches Chlorophyll a (3) zeigte im HPLC. einen Pik des (R)-Epimeren mit identischer Retentionszeit wie der Hauptpik des aus Pflanzen isolierten «Chlorophyll a, *purum* kristallisiert» (Fluka AG, Buchs SG; vgl. exper. Teil und dort auch Fig. 1c). Über Unterschiede zwischen dem CD.-Spektrum unseres (kristallisierten) Materials und den bisher veröffentlichten CD.-Kurven, vgl. exper. Teil.

Tabelle 1. Komplexierung der porphinoïden Liganden 7, 9, 11 und 13 mit Reagens 1

Produkt	Ausbeute ^{a)}	
Chlorophyllid-a-methylester (8) ^{b)}	73%	(90%)
Pyrochlorophyllid-a-methylester (10) ^{b)}	80%	(96%)
Bakteriochlorophyllid-a-methylester (12) ^{c)}	41%	(64%)
Magnesium-oktaäthylporphyrinat (14)	80%	(94%)

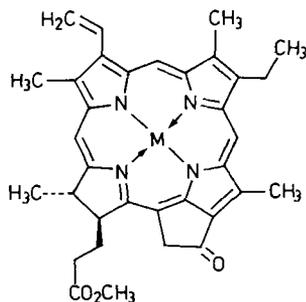
^{a)} Kristallisiertes Material; Ausbeuten unter Berücksichtigung des durch Dekomplexierung der Mutterlauge zurückgewonnenen Ausgangsmaterials in Klammern.
^{b)} Für Röntgenstrukturanalysen dieser partialsynthetischen Chlorophyllide vgl. [40].
^{c)} Komplexierung mit 1/Lithium-2,6-di-*t*-butyl-4-methylphenoxid 1:1, vgl. Text.

gab wachsartiges, dem Aspekt und dem *Debye-Scherrer*-Pulverdiagramm zufolge zumindest teilweise kristallines Chlorophyll b (**5**) in ca. 95% Ausbeute. Dieses Material war laut HPLC. ein (74:26)-Gemisch der (*R/S*)-Epimeren^{10,19)} (im Chlorophyll-*b*-Rohprodukt war das (*R/S*)-Verhältnis grösser als 93:7). Die IR.-Spektren [22b] [22c] [37b] sowie die Bandenlagen im UV./VIS.-Spektrum [25a] [25b] [25f] [27] [36] [39] des kristallisierten Chlorophylls b stimmen mit den Literaturdaten von **5** pflanzlicher Herkunft überein; ein Vergleich der Extinktionskoeffizienten ϵ ist durch den nicht genau bestimmten Lösungsmittelgehalt der Proben und vor allem auch durch die grossen Abweichungen der verschiedenen Literaturwerte voneinander erschwert (s. Tab. 2, exper. Teil). Das ¹H-NMR.-Spektrum unseres Chlorophylls b entspricht der Konstitution **5**²²⁾.



7 M = 2H

8 M = Mg



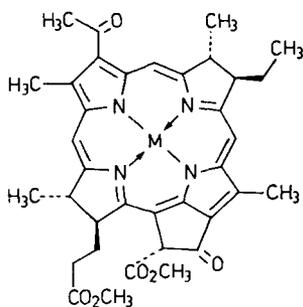
9 M = 2H

10 M = Mg

Die bereits in der vorläufigen Mitteilung [1] erwähnten Komplexierungsbeispiele (s. Tab. 1) haben wir seither nicht weiter untersucht; sie sind unverändert im experimentellen Teil beschrieben. Inzwischen ist von *Wastielewski* für die besonders schwierige²³⁾ Komplexierung von Liganden der Bakteriophäophorbid-

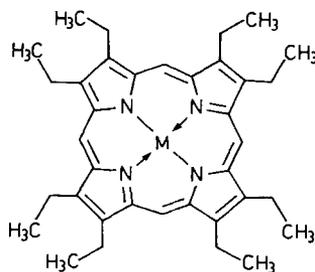
²²⁾ Die Auflösung des Spektrums in CDCl₃ war infolge Aggregation [34] von **5** (trotz des Wassergehalts der Probe) nicht befriedigend (vgl. Fig. in [4], S. 72). Dies erschwerte die detaillierte Interpretation und einen direkten Vergleich mit den Literaturdaten [22a] [22b].

²³⁾ Relative Geschwindigkeit des Magnesiumeinbaus mit dem Reagens 1 in die Methylester von Pyrophäophorbiden: a ≫ 3-Desvinyl-3-acetyl-a > d > b ≫ Bakterio a [4]. Vgl. dazu auch einen erfolglosen Versuch von *Fischer et al.* zur Komplexierung von Bakteriophäophorbid-a-äthylester mit Äthoxymagnesiumjodid (s. [41a] und [4], S. 34-36).



11 M = 2H

12 M = Mg



13 M = 2H

14 M = Mg

Reihe in Abänderung unserer Methode eine stärkere Zusatzbase (Lithium-2,2,6,6-tetramethylpiperidid) verwendet worden [3]. Der von ihm beschriebene Magnesiumeinbau in Bakteriophäophytin a verlief zwar unvollständig (Ausbeute 52%), aber dafür schon bei Raumtemperatur. Mit der Zusatzbase Lithium-2,6-di-*t*-butyl-4-methylphenoxid benötigten wir damals zur (VIS.-spektroskopisch) vollständigen Komplexierung des Bakteriophäophorbid-a-methylesters (**11**) eine Reaktionstemperatur von 80°²⁴). Für die Beschleunigung der Komplexierung durch die Zusatzbase sind nach orientierenden Versuchen [4] vermutlich sowohl die Anwesenheit einer Base (zur Deprotonierung des Liganden) als auch von Lithium-ionen wirksam. Zum Mechanismus des Magnesiumeinbaus mit dem Reagens **1** haben wir keine weiteren Befunde, die über die in [1] mitgeteilten Ergebnisse hinausgehen.

Herrn Prof. Dr. H. H. Inhoffen (TU Braunschweig; s. Fussnote 8), Prof. Dr. H. Brockmann, jr. (ehemals TU Braunschweig; s. Fussnote 56) und Prof. Dr. G. Drews (Universität Freiburg/Breisgau; s. Fussnote 56) danken wir für die uns in grosszügigster Weise zur Verfügung gestellten wertvollen Ausgangsmaterialien. Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung, Bern, sowie durch die Fa. Ciba-Geigy AG, Basel, unterstützt. H.P.I. und R.E. danken dem Stipendienfonds zur Unterstützung von Doktoranden auf dem Gebiete der Chemie, Basel, und E.Z. der Studienstiftung des deutschen Volkes, Bonn, für Promotionsstipendien.

Experimenteller Teil²⁵)

Allgemeines. Wegen der grossen Empfindlichkeit der Magnesiumkomplexe gegenüber Sauerstoff wurden die meisten Operationen mit Lösungen dieser Verbindungen (z.B. Füllen der Messzellen für die Spektroskopie) in der Argon- bzw. Stickstoffatmosphäre eines Handschuhkastens (Dri-Lab

²⁴) Die Ausbeute an DC.-reinem Bakteriophäophorbid-a-methylester (**12**) betrug 70%, nach zweimaliger Kristallisation (zur Charakterisierung): 41%. Das restliche Chlorophyllid **12** war nicht zerstört (wie Wasielewski in seiner Mitteilung [3] unterstellt), sondern blieb in den Mutterlaugen.

²⁵) *Abkürzungen:* V. und HV. Wasserstrahlpumpen- bzw. Hochvakuum; RV. Rotationsverdampfer; RT. Raumtemperatur; DC. Dünnschichtchromatographie; HPLC. Hochdruck-Flüssigchromatographie; OD. (410/429 nm) Quotient der optischen Dichten bei den angegebenen Wellenlängen; ϵ molarer Extinktionskoeffizient; $[\Delta\epsilon]$ molarer dekadischer Circular dichroismus. DME 1,2-Dimethoxyäthan, HMPA Hexamethylphosphorsäure-triamid, MC Methylenchlorid.

DL 001-S-P/Dri-Train HE-493, *Vacuum Atmosphere Comp.*, Los Angeles) mit einem Sauerstoffgehalt von (vermutlich) ≤ 5 ppm durchgeführt. Vor der Aufarbeitung von empfindlichen Produkten wurden die wässrigen und organischen Phasen im Scheidetrichter mittels Durchleiten von Argon oder Stickstoff (mind. 15 Min.) entgast. *Entgasen durch Ausfrieren*: Einfrieren des Lösungsmittels mit flüssigem Stickstoff, Evakuieren auf 0,01 Torr, Auftauen der abgeschlossenen Probe und dieses Verfahren 3–5mal wiederholen, bis beim Evakuieren kein Druckanstieg mehr feststellbar ist (Details und Modifikationen dieser Technik in [14] [31]). Alle Ansätze zur Komplexbildung, Aufarbeitung und Kristallisation der Metallkomplexe wurden bei gedämpftem Licht ausgeführt. – Qualität der verwendeten Lösungsmittel und Reagenzien: Aceton von *Merck, p.a.*; Äther von *Fluka, puriss. p.a.*, über LiAlH_4 destilliert; Benzol von *Merck, p.a.*, über NaH destilliert; CHCl_3 (CDCl_3) von *Merck, p.a.*, frisch über Alox filtriert; Dioxan von *Fluka, p.a.*, 2mal über Kalium destilliert; Hexan, destilliert, über Alox filtriert; Methanol von *Fluka, p.a.*; MC, destilliert, vor Gebrauch über Alox filtriert; THF von *Fluka, p.a.*, 3mal über Kalium destilliert; Thiophen von *Fluka, purum*, über Kalium fraktioniert (Sdp. 84–84,5°), vor Gebrauch über LiAlH_4 destilliert; CCl_4 , destilliert; «Phosphatpuffer»: gesättigte wässrige Lösung von NaH_2PO_4 (pH ca. 4); Alox: Aluminiumoxid basisch *Woelm B-Super I*, Typ W 200; Na_2SO_4 von *Merck, p.a.* wasserfrei. – *Chromatographie*: DC.-Alufolien *Cellulose Merck*, Schichtdicke 0,1 mm; DC.-Fertigplatten Kieselgel 60 F_{254} *Merck*, Schichtdicke 0,25 mm; für Säulenchromatographie Kieselgel 60 *Merck*, Korngrösse 0,063–0,200 mm. HPLC.-Trennsysteme (Säulen 7×240 mm): System I stationäre Phase *Partisil 5 Whatman*, mobile Phase Pentan/MC/DME/HMPA 100:20:2,25:0,1, Flussrate 80 ml/Std., Detektor $\lambda = 280$ nm; System II Pentan/MC/DME/HMPA/Wasser 100:20:2:0,1:0,025, Flussrate jeweils angegeben, Detektor $\lambda = 280$ nm; System III Pentan/MC/DME/HMPA 100:20:4:0,3, ca. 65 ml/Std., Detektorwellenlänge jeweils angegeben; Pentan, 1,2-Dimethoxyäthan (DME; *Fluka, purum*) und Hexamethylphosphorsäure-triamid (HMPA; *Fluka, pract.*) wurden über NaH destilliert. Für eine Beschreibung der Trennsäulen-Herstellung und der HPLC.-Apparatur s. [26]. Angaben: Retentionszeit t in Min., gemessen vom Injektionszeitpunkt der Probe (rel. Pkflächen = $\text{Pikhöhe} \times \text{Halbwertsbreite}$; zur Bestimmung der mol-% vgl. [14], S. 84–85). – Magnesiumbestimmung auf Atomabsorptionsspektrophotometer *Perkin-Elmer PE 303* (Resonanzlinie des Mg 2852 Å, Flamme Luft/Acetylen-Gemisch, Proben gelöst und eingespritzt in Dimethylformamid; Eichsubstanz $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$) durch Herrn PD Dr. *B. Magyar*, Lab. für anorg. Chemie ETH. – Smp. in offenen Röhrchen bestimmt, nicht korrigiert. UV./VIS.: Konzentration c jeweils für den analytisch oder spektroskopisch bestimmten Lösungsmittelgehalt korrigiert; Schichtdicke $d = 1$ cm, Angaben von λ_{max} in nm ($\log \epsilon$), $\text{min.} = \lambda_{\text{min.}}$. IR.: in CHCl_3 , Konzentration in Gew.-%; Schichtdicke der Lösung $d = 0,1$ mm, wenn nichts anderes angegeben; Banden in cm^{-1} , relative Intensitäten: s stark, m mittel, w schwach. ^1H - und ^{13}C -NMR.: 100- bzw. 25,16-MHz-Spektren in CDCl_3 , Angaben in ppm bez. auf TMS (= 0 ppm) als int. Standard, wenn jeweils nichts anderes angegeben ist. s (d , t , q , m) = Singulett usw.; Kopplungskonstanten J in Hz. Die Zuordnung der Signale in den ^1H -NMR.-Spektren erfolgte in Analogie zu Literatur [22a] [22b]; Numerierung der C-Atome gemäss IUPAC-Nomenklaturvorschlag [42] (vgl. [21], Fussnote 6). Den Nummern vorangestellte P bedeuten, dass sich die Angaben auf den Phyltolteil beziehen.

Herstellung der Reagenslösungen (vgl. Schema 1). 2,6-Di-*t*-butyl-4-methylphenoxy-magnesiumjodid

(1). a) 0,2M Reagenslösung [20]. Zu einer Lösung von 780 mg (3,55 mmol) frisch bei 60° im HV. sublimiertem 2,6-Di-*t*-butyl-4-methylphenol (*Fluka, purum*) in 13 ml MC (über CaH_2 destilliert) wurden unter magnetischer Rührung mittels einer Spritze 4,0 ml (3,48 mmol) frisch hergestellte 0,87M Lösung von Äthylmagnesiumjodid in Äther in ca. 15 Sek. getropft (heftige Reaktion)²⁶. Die klare, farblose Lösung wurde vor Licht geschützt und war nach ca. 10 Min. gebrauchsfertig; sie sollte innerhalb 30 Min. verwendet werden, da bei längerem Stehenlassen auch unter Argon langsame Zersetzung eintritt (Lösung erst gelb, dann über Nacht schwarz).

b) Ungefähr 0,8M entgaste Reagenslösung [14] (zur Komplexbildung von Phäophytin a). Wie oben durch langsame Zugabe (ca. 2 Min., heftige Reaktion, Kühlung im Wasserbad) von 3,0 ml 2M Lösung von Äthylmagnesiumjodid in durch Ausfrieren entgastem Äther zu 1,5023 g 2,6-Di-*t*-butyl-4-methylphenol in 4,0 ml entgastem MC hergestellt und nach 20 Min. verwendet. Diese (entgaste) Reagenslösung war deutlich länger haltbar.

²⁶) Apparatur: Kolben mit Zweihalsaufsatz («Y»), Serumkappe, Hahn mit Ballon, der Argon enthält, Magnetrührer.

c) *Reagenslösung mit Zusatzbase Lithium-2,6-di-*t*-butyl-4-methylphenoxid (Reagens/Zusatzbase 1:1, je 0,3M) [4]. Zu einer durch Ausfrieren entgasten Lösung²⁶) von 1,252 g (5,69 mmol) frisch im HV. bei 60° sublimiertem 2,6-Di-*t*-butyl-4-methylphenol (Fluka, purum) in 4,0 ml Thiophen wurden unter Rühren unter Argon mit einer Spritze bei 0° innerhalb von 1 Min. 1,8 ml (2,57 mmol) 1,43M Lösung von Butyllithium in Hexan (Fluka, pract.) zugegeben. Dann wurden nach 5 Min. bei RT. 2,7 ml (2,59 mmol) frisch hergestellte 0,96M Lösung von Äthylmagnesiumjodid in Äther zugespritzt. Die klare, farblose Lösung war nach 15 Min. Rühren bei RT. gebrauchsfertig und wurde sofort verwendet.*

Zu Schema 2. Isolierung von Phäophytin a (2). Eine Lösung von 50 g Pflanzenextrakt⁸) in ca. 200 ml MC wurde auf eine mit 2,5 kg Kieselgel in CCl₄ gefüllte Säule (10×80 cm) aufgetragen und im Dunkeln mit CCl₄/Aceton 95:5 eluiert (Tropfgeschwindigkeit ca. 200 ml/Std.). Mittels DC. und UV/VIS. wurden folgende Fraktionen identifiziert: Carotinoide (fast mit der Front laufend), Phäophytin a (2; 20,1 g), verunreinigtes 2 (4,3 g; dieses Material wurde zum Phäophorbid-a-methylester (7) umgeestert [14] [20]), verunreinigtes Phäophytin b (4; 9,1 g, s. unten)²⁷). - Unter Argon wurden 1,876 g Phäophytin a (2) in 30 ml Aceton²⁸) warm gelöst und mit 100 ml siedend heissem Methanol²⁸) versetzt. Langsam am Zuerst im Wasserbad) wurde auf 4° abkühlen gelassen und der voluminöse Niederschlag unter Stickstoff abfiltriert. Zweimalige Wiederholung der Umfällung gab nach 48 Std. Trocknen i.HV. bei RT. 1,142 g amorphes Material²⁹): im DC. (Kieselgel, MC/Aceton 95:5) Rf 0,35; sehr schwache Verunreinigung mit Rf 0,27 (nur aufgrund der tiefroten Fluoreszenz im 366-nm-Licht erkennbar). HPLC. (System 1): Phäophytin a ((13²R)-2) t=12,3 (100), Phäophytin a' ((13²S)-2)¹⁰) t=10,7 (39,6)¹⁶), Verunreinigungen bei t=4,4 (0,5), 4,6 (0,5), 8,8 (1,0), 10,1 (0,7), 11,6 (1,9), 15,2 (1,2¹⁴). - UV/VIS. (Äther³⁰), c=8,69·10⁻⁶M; s. Fig. 2): 667,5 (4,722), 609,5 (3,892), 559,5 (3,462), 533 (4,004), 504,5 (4,068), 470 (3,613), 408,5 (5,027), 320 (4,283), 273 (4,025); Schultern bei 398 (4,97), 377 (4,79); min. 629 (3,61), 580 (3,20), 548 (3,34), 522 (3,65), 481 (3,58), 452 (3,49), 328 (4,26), 291 (3,98), 264 (4,00). UV/VIS. (Dioxan³⁰), c=7,44·10⁻⁶M): 669 (4,718), 611 (3,908), 559 (3,531), 537 (3,996), 506 (4,072), 471,5 (3,634), 412 (5,042), 323,5 (4,314), 274 (4,201); Schultern bei 400 (4,96), 380 (4,78); min. 631 (3,64), 581 (3,23), 551 (3,45), 524 (3,67), 483 (3,62), 455 (3,52), 330 (4,29), 295 (4,09), 260 (4,18). - IR. (c=5%; abgebildet in [14], S. 97): 3390w, 3030w, 3005w, 2960s, 2930s, 2870m, 1735s, 1700s, 1620m, 1583w, 1555m, 1540m, 1500m, 1465m, 1452m, 1437m, 1410w, 1400w, 1380m, 1367m, 1348m, 1295m, 1165m, 1122m, 1110w, 1091w, 1058w, 1033m, 985m, 970m, 925w, 910w, 897w, 853w, 841w, 820w. - ¹H-NMR. (ca. 0,09M; abgebildet in [14], S. 98)^{30,31}): -1,7 und 0,44 (2 br. s/HN); 0,7-0,9 (Signalhaufen mit d bei 0,83 (J=6)/H₃C(P7¹), H₃C(P11¹), H₃C(P15¹) und H₃C(P16)); 0,9-1,5 (Signalhaufen/19 H/HC(P15), HC(P11), HC(P7), H₂C(P14), H₂C(P13), H₂C(P12), H₂C(P10), H₂C(P9), H₂C(P8), H₂C(P6) und H₂C(P5)); 1,57 (s/H₃C(P3¹)), überlagert von 1,58 (t/J=7/H₃C(8²)); 1,81 (d/J=7/H₃C(18¹)), im Untergrund darunter H₂C(P4); 1,7-2,8 (Signalhaufen/H₂C(17¹), H₂C(17²)); 3,00 und 3,02 (2 s/H₃C(7¹)); 3,29 (s/H₃C(2¹)); 3,46 (qa/J=7/H₂C(8¹)); 3,57 und 3,61 (2 s/H₃C(12¹)); 3,82 und 3,87 (2 s/H₃COOC(13³)); 4,1-4,6 (2 Signalhaufen/HC(17), HC(18)), darunter 4,56 (d/J=8/H₂C(P1)); 5,0-5,3 (Signalhaufen/HC(P2)); 6,05, 6,14 und 7,81 (ABX-System³²)/J(AB)=1, J(AX)=12, J(BX)=18/2 HC(3²), HC(3¹)); 6,14 und 6,25 (2 s/HC(13²)); 7,20 (s/CHCl₃); 8,44 und 8,50 (2 s/HC(20)); 9,10 und 9,14 (2 s/HC(5)); 9,28 und 9,32 (2 s/HC(10)); Verhältnis von (R/S)-2 laut Integration und HPLC. 76,5:33,5. - ¹³C-NMR. (ca. 0,11M, CDCl₃ als interner Standard): 10,8 (qa/C(7¹)); 11,9 (2 qa/C(2¹), C(12¹)); 16,2 (qa/C(P3¹)); 17,2 (qa/C(8²)); 19,1 (t/C(8¹)); 19,6 (2 qa/C(P7¹), C(P11¹)); 22,6 (qa/C(18¹)); 23,0 (qa/C(P15¹), C(P16)); 24,3 (t/C(P9)); 24,7 (t/C(P13)); 24,9 (t/C(P5)); 27,8 (d²/C(P15)); 29,8 (t/C(17²)); 31,2 (t/C(17¹)); 32,5 (d/C(P7)); 32,7 (d/C(P11)); 36,5 (t/C(P6)); 37,2 (3 t/C(P10), C(P8), C(P12)); 39,2 (t/C(P14)); 39,7 (t/C(P4)); 50,0 (d/C(18)); 51,1 (d/C(17)); 52,7 (qa/CH₃O-C(13³)); 61,4

²⁷) Diese einfache direkte Trennung der Phäophytine a und b durch Chromatographie auf Kieselgel wurde erstmals von *Biere* [52] beschrieben; für weitere Einzelheiten s. auch [14] [20].

²⁸) Mehrmals i.V. evakuiert und mit Argon begast.

²⁹) Für eine ausführliche Beschreibung der Reinigung von Phäophytin a (2) vgl. [14].

³⁰) Messlösung durch Ausfrieren entgast und unter Argon.

³¹) Signale des «unnatürlichen» (13²S)-Epimers kursiv gesetzt.

³²) Bei ABX-Systemen sind die scheinbaren, aus dem Spektrum direkt abgelesenen Kopplungskonstanten angegeben.

(*t*/C(P1)); 64,6 und 65,7 (2 *d*/C(13²))³¹); 75,6, 76,9 und 78,2 (CDCl₃); 92,9 (*d*/C(20)); 97,2 (*d*/C(5)); 104,1 (*d*/C(10)); 105,1 (*s*/C(15)); 117,7 (*d*/C(P2)); 122,4 (*t*/C(3²)); 128,8 (*d* und *s*/C(3¹), C(12)); 131,6 (*s*/C(2)); 135,9 (*s*/C(7), C(4)); 136,2 (*s*/C(3)); 137,8 (*s*/C(11)); 141,8 (*s*/C(1)); 142,7 (*s*/C(P3)); 144,8 (*s*/C(8)); 149,5 (*s*/C(14)); 150,7 (*s*/C(9)); 155,4 (*s*/C(6)); 161,1 (*s*/C(13)); 169,5 (*s*/C(13³)); 172,0 (*s*/C(19)); 172,8 (*s*/C(17³), C(16)); 189,5 (*s*/C(13¹)).

C₅₅H₇₄N₄O₅ Ber. C 75,82 H 8,56 N 6,43% Gef. C 75,95 H 8,64 N 6,35%

Herstellung von Chlorophyll a (3) [14]. Unter Argon wurden 155 mg (0,18 mmol) Phäophytin a (2) oben beschriebener Qualität (über Nacht im HV./RT. in der Apparatur²⁶) getrocknet) in 2,1 ml durch Ausfrieren entgastem MC gelöst. Die Lösung wurde im Wasserbad auf 11° gekühlt, und unter intensivem Rühren wurden schnell 3,9 ml (3,35 mmol) *ca.* 0,8M Lösung von **1** (Vorschrift b) mittels Spritze zugegeben (→ lindengrün). Nach 5 Min. Rühren bei 11–12° wurde die Lösung auf eine eiskalte, entgaste Mischung von 1200 ml Äther/«Phosphatpuffer»/Wasser 2:5:2 gegossen, der Kolben rasch mit etwas MC nachgespült und das Gemisch intensiv geschüttelt. Die Wasserphase wurde verworfen (geringe Substanzverluste), die organische Phase sofort 3mal mit entgastem Eiswasser, 1mal mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Filtration durch Watte wurde der Äther i.R.V. bei RT. entfernt und das Phenolderivat absublimiert³³). Eine Probe zeigte folgende Zusammensetzung im DC. (s. unten): blaugrünes **3** (Rf 0,35) neben sehr wenig graubraunem **2** (Rf 0,45) und nicht vollständig entferntem Phenolderivat (im UV.-Licht bei 254 nm schwach sichtbar, Rf 0,69); HPLC. (System II, Flussrate 81 ml/Std.): 94 mol-% Chlorophyll a ((13²R)-3), 1,5 mol-% Chlorophyll a' ((13²S)-3)¹⁰), 0,3 mol-% Phäophytin a ((13²R)-2), *ca.* 2,5 mol-% Verunreinigungen aus dem Reaktant, *ca.* 1,5 mol-% verschiedene Zersetzungsprodukte¹⁴) sowie Phenolderivat. UV./VIS. (Äther): OD. (410/429 nm)=0,68; vgl. umgefälltes **3**: OD.=0,64. – Das Rohprodukt wurde nach 14 Std. im HV. im Handschuhkasten in 11 ml Dioxan gelöst, zentrifugiert³⁴) und die Lösung vom fast farblosen (anorganischen) Rückstand abpipettiert³⁵). Der Rückstand wurde in Dioxan suspendiert und nochmals zentrifugiert. Zur Abtrennung [33] des Phäophytins und der Zersetzungsprodukte¹⁴) wurden die vereinigten Lösungen unter intensivem magnetischem Rühren innerhalb 30 Min. langsam mit 4,0 ml Wasser versetzt (Spritze), weitere 30 Min. gerührt und dann zentrifugiert³⁴). Der dunkelgrüne Chlorophyll-Rückstand (blaugrüne, überstehende Lösung verworfen) wurde in Dioxan gelöst, erneut wie oben mit Wasser ausgefällt, zentrifugiert³⁴), mit wenig Dioxan in einen Kolben übergeführt und anschließend über Nacht i.HV. getrocknet (Kühlfalle mit flüssigem Stickstoff): 126 mg (73%) dunkelgrünes, sehr feinpulvriges Chlorophyll a (**3**). – Eine 4 Tage bei RT. i.HV. getrocknete Probe gelangte zur Charakterisierung: im DC. (Silgur³⁶), Hexan/Aceton 7:3) nur 2 Flecke bei Rf 0,27 ((13²R)-3) und 0,30 (schwach, (13²S)-3). HPLC. (System II, Flussrate 108 ml/Std.; vgl. Fig. 1b): (13²R)-3 *t*=24,0 (91,9 mol-%), (13²S)-3 *t*=18,2 (7,2 mol-%)¹⁵), Verunreinigungen bei *t*=16,5 (0,3 mol-%) und 32,7 (0,3 mol-%)¹⁴). – UV./VIS. (Äther^{30,37}), *c*=7,61 · 10⁻⁶M; s. Fig. 3): 659 (4,939), 613,5 (4,114), 573,5 (3,833), 527,5 (3,568), 427,5 (5,045), 409 (4,849), 380,5 (4,634); Schulter bei 495 (3,32); min. 632 (3,90), 588 (3,67), 545 (3,42), 470 (3,0), 413 (4,84), 386 (4,63), 337 (4,34). UV./VIS. (Aceton³⁰), *c*=8,98 · 10⁻⁶M): 662 (4,878), 615 (4,134); 579,5 (3,806), 535 (3,519), 430,5 (4,972), 411,5 (4,833), 385 (4,644); Schulter bei 505 (3,23); min. 635

³³) Bei 50–60°/HV./*ca.* 2 Std., Kühlfinger auf den Kolben mit dem Rohprodukt aufgesetzt.

³⁴) Zentrifugiert (15 Min., *ca.* 2500 U/Min.) wurde in mit Serumkappen luftdicht verschlossenen Röhren ausserhalb des Handschuhkastens; alle anderen Operationen mit Chlorophyll-Lösungen wurden im Handschuhkasten unter striktem Sauerstoffausschluss bei gedämpftem Licht durchgeführt [14].

³⁵) Dieser feinverteilte, nicht filtrierbare Rückstand (wahrscheinlich Magnesiumsalze, die bei der Aufarbeitung nur *zusammen* mit dem Chlorophyll in die organische Phase gelangen) konnte lediglich so *vor* der Ausfällung mit Wasser entfernt werden. Ohne seine Entfernung lieferte die C,H,N-Analyse von **3** völlig falsche Werte (neben zu niedrigen ϵ im UV./VIS., aber korrekten ¹H- und ¹³C-NMR.; vgl. [14], S. 35, 105–106).

³⁶) DC.-Fertigplatten Silgur-25 UV₂₅₄ Macherey & Nagel, Startzone: Kieselgur, Chromatographiezone: Kieselgel.

³⁷) In *wassergesättigtem* Äther wurden eine bathochrome Verschiebung der Maxima bis zu 5 nm und um *ca.* 5% kleinere ϵ beobachtet (vollständige Daten in [14]).

(3,99), 592 (3,78), 549 (3,48), 474 (2,9), 417 (4,82), 388 (4,64), 343 (4,33). UV./VIS. (Dioxan³⁰), $c = 8,09 \cdot 10^{-6} \text{ M}$): 662 (4,922), 622,5 (4,152), 587 (3,869), 538 (3,519), 500 (3,342), 433 (5,082), 410 (4,820), 384 (4,614), 330 (4,386); usw. s. [14]. UV./VIS. (Benzol³⁰), $c = 8,68 \cdot 10^{-6} \text{ M}$): 668 (4,719), 626 (4,164), 584 (3,886), 536 (3,477), 434 (4,879), 384 (4,617), 346 (4,439) usw. s. [14]. Im Vergleich zu den Spektren in Äther, Aceton und Dioxan kleinere $\log \epsilon$ infolge Aggregation von **3** [34]. - IR.³⁰ ($c = 2,5\%$, $d = 0,2 \text{ mm}$; s. Fig. 4): 3000w, 2960s, 2930s, 2865m, 1730s, 1677s, 1640m, 1610s, 1555s, 1535s, 1490m, 1467m, 1453m, 1435w, 1380w, 1365w, 1345m, 1325w, 1305w, 1285m, 1185m, 1150m, 1125m, 1105w, 1070w, 1040m, 1020w, 1000w, 985w, 920m, 890w, 875m; laut Kontroll-HPLC. nach Spektrenaufnahme keine Zunahme des Gehalts an Allomer (vgl. Fussnote 14). IR. (CCl_4 , $c = 3\%$, $d = 0,2 \text{ mm}$): 3090w, 2960s, 2930s, 2870m, 2860m, 1735s, 1695s, 1655s, 1610m, 1550m, 1530m usw.; vollständige Daten sowie Spektrum im KBr-Pressling in [14]. - ¹H-NMR. ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}^{38}$), 88:12³⁰, ca. 0,06 M; s. Fig. 5³¹): 0,6 (s/TMS-¹³C-Satellit); ca. 0,8 (Signalhaufen mit d bei 0,84 ($J = 6$)/H₃C(P7¹), H₃C(P11¹), H₃C(P15¹) und H₃C(P16)); 0,9–1,5 (Signalhaufen/19 H/HC(P15), HC(P11), HC(P7), H₂C(P14), H₂C(P13), H₂C(P12), H₂C(P10), H₂C(P9), H₂C(P8), H₂C(P6) und H₂C(P5)); 1,56 (s/H₃C(P3¹)); 1,70 ($t/J = 8$ /H₃C(8²)); 1,78 ($d/J = 7$ /H₃C(18¹)); H₂C(17¹), H₂C(17²) und H₂C(P4) im Untergrund um 1,5–2,8; 3,23 und 3,28 (2 s/H₃C(2¹), H₃C(7¹)); 3,58 (s/H₃C(12¹), Dioxan); 3,73 ($qa/J = 8$ /H₂C(8¹)); 3,97 (s/H₃COOC(13³)); 4,37 ($d/J = 8$ /H₂C(P1)); HC(17) und HC(18) im Untergrund um 3,9–4,6; ca. 5,1 (Signalhaufen/HC(P2)); 5,98, 6,16 und 7,96 (ABX-System³²)/ $J(AB) = 2$, $J(AX) = 11$, $J(BX) = 18/2$ HC(3²), HC(3¹)); 8,20 und 8,29 (2 s/HC(20)); 9,21 und 9,24 (2 s/HC(5)); 9,46 und 9,51 (2 s/HC(10)); Signal von HC(13²) fehlt infolge H/D-Austausch mit CD₃OD, s. unten; vgl. Signal von HC(13²) in Aceton-d₆ bei 6,13; weitere Lösungsmittelsignale bei 2,14 (s/Aceton vom Umfüllen der NMR.-Probe), 3,08 (s/CD₃OH; wegen Austausch mit HC(13²!)), 5,27 (s/CH₂Cl₂ aus der Handschuhkasten-Atmosphäre) und 7,29 (s/CHCl₃). ¹H- und ¹³C-NMR. in Aceton-d₆ s. [14]. - ¹³C-NMR. ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}^{38}$) 88:12³⁰, ca. 0,05 M, abgebildet in [14], S. 119³⁹): 11,1 ($qa/C(7^1)$); 12,4 und 12,7 (2 $qa/C(2^1)$, C(12¹)); 16,3 ($qa/C(P3^1)$); 17,6 ($qa/C(8^2)$); 19,7 (qa und $t/C(P7^1)$), C(P11¹), C(8¹)); 22,7 (2 $qa/C(P15^1)$, C(P16)); 23,6 ($qa/C(18^1)$); 24,5 ($t/C(P9)$); 24,9 ($t/C(P13)$); 25,1 ($t/C(P5)$); 28,1 ($d^1/C(P15)$); 29,9 ($t/C(17^2)$); 30,9 ($t/C(17^1)$); 32,7 ($d/C(P7)$); 32,9 ($d/C(P11)$); 36,7 ($t/C(P6)$); 37,4 (3 $t^1/C(P10)$, C(P8), C(P12)); 39,5 und 39,9 (2 $t/C(P14)$, C(P4)); 47,3, 48,2, 49,1, 49,9 und 50,8 (CD₃OD); 49,6 ($d/C(18)$); 50,5 ($d/C(17)$); 53,1 ($qa/CH_3O-C(13^3)$); 61,7 ($t/C(P1)$); 67,1 ($t/Dioxan$); 78,6, 77,3 und 76,0 (CDCl₃); 92,6 ($d/C(20)$); 100,1 ($d/C(5)$); 104,2 (s/C(15)); 107,9 ($d/C(10)$); 117,7 ($d/C(P2)$); 120,1 ($t/C(3^2)$); 130,4 ($d/C(3^1)$); 134,1, 134,6 und 135,8 (3 s/C(12), C(7), C(2)); 139,4 (s/C(3)); 143,2 (s/C(P3)); 144,6 (s/C(8)); 146,3, 147,6 und 148,7 (3 s/C(9), C(11), C(4)); 152,8 (s/C(6)); 155,1, 155,4, 162,1, 168,8, 172,5 und 173,7 (6 s²/C(1), C(14), C(13), C(13²), C(16), C(17³), C(19)²); 190,2 (schwaches s/C(13¹)); infolge H/D-Austausch von HC(13²) mit CD₃OD ist die Relaxation so stark verlangsamt, dass das DC(13²)-Signal (t^1) nicht sichtbar ist; vgl. d von C(13²) in Aceton-d₆ [14] (kein Austausch) bei 66,0. Ein Kontroll-HPLC. nach Aufnahme der ¹³C-NMR.-Spektren zeigte ein (R/S)-Epimerenverhältnis von 79:21¹⁵), und ca. 2% Verunreinigungen¹⁴).

$\text{C}_{55}\text{H}_{72}\text{MgN}_4\text{O}_5 \cdot 0,25 \text{ H}_2\text{O} \cdot 0,75 \text{ C}_4\text{H}_8\text{O}_2^{40}$ Ber. C 72,26 H 8,21 N 5,81 Mg 2,52%
Gef. „ 72,25 „ 8,32 „ 5,74 „ 2,37%

Aus den vereinigten Mutterlaugen der beiden Fällungen wurden durch Zugabe von weiteren 4 ml Wasser, Zentrifugieren³⁴), Abpipettieren der Lösung und Trocknen des Rückstandes noch 26 mg (15%) **3** isoliert, die neben anderen Verunreinigungen (total ca. 5,6 mol-%) ca. 0,6 mol-% **2** enthielten (HPLC.).

Kristallisationsversuch mit Chlorophyll a (3) aus Aceton/Wasser 7:1⁹). Das Rohprodukt eines weiteren wie vorher durchgeführten Chlorophyll-Ansatzes wurde im Handschuhkasten in 10 ml MC gelöst, zentrifugiert³⁴), die Lösung abpipettiert, der Rückstand³⁵) in 5 ml MC aufgeschlämmt und erneut zentrifugiert. Die vereinigten Lösungen wurden i.V. eingedampft, der Rückstand in 17,5 ml Dioxan gelöst und unter Rühren innert 45 Min. mit 5 ml Wasser versetzt. Nochmaliges Umfällen des Niederschlags aus 15 ml Dioxan/5 ml Wasser und Trocknen im HV. (Kühlfalle mit flüssigem

³⁸) Merck, Uvasol, mind. 99% D.

³⁹) Zuordnung der Signale nach [23].

⁴⁰) Lösungsmittelgehalt laut ¹H-NMR. in Aceton-d₆: ca. 0,6 mol Dioxan, ca. 0,5 mol Wasser [14].

Fig. 1. HPLC im System II, $\lambda = 280 \text{ nm}$, Durchfluss 84 ml/Std.

- a) Phäophytin a (2), vor der Komplexbildung;
- b) Chlorophyll a (3), umgefälltes Material;
- c) Chlorophyll a (3), kristallisiertes Material.

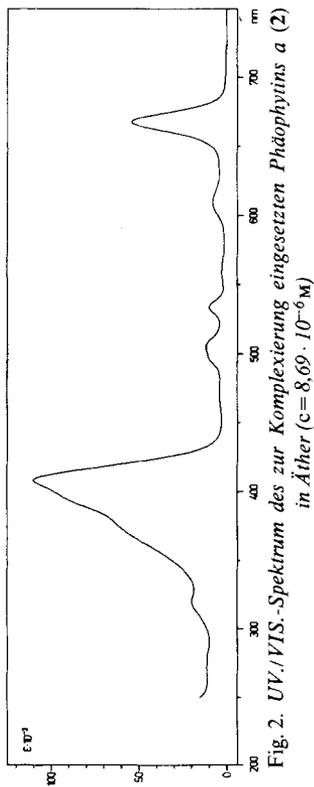
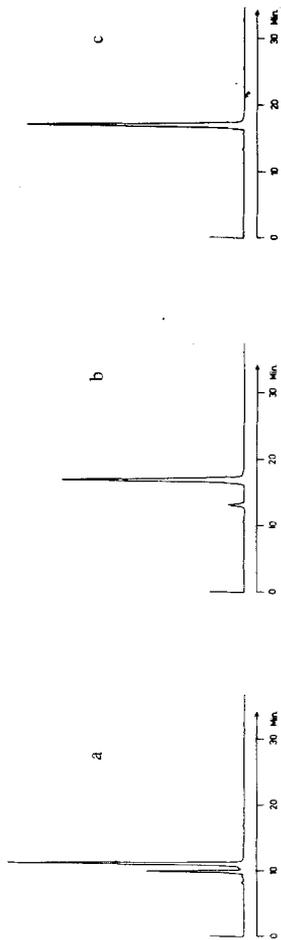


Fig. 2. UV/VIS.-Spektrum des zur Komplexbildung eingesetzten Phäophytins a (2) in Äther ($c = 8,69 \cdot 10^{-6} \text{ M}$)

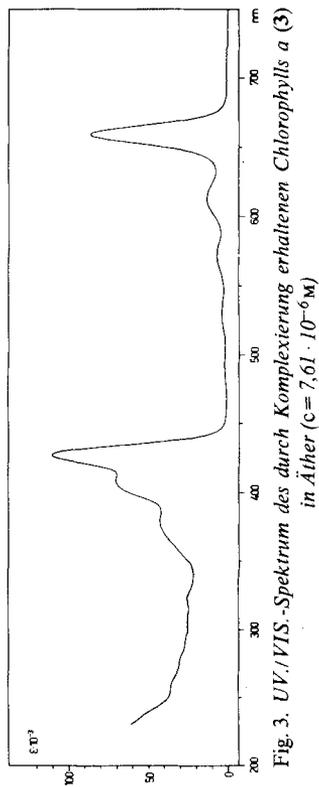


Fig. 3. UV/VIS.-Spektrum des durch Komplexbildung erhaltenen Chlorophylls a (3) in Äther ($c = 7,61 \cdot 10^{-6} \text{ M}$)

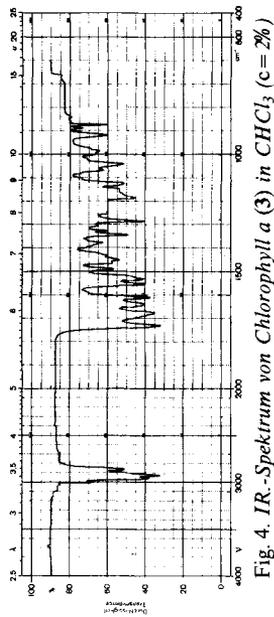


Fig. 4. IR.-Spektrum von Chlorophyll a (3) in CHCl_3 ($c = 2\%$)

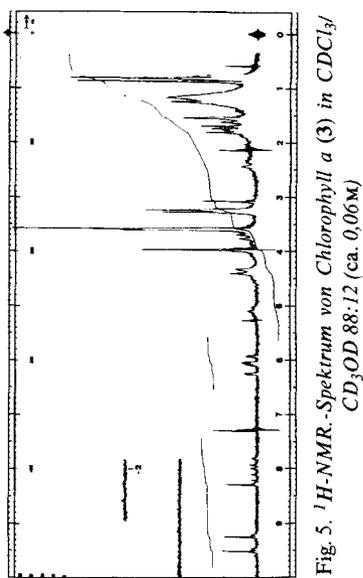


Fig. 5. $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Chlorophyll a (3) in CDCl_3 ($\text{CD}_3\text{OD } 88:12$ (ca. $0,06 \text{ M}$))

Stickstoff) gab 123 mg (75% bzgl. **2**) Chlorophyll a (**3**). Dieses Material wurde im Handschuhkasten in 14 ml Aceton (*Merck, p.a.*, destilliert) gelöst, die Lösung durch Watte in einen zerkratzten Kolben filtriert und mit 2 ml dest. Wasser²¹⁾ versetzt. Nach langsamem Eindunstenlassen innerhalb von 5½ Wochen im Handschuhkasten wurde die Mutterlauge abpipettiert, und nach Trocknen (48 Std./HV./RT.) wurden 77,5 mg (63% des eingesetzten Materials; 47% Ausbeute bzgl. **2**) dunkelgrünes, körniges Produkt isoliert, das einem *Debye-Scherrer-Pulverdiagramm*⁴¹⁾ zufolge kristalline Anteile enthielt, aber gemäss Aspekt (kleine grüne Kristalle bei 500facher Vergrößerung; max. Grösse: Durchmesser *ca.* 1,5 μ , Länge *ca.* 6 μ) nur teilweise kristallin war. HPLC. (System II, Flussrate 84,4 ml/Std.; s. *Fig. 1c*): (13²R)-**3** $t = 16,5$ (98,8 mol-%), (13²S)-**3** $t = 13,0$ (0,5 mol-%)¹⁵⁾, Verunreinigungen¹⁴⁾ bei $t = 22,2$ und 25,0 (total 0,2 mol-%), weitere Verunreinigungen bei $t = 15,2$ und 17,5 (total 0,5 mol-%). Partialsynthetisches Chlorophyll a und Chlorophyll a aus Pflanzenmaterial (*Fluka, purum*) waren im Misch-HPLC. nicht unterscheidbar (vgl. Fussnote 18). - UV./VIS. (Äther³⁰), $c = 7,37 \cdot 10^{-6} \text{M}^{42)}$: 659 (4,958), 613,5 (4,134), 574 (3,863), 528 (3,613), 427,5 (5,063), 409,5 (4,863), 380,5 (4,647); Schulter bei 495 (3,36); min. 633 (3,92), 588 (3,70), 547 (3,49), 468 (3,15), 413 (4,86), 387 (4,64), 340 (4,37). UV./VIS. in Aceton und Dioxan s. [14]. - CD.⁴³⁾(Äther³⁰), $c = 8,20 \cdot 10^{-6} \text{M}^{42)}$; s. *Fig. 6*): $\lambda_m([\Delta\epsilon]) = 656$ (-7,6), 632 (-0,4), 613 (-0,7), 425 (+9,3), 410,5 (+4,5), 399 (+7,0), 380 (+2,9), 376 (+3,0), 362,5 (+0,7), 354 (+1,2), 350 (+0,9), 323 (+7,8), 302 (+2,1), 291 (+3,6), 283 (+3,0), 265 (+3,8), 232 (-3,9); λ_0 bei 600-450 ($\leq \pm 0,3$) und 243; in den in der Literatur [18] abgebildeten Spektren sind die von uns gefundenen Banden bei 376 und 380 nm nicht klar erkennbar, weitere Abweichungen finden sich bei den $[\Delta\epsilon]$ -Werten: vgl. 657 (-13,8), 428 (+11,0) [18a] bzw. 656 (*ca.* -12,7), 432 (*ca.* +12,5) (die beiden letzteren Werte wurden durch Ausmassen des in [18b] abgebildeten Spektrums bestimmt). CD. (Aceton^{30,43}), $c = 8,01 \cdot 10^{-6} \text{M}^{42)}$; abgebildet in [14], S. 123): $\lambda_m([\Delta\epsilon]) = 656$ (-7,7), 632 (-0,9), 615 (-1,4), 565 (-0,6), 428 (+5,9), 413 (+2,5), 400 (+5,1), 358 (-0,6); λ_0 bei 530-455 ($\leq \pm 0,3$), 367, 353, 587.

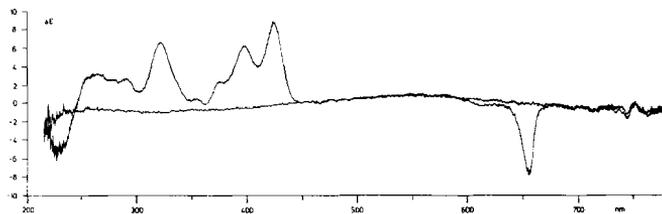


Fig. 6. CD.-Spektrum von Chlorophyll a (3) in Äther ($c = 8,20 \cdot 10^{-6} \text{M}$)

Zur Überprüfung, ob ein mit Cetylalkohol statt Phytol verestertes Chlorophyll besser kristallisiert, haben wir in Phäophorbid-a-cetylestern [43] ebenfalls mit **1** Magnesium eingebaut⁹⁾. Aber auch dieses Chlorophyll-Derivat liess sich nicht besser als **3** kristallisieren (Aspekt und Pulverdiagramm ähnlich wie **3**).

Zu Schema 3. Isolierung von Phäophytin b (4). In wenig MC wurden 700 mg Phäophytin b (Rohprodukt der Chromatographie des Pflanzenextraktes⁸⁾, s. oben) gelöst und auf 350 g Kieselgel (Säule 380×50 mm) mit *ca.* 4,3 l MC/Aceton 99:1 chromatographiert (Tropfgeschwindigkeit *ca.* 120 ml/Std., nach 20 Std. auf 320 ml/Std. gesteigert). Die Fraktionen wurden mittels DC. (Kieselgel, MC/Aceton 15:1; Rf(**4**) 0,59), HPLC. und UV./VIS. kontrolliert. Nach Fraktionen mit verschiedenen Nebenprodukten wurden 209 mg DC.-reines **4** (UV./VIS. in MC.: OD. (438/417 nm)=2,52; OD. (438/664 nm)=5,41) isoliert⁴⁴⁾. Dieses 24 Std. im HV. bei RT. getrocknete und zur Komplexierung

41) Für die Aufnahme des Pulverdiagramms danken wir Herrn *R. Gubser* (Institut für Kristallographie und Petrographie ETH). Die Lagen der Reflexe stimmten mit dem von *Kratky & Dunitz* [40e] beschriebenen Pulverdiagramm überein, das von kristallisiertem, aber noch verunreinigtem Chlorophyll a (VIS.-spektroskopischer Gehalt *ca.* 88%) aus einem Vorversuch von *Isenring* stammte [20].

42) Berechnet für einen *angenommenen* Gehalt von 2 mol H₂O pro mol **3**; vgl. [35] [40b] [40c].

43) In gleichzeitig mit der Messprobe im gleichen Lösungsmittel gelösten Proben stieg der Gehalt an (13²S)-**3** während der Aufnahmedauer der Spektren laut HPLC. von 1,9 auf 3,1 mol-% (Äther) bzw. von 1,0 auf 1,4 mol-% (Aceton). Das HPLC. zeigte keine Zunahme des Gehalts an Verunreinigungen.

44) Weitere Einzelheiten zur Reinigung von **4** finden sich in [4].

eingesetzte 4 zeigte im HPLC. (System III, Detektor $\lambda = 440$ bzw. 415 nm): Phäophytin b ((13^2R) -4) bei $t = 15,6$ (100), Phäophytin b' ((13^2S) -4)^{10,19} bei $t = 14,5$ (17) sowie Verunreinigungen im Bereich $t = 1-60$ (total ca. 1). - UV./VIS. (Äther, $c = 4,61 \cdot 10^{-6} \text{M}$; s. Fig. 7): 656,5 (4,600), 600 (3,931), 556,5 (3,845), 522 (4,074), 432,5 (5,265), 412 (4,872), 370 (4,483), 324,5 (4,488); Schultern bei 532 (4,05), 489 (3,63); min. 620 (3,61), 578 (3,36), 547 (3,80), 473,5 (3,54), 416 (4,86), 382 (4,44), 339 (4,41). - IR. ($c = 2,5\%$, $d = 0,2$ mm; abgebildet in [4], S. 73): 3390w, 2999m, 2950s, 2922s, 2861m, 2727w, 1735s, 1705s, 1663s, 1618m, 1586m, 1557m, 1540m, 1494s, 1465m, 1451m, 1432m, 1404w, 1383m, 1368m, 1353w, 1300m, 1200s, 1165m, 1125w, 1100w, 1062w, 1037m, 995w, 970w, 940w, 930w, 898w, 857w, 826w. - $^1\text{H-NMR}$. (ca. 0,2 M; abgebildet in [4], S. 69)³¹): - 0,59 (s/HN); 0,60 (s/TMS- ^{13}C -Satellit); 0,7-0,9 (Signalhaufen/ H_3C (P7¹), H_3C (P11¹)), darin 0,83 ($d/J = 7/\text{H}_3\text{C}$ (P15¹), H_3C (P16)); 0,9-1,6 (Signalhaufen/19 H/HC(P15), HC(P11), HC(P7), H_2C (P14), H_2C (P13), H_2C (P12), H_2C (P10), H_2C (P9), H_2C (P8), H_2C (P6) und H_2C (P5)); 1,66 (s/ H_3C (P3¹)); 1,8-3,1 (total 12 H): 1,94 ($t/J = 7/\text{H}_3\text{C}$ (8²)), 2,1-3,1 (Signalhaufen/ H_2C (17¹), H_2C (17²), Signale von H_3C (18¹), H_2C (P4) im Untergrund); 3,17 (s/ H_3C (2¹)); 3,32 (s/ H_3C (12¹)); H_2C (8¹) im Untergrund um 3,0-3,4; 3,94 und 4,04 (2 s/ H_3COOC (13³)); 4,1-4,6 (Signalhaufen/HC(17), HC(18), H_2C (P1)); 5,26 ($t/J \approx 7/\text{HC}$ (P2)); 5,85-6,18 (AB-Teil/ H_2C (3²)); 6,23 (s/HC(13²)); 7,20 (s/CHCl₃); 7,25-7,65 (X-Teil/HC(3¹)); 8,34, 8,37 und 8,43 (3 s/HC(10), HC(20)); 9,18 und 9,23 (2 s/HC(5)); 10,11 und 10,16 (2 s/HC(7¹)).

Herstellung von Chlorophyll b (5) [4]. Eine durch Ausfrieren entgaste Lösung von 206 mg (0,23 mmol) Phäophytin b (4) (s. oben) in 11 ml Thiophen wurde bei 50° unter Argon mit 7,8 ml (2,34 mmol) 0,3 M Lösung von 1/0,3 M Lösung von Lithium-di-*t*-butyl-4-methylphenoxid 1:1 30 Min. gerührt²⁶) (Reagenszugabe mittels Spritze) und dann mit einem entgastem Gemisch von 800 ml Äther/Puffer pH 6⁴⁵/Eiswasser 6:1:1 aufgearbeitet. Die Ätherlösung wurde 2mal mit je ca. 200 ml entgastem Eiswasser extrahiert, über Watte filtriert, eingedampft (RV./RT.) und das Phenolderivat absublimiert³³). UV./VIS. und DC. (einheitlich; auf Kieselgel mit Hexan/Aceton 2:1 Rf(5) 0,32 gegenüber Rf(4) 0,47; auf Cellulose mit Hexan/Aceton 5:1 Rf(5) 0,5) zeigten vollständige Komplexbildung an. Im Handschuhkasten wurde die Hälfte des Rohprodukts in 6 ml Aceton gelöst und nach Zugabe von 1,2 ml Wasser²¹) 10 Tage eindunsten gelassen. Nach Abpipettieren der nur noch schwach gefärbten Mutterlauge und 5 Tagen Trocknung im HV. bei RT. wurden 166 mg gelbgrünes Material isoliert, dessen kristalline Anteile unter dem Polarisationsmikroskop («Kristalligel» bei 600facher Vergrößerung) und im Debye-Scherrer-Pulverdiagramm (abgebildet in [1], S. 71) sichtbar waren; Ausbeute ca. 95%, korrigiert für den Lösungsmittelgehalt laut $^1\text{H-NMR}$. HPLC. (System III, Detektor $\lambda = 440$ nm): Chlorophyll b ((13^2R) -5) $t = 16,4$ (100), Chlorophyll b' ((13^2S) -5)^{10,19} $t = 12,8$ (35), Verunreinigung bei $t = 11,0$ (1), Gehalt an Phäophytin b (4) < 1 mol-%. - UV./VIS. (Äther³⁰), $c = 3,61 \cdot 10^{-6} \text{M}$; 5 · 13 H₂O · 0,4 Aceton laut $^1\text{H-NMR}$., vgl. Tab. 2 und Fig. 8): 641 (4,831), 594 (4,041), 550 (3,728), 450 (5,300), 331 (4,542), 307,5 (4,501); Schultern bei 428 (4,91), 376 (4,35), 359 (4,44); min. 617 (3,93), 575 (3,76), 490 (< 2,6), 392 (4,14), 318 (4,48). - IR.³⁰) ($c = 2,5\%$, $d = 0,2$ mm; abgebildet in [4], S. 73): 3638w (H_2O), 2998w, 2955s, 2924s, 2864m, 2732w, 1728s, 1692s, 1658s, 1609m, 1560m, 1546s, 1516m, 1478m, 1464m, 1443m, 1379m, 1347m, 1288s, 1190m, 1165m, 1149m, 1129w, 1078w, 1070w, 1045m, 1022w, 1008w, 992w, 948w, 924w, 889w, 867w, 839w. - $^1\text{H-NMR}$.²²) (ca. 0,14 M; abgebildet in [4], S. 72)^{30,31}): - 0,59 und 0,59 (2 s/TMS- ^{13}C -Satelliten); 0,8-1,0 (Signalhaufen/ H_3C (P7¹), H_3C (P11¹)), darin 0,87 ($d/J = 6/\text{H}_3\text{C}$ (P15¹), H_3C (P16)); 1,0-2,0 (Signalhaufen und s bei 1,43 (ca. 13 mol H₂O)/ca. 50 H/HC(P15), HC(P11), HC(P7), H_2C (P14), H_2C (P13), H_2C (P12), H_2C (P10), H_2C (P9), H_2C (P8), H_2C (P6), H_2C (P5), H_3C (P3¹)); 2,28 (s/ca. 0,4 mol Aceton); 2,9-4,2 (3 Signalhaufen und 2 s? bei 4,10 und 4,15/ca. 20 H/ H_3C (8²), H_3C (18¹), H_3C (2¹), H_3C (12¹), H_2C (8¹), H_2C (17¹), H_2C (17²) und H_2C (P4)); 4,6-5,2 (Signalhaufen und 2 s? bei 4,98 und 5,19/ca. 3 H/HC(13²), H_2C (P1)); 5,7-6,2 (Signalhaufen/ca. 3 H/ H_2C (3²), HC(P2)); 6,79 und 6,96 (2 s/ H_3COOC (13³)); 7,2-7,7 (Signalhaufen/ca. 4 H/HC(3¹), HC(17), HC(18) und Fremdsignal); 8,01 (br. s/HC(20)); 8,85-9,45 (Signalhaufen mit 2 br. s/ca. 3 H/HC(5), HC(10), HC(7¹)); Fremdsignale bei 5,54 (s/ca. 0,3 H) und 6,50 (s/ca. 0,2 H).

Zu Tabelle 2: Eine mögliche Erklärung für die Abweichungen der ϵ -Werte voneinander wäre ein unterschiedlicher Lösungsmittelgehalt der Proben (Wasser!); es bestehen aber nur unvollständige Angaben über Lösungsmittelgehalt und Reinheit der gemessenen Chlorophyll-Proben bzw. Konzentration der Messlösungen.

⁴⁵) Puffer pH 6: 50 ml gesättigte wässrige NaH₂PO₄-Lösung, 50 ml 1 N NaOH-Lösung und 200 ml H₂O.

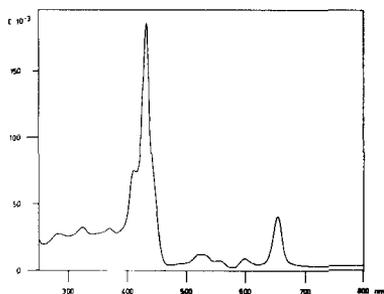


Fig. 7. UV/VIS.-Spektrum des zur Komplexierung eingesetzten Phäophytins b (4) in Äther ($c = 4,61 \cdot 10^{-6} \text{M}$).

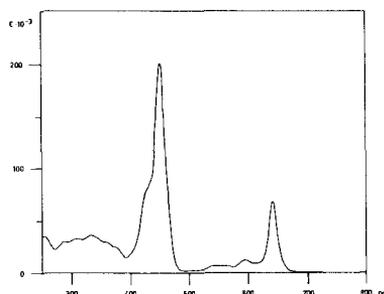


Fig. 8. UV/VIS.-Spektrum des durch Komplexierung erhaltenen Chlorophylls b (5) in Äther

Tabelle 2. UV/VIS.-Daten von Chlorophyll b (5) in Äther bei RT.

	«Rotbande» nm (ϵ)		«Sorebande» nm (ϵ)		ϵ_{rel}
Diese Arbeit	641	(67700) ^a (55800) ^b	450	(199350) ^a (164300) ^b	2,94
Smith & Benitez (1955)	644	(56250)	455	(158500)	2,82 [25a]
Trurnit & Colmano (1959)	642,5	(52100)	453	(156300)	3,00 [39]
Katz et al. (1963)	642	(61800)	452,5	(175300)	2,84 [25b]
Sauer et al. (1966) ^c	644	(56300)	455	(158500)	2,82 [25f]
Brown (1968)	642,5	(72500)	453	(210900)	2,77 [36b]
Sanders et al. (1978)	645	(46800)	453	(151400)	3,24 [36a]
Jacobs & Holt (1954) ^d	640,5	(53300)	451	(163000)	3,01 [27]

a) Berechnet für $5 \cdot 13 \text{H}_2\text{O} \cdot 0,4 \text{Aceton}$ (Lösungsmittelgehalt laut $^1\text{H-NMR}$).

b) Berechnet für $5 \cdot 1,6 \text{H}_2\text{O} \cdot 0,4 \text{Aceton}$ (in Analogie zu Chlorophyll a (3) und den Chlorophylliden 8 und 10 [40] wurden 2 mol Kristall-Lösungsmittel angenommen).

c) Korrekte C, H, N-Analyse für $5 \cdot 1 \text{H}_2\text{O}$ (nicht kristallisiert).

d) Daten von (kristallinem) Chlorophyllid-b-äthylester (vgl. Fussnote 11).

Zu Tabelle 1. - Herstellung von Chlorophyllid-a-methylester (8) [20]⁴⁶. In eine Lösung von 303 mg (0,5 mmol) Phäophorbid-a-methylester (7)⁴⁷ in 10,0 ml MC wurden bei 12° unter Argon schnell 10,0 ml (2,0 mmol) 0,2M Lösung von 1 gespritzt²⁶). Nach 6 Min. Rühren bei 12° wurde auf 370 ml Äther/«Phosphatpuffer»/Wasser 17:10:10 gegossen, der Reaktionskolben kurz mit Aceton nachgespült und das Gemisch intensiv geschüttelt. Nach 5mal Waschen mit insgesamt ca. 2 l Wasser wurde die Ätherlösung über eine ca. 0,5 cm hohe Schicht Na_2SO_4 (Glasfilternutsche G4) filtriert und die Nutsche mit Äther farblos gewaschen. Das DC.⁴⁸ zeigte neben blaugrünem 8 noch ein grünes Nebenprodukt mit grösserem Rf-Wert⁴⁹), aber kein 7. Das Filtrat wurde bei 40° i.V. vorsichtig bis zur Kristallbildung eingeeengt (Restmenge Äther ca. 40 ml). Nach langsamem Abkühlen unter Argon auf RT. und 3stdg. Stehenlassen bei 4° wurde die Mutterlange abpipettiert. Die glänzenden, dunkelblauen Kristalle wurden mehrmals mit wenig Äther gewaschen und 3 Tage getrocknet (0,005 Torr/RT.): 238 mg (73%) DC.-reiner⁴⁸) Chlorophyllid-a-methylester (8). Chloro-

⁴⁶) Erstmals wurde 8 von Willstätter [6b] durch enzymatische Umesterung von Chlorophyll a hergestellt; Herstellung von Fischer [9c] durch Komplexierung (Ausbeute ca. 48%).

⁴⁷) DC.-reines (Cellulose, Hexan/Aceton/Propanol 100:10:0,45, Rf 0,49), kristallines, 5 Std. im HV. bei 75° getrocknetes Material, Smp. 223–224° (Zers.); für die Herstellung [53] [6c] vgl. [20].

⁴⁸) Cellulose, Hexan/Aceton 5:1; die Rf-Werte sind stark konzentrationsabhängig.

⁴⁹) Bei der Komplexierung trat ein magnesiumhaltiges Nebenprodukt auf (ca. 5%), dem nach Dekomplexierung aufgrund spektroskopischer Daten die Struktur des 13²-(2,6-Di-*t*-butyl-4-methylphenoxy)phäophorbid-a-methylesters («Phenol-Allomer», vgl. Fussnote 14) zugeordnet wurde (s. [20], S. 173–175).

phyllid **8** aus einem solchen Ansatz zeigte folgendes ¹³C-NMR. (Aceton-d₆³⁸), ca. 0,04M, Aceton-d₆ als interner Standard³⁹): 10,9 (C(7¹)); 12,4; 17,8 (C(8²)); 19,8 (C(8¹)); 23,0, 23,6 (C(18¹)); 27,4, 28,1, 28,9, 29,7, 30,4, 31,2 und 32,0 (Aceton-d₆); 29,1; 29,9 (C(17²)); 30,7; 30,9 (C(17¹)); 49,7 (C(8)); 50,1; 51,1; 51,4; 51,6; 52,4; 52,6; 65,9 (C(13²)); 66,7; 93,5 (C(20)); 100,4 (C(5)); 106,1 (C(15)); 108,3 (C(10)); 108,4; 120,0 (C(3²)); 131,2, 134,2, 134,3 und 136,0 (C(7), C(12), C(2)); 139,6 (C(3)); 144,8; 148,3; 148,9; 152,7 (C(6)); 155,4; 156,6; 169,5; 173,7; 189,9; 205,9 (Aceton-d₆).

Die Mutterlaugen der Kristallisation von **8** wurden mittels 1N HCl dekomplexiert, mit Wasser neutral gewaschen, durch Watte filtriert und eingedampft (RV.). Der Rückstand (gelöst in MC) wurde auf 15 g Kieselgel (Säule 15×190 mm) mit CCl₄/Aceton 95:5 chromatographiert: Phenol-derivat, 12 mg Nebenprodukt⁴⁹), 52 mg (17%) DC.-reines (Kieselgel, Cellulose) Phäophorbid-a-methylester (**7**).

Zur *Charakterisierung* gelangte 1mal kristallisiertes **8** aus einem anderen Ansatz¹³): Korrekte C,H,N- und Mg-Analyse für C₃₆H₃₆MgN₄O₅ · 1,25 H₂O; die Spektren dieser Probe¹³) waren in Übereinstimmung mit den publizierten Spektren für **8**, das durch enzymatische Umesterung aus Chlorophyll a gewonnen wurde [24] [27] [28b] (UV./VIS.) [22b] [22c] (IR.) [22a] [22b] (¹H-NMR.). - Eine mit 1N HCl demetallierte Probe des Analysenmaterials zeigte die gleichen spektroskopischen Daten (UV./VIS., IR., ¹H-NMR.) und das gleiche DC. wie authentischer Phäophorbid-a-methylester (**7**).

Für die in [40a] [40b] [40c] publizierten *Röntgenstrukturanalysen* wurden Chlorophyllid-a-methylester (**8**) und Chlorophyllid-a-äthylester (entsprechend durch Komplexierung von Phäophorbid-a-äthylester hergestellt)¹³) aus Aceton/H₂O 9:1 durch langsames Eindunstenlassen der Lösung im Hand-schuhkasten kristallisiert. Die so erhaltenen Kristalle enthielten je 2 mol H₂O pro mol Komplex.

Herstellung von Pyrochlorophyllid-a-methylester (10) [20]⁵⁰). Eine Lösung von 274 mg (0,5 mmol) Pyrophäophorbid-a-methylester (**9**)⁵¹) in 10 ml CHCl₃ unter Argon²⁶) wurde auf 50° erwärmt. Dazu wurden mittels einer Spritze schnell 10,0 ml (2,0 mmol) 0,2M Lösung von **1** gegeben. Nach 5 Min. Rühren wurde i.V. zur Trockne eingedampft⁵²), der Rückstand in wenig Aceton gelöst und mit 400 ml Äther/«Phosphatpuffer»/Wasser 2:1:1 aufgearbeitet. Die mehrmals mit insgesamt ca. 2 l Wasser gewaschene organische Phase wurde durch eine 0,5 cm dicke Schicht Na₂SO₄ in einer Glasfilternutsche G4 filtriert (DC.⁴⁸): nur 1 Fleck), mit 10 ml Hexan versetzt und durch Abblasen des Lösungsmittels im Argonstrom bei ca. 40° bis zur beginnenden Kristallbildung eingeengt (Restvolumen ca. 37 ml). Nach 12 Std. bei RT. unter Argon wurden die blau glitzernden Nadeln abfiltriert, 2mal mit wenig Äther gewaschen und 5 Tage getrocknet (HV./RT.): 228 mg (80%) **10**. - Eine 3 Tage bei ca. 60° getrocknete Probe zeigte folgende Eigenschaften⁵³): Smp. > 320° (Zers.), im DC.⁴⁸) nur ein blaugrüner Fleck. - UV./VIS. (MC, c = 10,43 · 10⁻⁶M; abgebildet in [20], S. 184): 663 (4,789), 618,5 (4,043), 583,5 (3,705), 536 (3,182), 431,5 (4,945), 412 (4,761), 385 (4,592), 329,5 (4,338); Schulter bei 489 (3,05); min. 636 (3,86), 591 (3,68), 548 (3,09), 512 (2,6), 417 (4,75), 391 (4,58), 365 (4,30). UV./VIS. in Benzol bzw. Äther s. [20]. - IR. (c = 1%; abgebildet in [20], S. 182): 3690w/3650w/3600w (H₂O), 3000w, 2965m, 2925w, 2865w, 1729m, 1715w, 1665m, 1637s, 1612s, 1552s usw. - ¹H-NMR. (CDCl₃/CD₃OD³⁸) 89:11, ca. 0,065M): u.a. 4,86 und 5,03 (A-B-System/J = 20/H₂C(13²)), vollständige Daten in [20].

C ₃₄ H ₃₄ MgN ₄ O ₃ · 0,25 H ₂ O ⁵⁴)	Ber. C 70,96 Gef. ,, 70,80	H 6,04 ,, 6,04	N 9,74 ,, 10,10	Mg 4,22% ,, 4,57%
---	-------------------------------	-------------------	--------------------	----------------------

- ⁵⁰) Bisher wurde **10** durch Komplexierung von **9** mit «Magnesium-Viologen-Reagens» [44] oder mit Mg (ClO₄)₂ in Pyridin [45] bzw. durch Pyrolyse von Chlorophyllid-a-methylester (**8**) [24] hergestellt (vgl. Fussnote 53).
- ⁵¹) Durch Pyrolyse von Phäophorbid-a-methylester (**7**) (vgl. Fussnote 47) hergestellt [46]¹³); das DC.-reine, kristalline **9** wurde vor der Komplexierung 24 Std. bei RT. im HV. getrocknet.
- ⁵²) Nur unter diesen Bedingungen fand vollständiger Einbau des Magnesiums (DC.-einheitlich)⁴⁸) statt: bei 12° (wie bei Chlorophyllid-a-methylester (**8**)) keine Reaktion, bei 50° ohne Eindampfen unvollständige Komplexierung.
- ⁵³) Die ¹H-NMR.- und IR.-Daten unseres Materials stimmten mit den Literaturwerten [24] (**10** durch Pyrolyse von Chlorophyllid-a-methylester (**8**) hergestellt) überein; bei Übereinstimmung der Lage der Maxima im UV./VIS. in Äther sind die ε-Werte unserer Probe aber 10-20% höher als von Katz et al. gefunden [24] [45].
- ⁵⁴) Lösungsmittelgehalt laut ¹H-NMR.: ≤ 1 mol H₂O.

Nach Dekomplexierung der Mutterlauge und Chromatographie¹³⁾ wurden 45 mg (16%) DC.-reines **9** zurückerhalten. - Die in [40a] [40d] beschriebene Röntgenstrukturanalyse von **10** wurde mit aus Äther kristallisiertem Material durchgeführt¹³⁾, das laut C,H,N-Analyse pro mol **10** je 1 mol Äther und H₂O enthält.

Herstellung von Bakteriochlorophyllid-a-methylester (12) [4]⁵⁵⁾. Zu einer durch Ausfrieren entgasten Lösung von 125 mg (0,2 mmol) Bakteriophäophorbid-a-methylester (**11**)⁵⁶⁾ in 8 ml Thiophen wurden bei 80° unter Argon 6,7 ml (2,01 mmol) 0,3 M Lösung von 1/0,3 M Lösung von Lithium-2,6-di-*t*-butyl-4-methylphenoxid 1:1 gespritzt. Nach 30 Min. Rühren bei 80° wurde die grüne Mischung mit 500 ml Äther/«Phosphatpuffer»/Eiswasser 1:2:2 (entgast) geschüttelt, die tiefblaue organische Phase 2mal mit je 200 ml entgastem Eiswasser extrahiert, über Watte filtriert und das Lösungsmittel i.R.V. bei RT. bis 40° entfernt. Die Vollständigkeit der Komplexierung wurde durch DC. («Startfleck»⁵⁷⁾, Spur Allomer, **12**; auf Cellulose mit Hexan/Aceton 5:2 Rf(**12**) 0,6, vgl. Rf(**11**) 0,86; auf Kieselgel mit Hexan/Aceton 1:1 Rf(**12**) 0,29, vgl. Rf(**11**) 0,47) und VIS. überprüft. Nach Absublimieren des Phenolderivats³³⁾ wurde das Rohprodukt zur Abtrennung des «Startflecks»⁵⁷⁾ im Handschuhkasten in ca. 3 ml Aceton gelöst und auf 12 g Kieselgel chromatographiert (Säule 170×25 mm, mit Hexan/Aceton 1:1 gefüllt und eluiert). Die DC.-reinen Fraktionen wurden i.V. eingedampft (90 mg, 70%), in 6 ml Aceton gelöst, durch eine Glasfilternutsche G2 filtriert und nach Zusatz von 0,6 ml MC langsam eindunsten gelassen (Handschuhkasten). Nach 10 Tagen wurde die Mutterlauge vorsichtig abpipetiert und nochmals auf die gleiche Weise umkristallisiert: 61 mg (41%) **12**, welches 3½ Tage i.HV. bei RT. getrocknet wurde. - UV./VIS. (MC³⁰⁾, $c = 7,30 \cdot 10^{-6} \text{ M}$: 774 (4,683), 705 (3,968), 579 (4,210), 544 (3,763), 392 (4,555), 360 (4,732), 306 (4,502), 263 (4,708); Schultern bei 428 (3,97), 335 (4,57); min. 316 (4,47). UV./VIS. (Äther mit 2% THF als Lösungsvermittler³⁰⁾, $c = 8,90 \cdot 10^{-6} \text{ M}$; abgebildet in Fig. 3 in [1]); 768 (4,974), 580 (4,220), 534 (3,447), 392 (4,665), 385 (4,641), 377 (4,667), 360 (4,852), 303 (4,316); Schulter bei 711 (4,01); min. 622 (3,20), 498 ($\leq 2,7$), 311 (4,30), 288 (4,28). UV./VIS. (Benzol mit 2% THF als Lösungsvermittler³⁰⁾, $c = 5,81 \cdot 10^{-6} \text{ M}$: 780 (4,825), 711 (3,919), 583 (4,140), 543 (3,653), 395 (4,517), 363 (4,707), 307 (4,276); min. 643 (3,54), 486 (3,45); Übereinstimmung mit den Daten von (enzymatisch hergestelltem [41b]) Bakteriochlorophyllid-a-methylester. UV./VIS. von **12** in Methanol und THF s. [4]. - IR.³⁰⁾ ($c = 3\%$; s. Fig. 9): 3003m, 2962m, 2928m, 2876m, 1730s, 1710s, 1667s, 1608s, 1521s, 1450m, 1433m, 1378m, 1368m, 1339m, 1154m, 1140s, 1115m, 1060m, 1020s, 950m, 926m, 896s, 840m. IR.³⁰⁾ (THF, $c = 3\%$): 1738s, 1714m, 1688s, 1657m, 1595m, 1569m. - ¹H-NMR. (Dioxan-d₈^{30,58)}, ca. 0,08M, Aceton als interner Standard (=2,06 ppm); s. Fig. 10): 1,34-1,56 (Signalhaufen/H₃C(8²)); 1,82 und 1,90 (2 d/J \approx 6/H₃C(7¹), H₃C(18¹)); 2,4-2,8 (Signalhaufen H₂C(8¹), H₂C(17¹), H₂C(17²)); 3,14 (s/H₃C(3²)); ca. 3,6 (s/Dioxan und H₃C(2¹) oder H₃C(12¹)); 3,50 (s/H₃C(2¹) oder H₃C(12¹)); 3,73 (s/H₃COOC(17³)); 3,81 (s/H₃COOC(13³)); 4,0-4,7 (Signalhaufen/H₂C(7), HC(8), HC(17), HC(18)); 6,22 (s/HC(13²)); 8,49 (s/HC(20)); 8,65 (s/HC(10)); 9,17 (s/HC(5)); Fremddabsorption um 0,9-1,6 (ca. 3 H); Kristall-Lösungsmittelsignale bei 0,22 (s/ca. 0,2 mol Aceton an Mg koordiniert?), 2,06 (s/ca. 1,2 mol Aceton), 5,58 (s/ca. 0,3 mol CH₂Cl₂). - ¹³C-NMR. (Dioxan-d₈^{30,58)}, ca. 0,11M, Dioxan-d₈ als interner Standard; kursive Werte beziehen sich auf Signale geringer Intensität (ca. 15% des Hauptpiks), sehr wahrscheinlich vom (13²S)-Epimer stammend): 10,1, 10,9 und 12,7 (3 qa/C(2¹), C(8²), C(12¹)); 22,5 (qa/C(7¹), C(18¹)); 29,3 (qa/Aceton); 29,5, 29,9 und 30,1 (3 t/C(8²), C(17¹), C(17²)); 31,8 (qa/C(3²)); 47,2, 47,6, 48,1, 48,5, 49,3, 50,3 und 55,4 (7 d/C(7), C(8), C(17), C(18)); 50,5, 51,2 und 51,5 (3 qa²/CH₃O-C(13³), CH₃O-C(17³)); 63,7, 64,5, 65,4, 66,3 und 67,1 (Dioxan-d₈); 64,7 und 65,9 (2 d/C(13²)); 64,9, 65,8 und 66,6 (Dioxan-d₇); 94,9, 95,4, 98,9, 99,2, 100,5 und 101,0 (6 d/C(5), C(10), C(20)); 109,0 (s/C(15)); 125,9, 130,5, 135,4, 140,3, 147,4, 157,9, 158,4, 163,6 und 165,7 (9 s²/12 quartäre Ring-C); 169,8 (s/C(13³)); 172,3 (s/C(17³));

⁵⁵⁾ Bisher wurde **12** durch enzymatische Umesterung (Chlorophyllase) von Bakteriochlorophyll a hergestellt [41]; präparative Komplexierung nicht bekannt (vgl. Fussnote 23).

⁵⁶⁾ Hergestellt durch Umesterung [47] von Bakteriophäophytin aus *Chromatium-D*-Extrakt (Prof. H. Brockmann, jr.) bzw. gefriergetrockneten *Rhodospirillum rubrum* (Prof. G. Drews); Arbeitsvorschrift und Daten s. [20] bzw. [4]. Das kristalline, DC.-reine **11** wurde vor der Komplexierung 24 Std. i.HV. bei RT. getrocknet.

⁵⁷⁾ Bei diesem blauen, allomer-artigen Nebenprodukt, das in den verwendeten DC.-Systemen und auf der Säule am Startpunkt zurückblieb, handelt es sich möglicherweise um den 13²-(2,6-Di-*t*-butyl-4-methylphenoxy)bakteriochlorophyllid-a-methylester, vgl. Fussnote 49 und [4], S. 55-57.

⁵⁸⁾ Merck, Uvasol, mind. 99% D; über Kalium destilliert, vor Gebrauch über Alox filtriert.

187,4 (s/C(13¹)); 197,1 (s/C(3¹)); Aceton-C=O und CH₂Cl₂ vermutlich wegen zu geringer Intensität nicht sichtbar; Fremdsignale geringer Intensität bei 0,2, 12,5, 21,8, 22,1 und 22,2. Die obige Zuordnung der Signale erfolgte versuchsweise in Analogie zum ¹³C-NMR. von **3** bzw. **7** [23] und von selektiv ¹³C-markiertem Bakteriophäophytin **a** [32]; ¹³C-NMR. von **11** (s. [4]), **12** und Bakteriophilchlorophyll **a** wurden bisher nicht veröffentlicht.

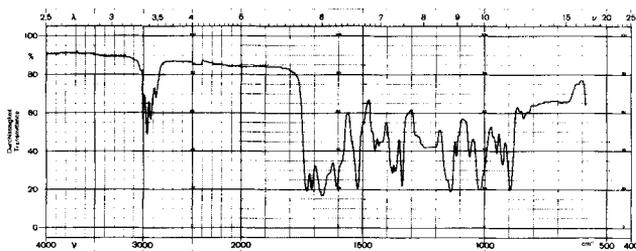
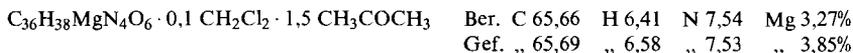


Fig. 9. IR.-Spektrum von Bakteriophilchlorophyllid-a-methylester (**12**) in CHCl₃ (c=3%)

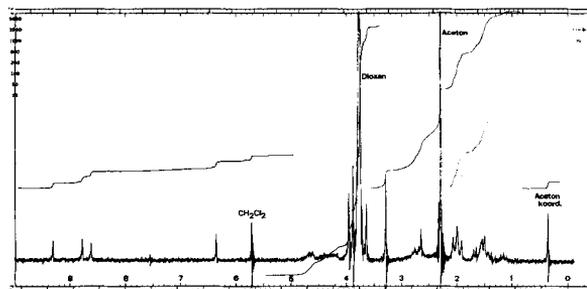
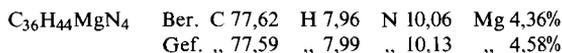


Fig. 10. ¹H-NMR.-Spektrum von Bakteriophilchlorophyllid-a-methylester (**12**) in Dioxan-d₈ (ca. 0,08M)

Die Mutterlaugen, die ausser **12** noch geringe Mengen des Allomers von **12** (Rf 0,14; Kieselgel, Hexan/Aceton 1:1) enthielten, wurden zur Rückgewinnung des Ausgangsmaterials **11** mit 1N HCl dekomplexiert und auf Kieselgel mit CCl₄/Aceton 96:4 chromatographiert: 29 mg (23%) **11**.

*Herstellung von Magnesium-oktaäthylporphyrinat (14)*⁵⁹. Im Dunkeln wurden 160 mg (0,3 mmol) Oktaäthylporphyrin (**13**; DC.-rein, kristallin) in 20 ml Chloroform unter Argon durch leichtes Erwärmen vollständig gelöst und auf 50° erwärmt. Zu dieser Lösung wurden mittels Spritze 12 ml (2,4 mmol) 0,2M Lösung von **1** gegeben. Das Gemisch wurde 3 Min. gerührt und dann mit 600 ml Äther/«Phosphatpuffer»/Wasser 6:1:5 aufgearbeitet, die organische Phase noch 2mal mit Wasser gewaschen und durch eine 0,5 cm hohe Schicht Na₂SO₄ auf einer Glasfilternutsche G3 filtriert (mit etwas Äther nachgespült). Nach Eindampfen i.RV. und Entfernen des Phenolderivats durch Sublimation³³) wurde das Rohprodukt im Dunkeln fraktioniert aus MC/Hexan kristallisiert: insgesamt 135 mg (80%) DC.-reines **14** (auf DC.-Folien Kieselgel *Woelm* mit Hexan/Aceton 9:1 Rf(**14**) 0,16, vgl. Rf(**13**) 0,45), das nach 4 Tagen Trocknen i.HV. bei RT. folgende Daten zeigte: Smp. 320° (Zers.). - UV./VIS. (MC, c=32,10 · 10⁻⁶M): 580 (4,196), 543 (4,252), 504 (3,382), 408,5 (5,611), 388 (4,562), 335 (4,338); min. 565 (3,49), 515 (3,33), 485 (3,27), 391,5 (3,71), 357 (3,17). Für UV./VIS. in Benzol bzw. Äther, IR. (MC, KBr-Pressling) und ¹H-NMR. (CDCl₃) sowie MS. s. [20] (IR. und ¹H-NMR. in Übereinstimmung mit den publizierten Werten für **14** [51] bzw. **14** · 2 Chinolin [50]).



⁵⁹) Die erste Komplexbildung **13**→**14** erfolgte 1929 mit MgO/KOH/CH₃OH, 4 Std. bei 180° [48]; in der Literatur finden sich neuere Vorschriften zur Herstellung des Bis(pyridin)-Komplexes von **14** (Mg(ClO₄)₂/18 Std. in siedendem Pyridin [49]) bzw. des Bis(chinolin)-Komplexes von **14** (Mg-acetylacetonat/Chinolin/270°/20 Min. [50]).

Aus den Mutterlaugen, die neben **14** laut UV/VIS. noch etwas metallfreien Liganden **13** enthielten, wurden nach Dekomplexierung mit halbkonz. HCl-Lösung und Kristallisation 22 mg (14%) DC.-reines Oktaäthylporphyrin (**13**) zurückgewonnen.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. P. Isenring, E. Zass, K. Smith, H. Falk, J.-L. Luisier & A. Eschenmoser, *Helv.* 58, 2357 (1975).
- [2] S. G. Boxer & G. L. Closs, *J. Amer. chem. Soc.* 98, 5406 (1976); M. R. Wasielewski, M. H. Studier & J. J. Katz, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 73, 4282 (1976); M. R. Wasielewski, U. H. Smith, B. T. Cope & J. J. Katz, *J. Amer. chem. Soc.* 99, 4172 (1977); M. R. Wasielewski, W. A. Svec & B. T. Cope, *ibid.* 100, 1961 (1978); S. G. Boxer & R. R. Bucks, *ibid.* 101, 1883 (1979).
- [3] M. R. Wasielewski, *Tetrahedron Letters* 1977, 1373.
- [4] E. Zass, «Untersuchungen zum Einbau des Magnesiums in Liganden der Chlorophyll-Reihe», Diss. ETH Zürich Nr. 5965, aku-Fotodruck, Zürich 1977.
- [5] M. Strell & T. Urumow, *Liebigs Ann. Chem.* 1977, 970.
- [6] R. Willstätter & A. Stoll, «Untersuchungen über Chlorophyll», Springer-Verlag, Berlin 1913; a) S. 192–193; b) S. 201; c) S. 279–281, 284 und 285.
- [7] R. B. Woodward, W. A. Ayer, J. M. Beaton, F. Bickelhaupt, R. Bonnett, P. Buchschacher, G. L. Closs, H. Dutler, J. Hannah, F. P. Hauck, S. Itô, A. Langemann, E. LeGoff, W. Leimgruber, W. Lwowski, J. Sauer, Z. Valenta & H. Volz, *J. Amer. chem. Soc.* 82, 3800 (1960); R. B. Woodward, *Angew. Chemie* 72, 651 (1960); *idem*, *Pure appl. Chemistry* 2, 383 (1961); *idem*, *Ind. chim. (Belge)* 1962, 1293.
- [8] H. H. Inhoffen, P. Jäger & R. Mählihop, *Liebigs Ann. Chem.* 749, 109 (1971).
- [9] a) H. Fischer & G. Spielberger, *Liebigs Ann. Chem.* 515, 130 (1935); b) H. Fischer & S. Goebel, *Liebigs Ann. Chem.* 524, 269 (1936); c) H. Fischer & G. Spielberger, *Liebigs Ann. Chem.* 510, 156 (1934).
- [10] H. Fischer, L. Filser & E. Plötz, *Liebigs Ann. Chem.* 495, 1 (1932); H. Fischer & J. Riedmair, *Liebigs Ann. Chem.* 506, 107 (1933).
- [11] R. Willstätter & L. Forsén, *Liebigs Ann. Chem.* 396, 180 (1913).
- [12] A. Stoll & E. Wiedemann, «Chlorophyll», *Fortschr. chem. Forsch.* 2, 538, insbesondere 553, 576 (1952).
- [13] L. P. Vernon & G. R. Seely, 'The Chlorophylls', Academic Press, New York 1966.
- [14] R. Etter, «Derivate der Chlorophyll-Reihe», Diss. ETH Zürich Nr. 6384, aku-Fotodruck, Zürich 1979.
- [15] H. H. Strain & W. M. Manning, *J. biol. Chemistry* 146, 275 (1942).
- [16] J. J. Katz, G. D. Norman, W. A. Svec & H. H. Strain, *J. Amer. chem. Soc.* 90, 6841 (1968).
- [17] I. Fleming, *Nature* 216, 151 (1967).
- [18] a) C. Houssier & K. Sauer, *J. Amer. chem. Soc.* 92, 779 (1970); b) I. R. Prokhorenko, V. M. Lobachev & V. M. Kuturyn, *Ž. obšč. Chim.* 46, 2147 (1976).
- [19] P. H. Hynninen, *Acta chem. Scand.* 27, 1487 (1973).
- [20] H. P. Isenring, «Neue Derivate der Chlorophyll-Reihe», Diss. ETH Zürich Nr. 5369, Juris-Verlag, Zürich 1974.
- [21] H. Falk, G. Hoornaert, H. P. Isenring & A. Eschenmoser, *Helv.* 58, 2347 (1975).
- [22] a) G. L. Closs, J. J. Katz, F. C. Pennington, M. R. Thomas & H. H. Strain, *J. Amer. chem. Soc.* 85, 3809 (1963); b) J. J. Katz, R. C. Dougherty & L. J. Boucher, 'Infrared and Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Chlorophyll' in *l.c.* [13], S. 185–251; c) J. J. Katz, G. L. Closs, F. C. Pennington, M. R. Thomas & H. H. Strain, *J. Amer. chem. Soc.* 85, 3801 (1963).
- [23] a) S. G. Boxer, G. L. Closs & J. J. Katz, *J. Amer. chem. Soc.* 96, 7058 (1974); b) R. A. Goodman, E. Oldfield & A. Allerhand, *J. Amer. chem. Soc.* 95, 7553 (1973); c) J. J. Katz & T. R. Janson, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 206, 579 (1973).
- [24] F. C. Pennington, H. H. Strain, W. A. Svec & J. J. Katz, *J. Amer. chem. Soc.* 86, 1418 (1964).
- [25] a) J. H. C. Smith & A. Benitez, 'Chlorophylls: Analysis in Plant Materials', in K. Paech & M. V. Tracey, 'Modern Methods of Plant Analysis', Vol. IV, Springer-Verlag, Berlin 1955, S. 148–154; b) H. H. Strain, M. R. Thomas & J. J. Katz, *Biochim. biophys. Acta* 75, 306 (1963); c) G. R. Seely &

- R. G. Jensen, *Spectrochim. Acta* 21, 1835 (1965); d) L. P. Vernon, *Analyt. Chemistry* 32, 1144 (1960); e) L. L. Shipman, T. M. Cotton, J. R. Norris & J. J. Katz, *J. Amer. chem. Soc.* 98, 8222 (1976); f) K. Sauer, J. R. L. Smith & A. J. Schultz, *ibid.* 88, 2681 (1966); g) A. D. Trifunac & J. J. Katz, *ibid.* 96, 5233 (1974).
- [26] E. Walter, J. Schreiber, E. Zass & A. Eschenmoser, *Helv.* 62, 899 (1979).
- [27] A. S. Holt & E. E. Jacobs, *Amer. J. Botany* 41, 710 (1954).
- [28] a) F. C. Pennington, H. H. Strain, W. A. Svec & J. J. Katz, *J. Amer. chem. Soc.* 89, 3875 (1967); b) A. S. Holt, *Canad. J. Biochemistry Physiol.* 36, 439 (1958); c) *L.c.* [13], S. 91-94; P. Hynninen & S. Assandri, *Acta chem. Scand.* 27, 1478 (1973).
- [29] A. Weller, *J. Amer. chem. Soc.* 76, 5819 (1954); R. Felton, G. M. Sherman & H. Linschütz, *Nature* 203, 637 (1964).
- [30] H. Scheer & J. J. Katz, *J. Amer. chem. Soc.* 97, 3273 (1975); *idem*, *ibid.* 100, 561 (1978).
- [31] B. Jaun, «Spektroskopische Untersuchungen von Kationradikalen enolisierter Chlorophyllderivate», Diss. ETH Zürich Nr. 6259, Juris-Verlag, Zürich 1979.
- [32] E. Walter, «Die chemische Natur der Pigmente aus photosynthetischen Reaktionszentren von *Rhodospirillum rubrum G-9+*», Diss. ETH Zürich Nr. 6106, 1978.
- [33] K. Iriyama, N. Ogura & A. Takamiya, *J. Biochemistry (Japan)* 76, 901 (1974); K. Iriyama, M. Shiraki & M. Yoshiura, *Chemistry Letters* 1977, 787.
- [34] J. J. Katz, L. L. Shipman, T. M. Cotton & T. R. Janson, 'Chlorophyll Aggregation: Coordination Interactions in Chlorophyll Monomers, Dimers, and Oligomers' in D. Dolphin, 'The Porphyrins', Vol. V, Academic Press, New York 1978, S. 401, und darin zitierte Literatur.
- [35] P. Kis, *Analyt. Biochemistry* 96, 126 (1979).
- [36] a) J. K. M. Sanders, J. C. Waterton & I. S. Dennis, *J. chem. Soc. Perkin I* 1978, 1150; b) S. R. Brown, *J. Fish. Res. Board Canad.* 25, 523 (1968).
- [37] a) A. Stoll & E. Wiedemann, *Helv.* 42, 679 (1959); b) A. S. Holt & E. E. Jacobs, *Plant Physiol.* 30, 553 (1955); c) A. F. H. Anderson & M. Calvin, *Arch. Biochemistry Biophysics* 107, 251 (1964); K. Ballschmiter & J. J. Katz, *J. Amer. chem. Soc.* 91, 2661 (1969).
- [38] a) E. E. Jacobs, A. E. Vatter & A. S. Holt, *Arch. Biochemistry Biophysics* 53, 228 (1954); b) *idem*, *J. chem. Physics* 21, 2246 (1953); L. P. Zill, G. Colmano & H. J. Trurnit, *Science* 128, 478 (1958); A. F. H. Anderson & M. Calvin, *Nature* 194, 285 (1962); *idem*, *ibid.* 199, 241 (1963); G. Sherman & E. Fujimori, *ibid.* 219, 375 (1968).
- [39] H. J. Trurnit & G. Colmano, *Biochim. biophys. Acta* 31, 434 (1959).
- [40] a) C. Kratky, «Kristallstruktur von Chlorophyllderivaten», Diss. ETH Zürich Nr. 5760, aku-Fotodruck, Zürich 1976; b) C. Kratky & J. D. Dunitz, *Acta crystallogr.* B31, 1586 (1975); c) *idem*, *ibid.* B33, 545 (1977); d) C. Kratky, H. P. Isenring & J. D. Dunitz, *ibid.* B33, 547 (1977); e) C. Kratky & J. D. Dunitz, *J. mol. Biol.* 113, 431 (1977).
- [41] a) H. Fischer, R. Lambrecht & H. Mittenzwei, *Z. physiol. Chem.* 253, 1 (1938); b) A. S. Holt & E. E. Jacobs, *Amer. J. Botany* 41, 718 (1954).
- [42] R. Bonnett, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 206, 745 (1973); *IUPAC & IUB, Pure appl. Chemistry* 51, 2251 (1979).
- [43] H. Fischer & W. Schmidt, *Liebigs Ann. Chem.* 519, 244 (1935).
- [44] A. H. Corwin & P. E. Wei, *J. org. Chemistry* 27, 4285 (1962); P. E. Wei, A. H. Corwin & R. Arellano, *J. org. Chemistry* 27, 3344 (1962).
- [45] H. Scheer, J. J. Katz & J. R. Norris, *J. Amer. chem. Soc.* 99, 1372 (1977).
- [46] H. Fischer, L. Filser, W. Hagerl & O. Moldenhauer, *Liebigs Ann. Chem.* 490, 1 (1931).
- [47] H. Fischer & J. Hasenkamp, *Liebigs Ann. Chem.* 515, 148 (1935); H. Brockmann, jr., «Zur Stereochemie der Chlorophylle», Habilitationsschrift TU Braunschweig, Bönecke-Druck, Clausthal-Zellerfeld 1969, S. 89.
- [48] H. Fischer & R. Bäumler, *Liebigs Ann. Chem.* 468, 58 (1929).
- [49] J.-H. Fuhrhop & D. Mauzerall, *J. Amer. chem. Soc.* 91, 4174 (1969).
- [50] J. W. Buchler, G. Eikermann, L. Puppe, K. Rohbock, H. H. Schneehage & D. Weck, *Liebigs Ann. Chem.* 745, 135 (1971).
- [51] H. Ogoshi, N. Masai, Z. Yoshida, J. Takemoto & K. Nakamoto, *Bull. Chem. Soc. Japan* 44, 49 (1971).
- [52] H. Biere, «Ein Weg zum Protochlorophyll und Untersuchungen an 10-substituierten, diastereomeren Phorbinen», Diss. TH Braunschweig, Mösel-Druck, Wolfenbüttel 1966, S. 57.
- [53] H. Wolf & H. Scheer, *Liebigs Ann. Chem.* 745, 87 (1971).