

Zur Chemie von Pyrrolpigmenten, 55. Mitt.¹:

Phytochrommodellstudien: Zum Einfluß nicht konjugierter Ladungen auf den 2,3-Dihydrobilatrien-abc-Chromophor

Heinz Falk* und Ulrich Zrunek

Institut für Analytische, Organische und Physikalische Chemie,
Johannes-Kepler-Universität Linz, A-4040 Linz, Österreich

(Eingegangen 4. Januar 1984. Angenommen 19. Januar 1984)

*On the Chemistry of Pyrrole Pigments, LV:
Phytochrome Model Studies: On the Influence of Non-Conjugated Charges on the
2,3-Dihydrobilatriene-abc Chromophor*

2,3-Dihydrobilatrienes-abc substituted with carboxy and amino residue bearing groups in 3- and 12-positions have been prepared. Spectrophotometric titrations of these derivatives revealed that the influence of a non-conjugated positive or negative charge in the vicinity of the chromophore has only marginal influence on the absorption spectra. Rather small hypsochromic and bathochromic shifts of the long wavelength absorption band were observed and are discussed with respect to their origin. The results indicate that the influence of non-conjugated charges is not a main reason for spectral shifts accompanying photochemical and thermal transformations of the phytochrome chromophore.

(*Keywords: 2,3-Dihydrobilatrienes-abc; Non-conjugated charges; Phytochrome models; UV-VIS spectra*)

Einleitung

Der Einfluß externer, mit einem chromophoren System nicht konjugierter Ladungsträger, wie sie in der Regel von einem Apoprotein zur Verfügung gestellt werden können, wurde vor allem für die Beschreibung spektraler Verschiebungen bei der Funktion des Bacteriorhodopsins und Rhodopsins oder des Photosyntheseapparates auf der Basis semiempirischer Modellrechnungen postuliert²⁻⁵ und auch experimentell^{6,7} studiert. Ebenso wurde eine solche Vorstellung als mögliche Erklärung der spektroskopischen Befunde auf dem Gebiete des pflanzlichen Photorezeptorsystems Phytochrom auf Grund eines quantentheoretischen Rechenverfahrens herangezogen^{8,9}. Ein solcher Einfluß

konnte auch in einer vorangegangenen Studie für den Bilatrien-abc-Chromophor dokumentiert werden¹⁰.

Die vorliegende Mitteilung beschäftigt sich mit der Synthese und spektroskopischen Charakterisierung geeigneter, geladener Modellverbindungen vom 2,3-Dihydrobilatrien-abc-Typ, um so einen experimentellen Beitrag zum Verständnis dieses Aspektes zu leisten.

Synthetische und Methodische Aspekte

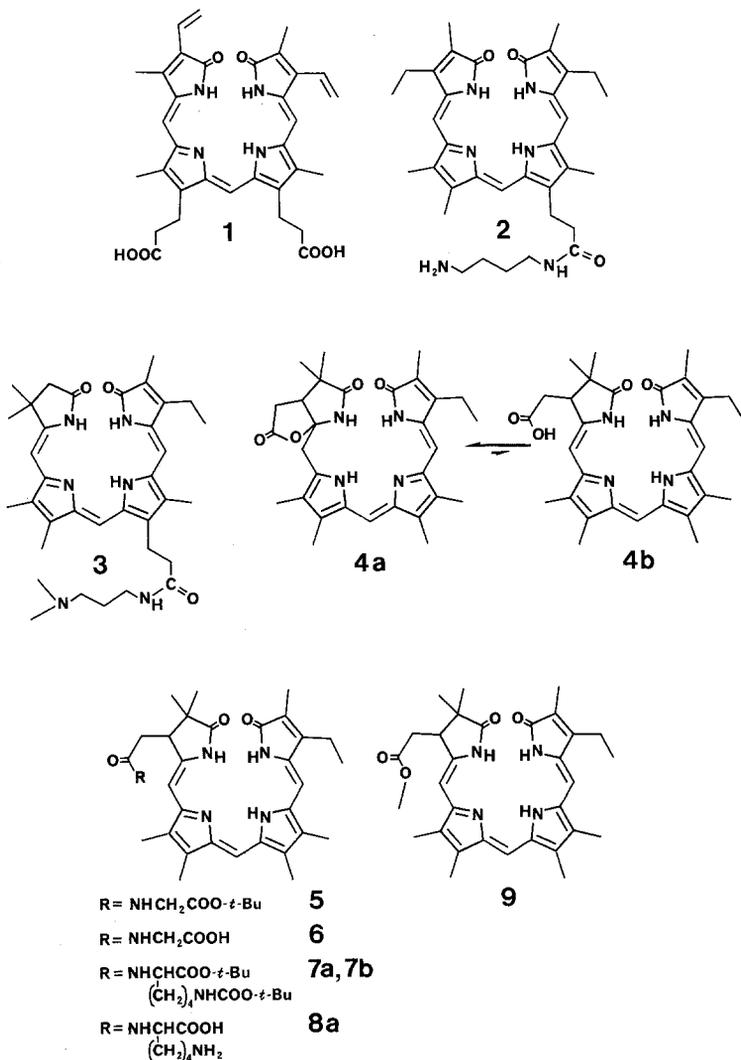
Die für ein Chromopeptid wie das Phytochrom¹¹ nächstliegenden Ladungsträger sind sicherlich die Carboxylatgruppe (C-terminale und saure Aminosäure) und die Ammoniumgruppierung (N-terminale und basische Aminosäure). Deshalb sollten die für eine solche Untersuchung optimalen Modelle über eine Carboxylgruppe oder Aminogruppe verfügen, die an das chromophore System in einer Weise gebunden wird, die eine räumliche Annäherung und damit Wechselwirkung mit demselben ermöglicht, bzw. an solchen Positionen erfolgen, die durch den Bindungstyp des Naturstoffes vorgegeben sind. Diese Forderung impliziert auch, daß die durch Protonierung bzw. Deprotonierung entstehende Ladung mit dem Chromophor nicht in konjugative Wechselwirkung treten kann.

Biliverdin **1** und das Aminoderivat **2**, das über die früher bewährte Amidierung¹² des entsprechenden Methylesters mit Putrescin erhalten werden konnte¹⁰, dienten als Modelle für die Untersuchung des Bilatrien-abc-Chromophors¹⁰. Daß die in **2** mögliche Ammoniumgruppierung in die räumliche Nähe des Chromophors gelangen kann, hat eine frühere Studie über die intramolekulare Addition an Position „10“ eines solchen Derivates ergeben¹², folgt aber auch aus der Betrachtung von Molekülmodellen. Analog dazu verläuft die Synthese des 2,3-Dihydrobilatrienderivates **3**, bei dem wegen der Basenlabilität des integralen Pigments die Amidierung schon auf der Pyrromethenonstufe erfolgen muß. Systeme, in denen die ladungstragende Gruppierung mit der Position „3“ des Chromophors verknüpft ist, werden aus der Umsetzung des Ring-Ketten-Tautomerieystems **4 a**—**4 b**¹³ mit carboxylgeschützten α -Aminosäuren in Gegenwart von Dicyclohexylcarbodiimid zugänglich (z. B. **6** nach saurer Abspaltung der Schutzgruppe aus der Verbindung **5**). Dabei erhält man im Falle des chiralen Aminosäurederivates ein Diastereomergemisch (**7 a**, **7 b**), das chromatographisch trennbar ist. Aus **7 a** wird durch Behandeln mit Trifluoressigsäure das Lysinderivat **8 a**, das jeweils über eine freie Amino- und Carboxylgruppe verfügt, zugänglich.

Die Untersuchung des Ladungseinflusses auf den Chromophor erfolgte durch spektrophotometrische Titration mit Säure oder Base, wie dies in einer vorangegangenen Studie¹⁰ beschrieben wurde.

Ergebnisse und Diskussion

Titriert man in Analogie zum Bilatrienderivat **2** das Dihydrosystem **3** zunächst im polaren Lösungsmittel mit Säure, so wird wie bei **2** ein gleichmäßig verlaufender Übergang zwischen dem Absorptionsspek-



trum von **3** zu jenem des Typs der „Iminprotonierung“ erhalten. Dabei werden zwei Äquivalente Säure verbraucht und keine Hinweise auf eine Zwischenspezies mit eigenständigem Absorptionsspektrum erhalten. So findet man in Dimethylsulfoxid/Wasser (70% w/w) die langwellige

Bande von **3** bei 590 nm — sie wird unter Intensivierung mit einem isosbestischem Punkt bei 586 nm auf 655 nm verschoben. In Methanol wird eine Verschiebung von 576 nm auf 648 nm beobachtet. Wie schon früher¹⁰, wird auch hier auf Grund vorangegangener Messungen vorausgesetzt, daß der pK_a für die Protonierung des Chromophor-Iminostickstoffs im Bereich von 4–5, jener für die nicht konjugierte Aminogruppe um 13 und jener für die nicht konjugierte Carboxylgruppe bei 4–5 liegt.

Im Gegensatz zu **2** wird aber für **3** bei Titration in Chloroform lediglich das Bild erhalten, das für die einfache Protonierung eines Dihydrobilatriens typisch ist (Abb. 1): Ausgehend vom Bistrifluoracetat $\mathbf{3} \cdot 2 \text{H}^+$ wird nach Zusatz eines Äquivalentes Ethyldiisopropylamin — gekennzeichnet durch eine saubere Isosbestik (545 nm) — die Zwischenstufe $\mathbf{3} \cdot \text{H}^+$ erhalten. Zusatz eines weiteren Äquivalents Base führt zur freien Base **3** (577 nm), ein Vorgang, der von keiner weiteren Änderung im Absorptionsspektrum begleitet wird. Das bisprotonierte Produkt $\mathbf{3} \cdot 2 \text{H}^+$ zeigt das typische Absorptionsverhalten eines iminoprotonierten Dihydrobilatriens (605 nm). Allerdings findet man hier im Vergleich zum Protonierungsprodukt eines „einfachen“ Dihydrobilatriens¹⁴ (wie $\mathbf{9} \cdot \text{H}^+$) eine *hypsochrome* Verschiebung von 15 nm! Eine analoge, allerdings stärker betonte *hypsochrome* Verschiebung hatte man auch im Falle von $\mathbf{2} \cdot \text{H}^+$ (ca. 30 nm) beobachten können¹⁰. Für die dazwischen liegende Spezies $\mathbf{3} \cdot \text{H}^+$ gibt es jedoch keine Hinweise darauf, daß sich ihr Absorptionsverhalten merklich von jenem der unprotonierten Verbindung **3** unterscheidet.

Wie im Falle der Verbindung **1**¹⁰ erhält man durch die Titration von **6** keinen Hinweis darauf, daß die Ausbildung eines nicht konjugierten Carboxylations in der Umgebung des Chromophors einen Einfluß auf das Absorptionsverhalten desselben zur Folge hat: Beginnt man bei **6** die Titration bei der iminoprotonierten Spezies $\mathbf{6} \cdot \text{H}^+$ mit Ethyldiisopropylamin in Chloroform (620 nm, vgl. $\mathbf{5} \cdot \text{H}^+$: 620 nm), so wird nach Zusatz eines Äquivalentes das Spektrum des Zwitterions $\mathbf{6} (= \mathbf{6}^{+-}; 613 \text{ nm})$ erhalten. Zusatz eines weiteren Äquivalents Base führt zu $\mathbf{6}^-$, dessen Absorptionsspektrum (580 nm) sich von jenem der freien Base **5** (588 nm) nur geringfügig unterscheidet. Für die erste Stufe wird ein sauberer isosbestischer Punkt bei 535 nm, für die zweite Stufe ein solcher bei 575 nm beobachtet. Der Einfluß einer negativen Ladung in der Umgebung des Chromophors führt hier also bestenfalls zu einer marginalen *hypsochromen* Verschiebung der langwelligen Bande von 8 nm. Im polaren Lösungsmittelsystem Dimethylsulfoxid/Wasser (70% w/w) ist dieser Effekt allerdings wiederum praktisch verschwunden: $\mathbf{6} \cdot \text{H}^+$ bzw. $\mathbf{5} \cdot \text{H}^+$ absorbieren bei 658 bzw. 660 nm, **5** bzw. $\mathbf{6}^-$ bei 595 bzw. 598 nm, so daß man hier kaum mehr von signifikanten Einflüssen des Carboxylations sprechen kann.

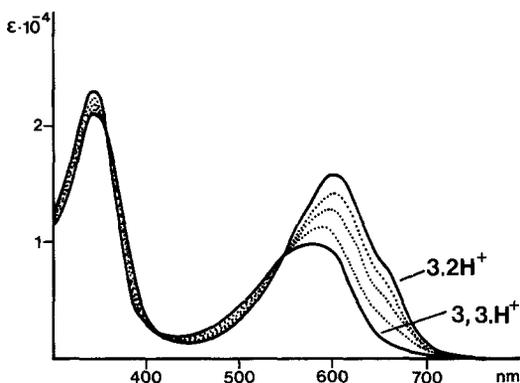


Abb. 1. Titration von $3 \cdot 2H^+$ in $CHCl_3$ mit 2 Äquivalenten Ethyldiisopropylamin in Schritten von 0,25 Äquivalenten (...) [$c = 4 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$]

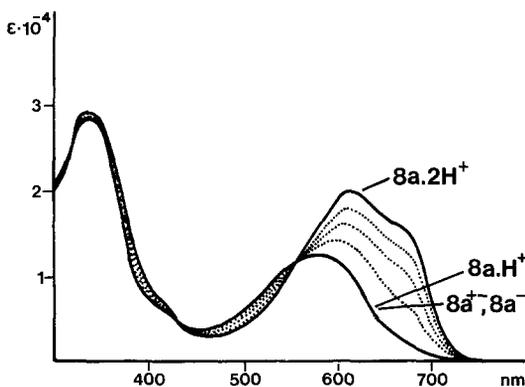


Abb. 2. Titration von $8a \cdot 2H^+$ mit 3 Äquivalenten Ethyldiisopropylamin in Schritten von 0,25 Äquivalenten (...) [$c = 5 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$]

Beide Möglichkeiten des Ladungseinflusses können schließlich an **8** studiert werden, bei welchem in einer Titration sowohl das Anion als auch das Kation des externen Substituenten gebildet werden kann. Dabei ist insbesondere der Vergleich mit den Daten der geschützten Verbindung **7** aufschlußreich: Abb. 2 zeigt ein solches Experiment, in dem ausgehend vom Bistrifluoracetat $8a \cdot 2H^+$ durch Zusatz von insgesamt drei Äquivalenten Ethyldiisopropylamin das Carboxylation $8a^-$ erhalten wird. Zugabe eines Äquivalentes führt zum Spektrum von $8a \cdot H^+$, dessen Absorptionsspektrum (589 nm) um 10 nm *bathochrom* gegenüber jenem von **7a** (579 nm) verschoben ist. Weiterer Zusatz eines

Äquivalentes ändert nichts am Spektrum von $8a \cdot H^+$. Das hierbei gebildete Zwitterion $8a^{+-}$ wird durch weitere Basenzugabe in das Carboxylation $8a^-$ übergeführt. Bei dieser Umsetzung wird ebenfalls keine Änderung des Absorptionsspektrums beobachtet. Die isosbestischen Punkte liegen für diese Vorgänge für **7a** bzw. **8a** bei 553 bzw. 562 nm. Die geringe Verschiebung wird jedoch wiederum beim Übergang zu polaren Lösungsmitteln aufgehoben. So liegt die langwellige Bande von **7a** in Methanol bei 577 nm, jene von $8a^-$ bei 576 nm.

Insgesamt stellt sich beim chromophoren System der 2,3-Dihydrobilatriene-abc also heraus, daß nicht konjugierte positive Ladungen praktisch keinen Einfluß auf die Absorption des Systems nehmen — lediglich auf das konjugiert protonierte chromophore System wirkt sie mit einer geringen hypsochromen Verschiebung ein. Dieser Effekt tritt in verstärktem Maß bei den Bilatrienen-abc auf¹⁰. Bei den Bilatrienen-abc wird jedoch eine ausgeprägte bathochrome Verschiebung der langwelligen Bande durch das externes Ammoniumion beobachtet¹⁰.

Im Falle des nicht konjugierten Anions erhält man für Bilatriene-abc praktisch keinen Effekt¹⁰. Die 2,3-Dihydrobilatriene-abc lassen geringfügige Einflüsse dieser Art erkennen, die sich jedoch sowohl als bathochrome, als auch als hypsochrome Verschiebungen bemerkbar machen können.

Als Ursache für die beobachteten Verschiebungen kommen in erster Linie Wechselwirkungen zwischen Chromophor-Orbitalen und Ladungen, wie sie in semiempirischen Modellrechnungen^{8,9} vorgeschlagen werden, in Frage. Eine geringfügige Verschiebung in den Populationen von Konformerenfamilien im Bereich des energetischen Minimums¹⁵ als Folge der Wechselwirkung zwischen Ladung und permanenten Momenten bzw. anderen Ladungen (s. $3 \cdot 2 H^+$ oder $8a \cdot 2 H^+$) ist aber sicherlich ebenfalls zur Diskussion zu stellen. Da die beobachteten spektralen Verschiebungen aber eher marginale Größe aufweisen, neigen wir zur Ansicht, daß sie für die Diskussion von spektralen Verschiebungen bei den thermischen und photochemischen Transformationen des Phytochroms¹¹ in erster Näherung außer acht gelassen werden können. An dieser Stelle sei auch angemerkt, daß unabhängige externe Ladungen praktisch keinen Einfluß auf das Absorptionsspektrum von 2,3-Dihydrobilatrienen haben: So erfährt z. B. das Absorptionsspektrum von **9** in $CHCl_3$ bei Zusatz der 10^4 -fachen Menge von Tetramethylammoniumbromid keine merkliche Veränderung.

Dank

Die vorliegende Untersuchung wurde vom Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Projekt Nr. P 4606) unterstützt.

Experimenteller Teil

Schmelzpunkte bestimmte man mit einem Kofler-Heiztischmikroskop (Reichert); die $^1\text{H-NMR}$ -, IR-, M- und UV-VIS-Spektren erhielt man mit Hilfe der Bruker-WM 360-, Zeiss-IMR-25-, Finnigan-MAT-115- und Perkin-Elmer-330-Spektrometer. Als Titrationslösungsmittel verwendete man CHCl_3 (Uvasol, Merck), vor Gebrauch über Al_2O_3 (Akt. II) perkoliert, CH_3OH (Uvasol, Merck) und *DMSO* (Uvasol, Merck).

(*Z*)-3-Ethyl-3',4-dimethyl-5'-formyl-5(1*H*)-2,2'-pyrromethenon-4'-*N*¹-(*N*³-dimethyl-1,3-diaminopropyl)-propionsäureamid [$\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_3$]

83 mg (*Z*)-3-Ethyl-4,3'-dimethyl-4'-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-5'-formyl-5(1*H*)-2,2'-pyrromethenon¹⁶ (0,27 mmol) wurden in 3 ml *N*¹,*N*¹-Dimethyl-1,3-diaminopropan¹⁷ gelöst und 3 h bei 110 °C gerührt. Danach wird in H_2O aufgenommen, mit CH_3COOH angesäuert und 2 h stehengelassen. Anschließend wird mit NH_3 basisch gemacht, mehrmals mit CH_2Cl_2 ausgeschüttelt, mit H_2O gewaschen, mit Na_2CO_3 getrocknet und abrotiert. Säulenchromatographie (Alox 60; Merck: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_3$ -konz. = 100/5/0,25). Ausbeute: 75 mg (71% d. Th.); Schmp.: 217–220 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ , 360 MHz): 9,71 (s, CHO); 7,17 (t, breit, $\text{CH}_2\text{-CNHO}$), 5,96 (s, =HC-), 3,28 (m, $\text{-CH}_2\text{CNHO}$), 3,07 (t, $J = 7,6$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-CO}$), 2,53 (q, $J = 7,6$ Hz, CH_2CH_3), 2,43 (t, $J = 7,6$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 2,30 [t, $J = 6,6$ Hz, $\text{CH}_2\text{-N}(\text{CH}_3)_2$], 2,18 (s, $2 \times \text{NCH}_3$), 2,12 (s, CH_3), 1,95 (s, CH_3), 1,61 (t, t, $J_1 = 6,6$ Hz, $J_2 = 6,6$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 1,18 (t, $J = 7,6$ Hz, CH_2CH_3) ppm.

IR (KBr): 1 685, 1 660, 1 640 cm^{-1} .

UV (CHCl_3): 273 (20 000), 405 (25 000), 424 (sh, 22 000) nm (ϵ).

MS (FD; 6,5 kV, 25 mA): $M = 400,2$; $M_{\text{ber.}} = 400,25$.

(4*Z*,9*Z*,15*Z*)-17-Ethyl-1,19-dioxo-3,3,7,8,13,18-hexamethyl-1,2,3,19,23,24-hexahydro-21*H*-bilin-12-*N*¹-(*N*³-dimethyl-1,3-diaminopropyl)-propionsäureamid-bis-trifluoracetat [$3 \cdot 2 \text{H}^+$; $\text{C}_{35}\text{H}_{48}\text{N}_6\text{O}_3 \cdot 2 (\text{CF}_3\text{COOH})$]

43 mg (0,11 mmol) des obigen Pyrromethenons werden mit 34 mg (0,11 mmol) (*Z*)-1,3,4,5-Tetrahydro-3,3,3',4'-tetramethyl-5-oxo-2,2'-pyrromethen-5'-carbonsäure-*tert*-butylester¹⁸ in 3 ml Trifluoressigsäure (Merck) gelöst und 30 min gerührt. Nach Abkühlen auf 0° werden 30 ml CH_3OH hinzugefügt und noch weitere 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird mit H_2O verdünnt, mehrmals mit CH_2Cl_2 ausgeschüttelt, 2 × mit H_2O gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet und abrotiert. Gereinigt wird mittels Säulenchromatographie (Alox 60, Merck: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_3$ konz. = 100/2/0,25). Das Eluat wird 2 × mit H_2O gewaschen, getrocknet und mit 0,1 ml Trifluoressigsäure (Uvasol, Merck) versetzt. Abschließend wird mehrmals mit je 2 ml CH_2Cl_2 und zuletzt mit 1 ml CH_3OH abrotiert. Ausbeute: 87 mg (98% d. Th.); Schmp. 100–104 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , δ , 360 MHz): 7,50 (s, =HC-10), 6,33 (s, =HC-15), 5,72 (s, =HC-5), 3,20 [t, $J = 6,6$ Hz, $\text{CH}_2\text{-N}(\text{CH}_3)_2$], 3,12 (m, $\text{-CH}_2\text{CNHO}$), 3,12 (t, verdeckt, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 2,86 (s, $2 \times \text{NCH}_3$), 2,62 (q, $J = 7,6$ Hz, CH_2CH_3), 2,52 (t, $J = 7,1$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 2,43 (s, CH_3), 2,41 (s, $\text{CH}_2\text{-2}$), 2,23 (s, CH_3), 2,14 (s, CH_3), 1,89 (m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 1,78 (s, $\text{CH}_3\text{-18}$), 1,40 (s, $2 \times \text{CH}_3\text{-3}$), 1,19 (t, $J = 7,6$ Hz, CH_2CH_3) ppm.

IR (KBr): 1 690, 1 660, 1 600 cm^{-1} .

UV-VIS (CHCl₃): 280 (15 800), 352 (23 000), 610 (15 300), 668 (sh, 7 600) nm (ε).

MS (FD; 6,5 kV, 25 mA): $M = 600,2$; $M_{\text{ber.}} = 600,38$.

rac-(4*Z*,9*Z*,15*Z*)-17-Ethyl-1,19-dioxo-2,2,7,8,12,13,18-heptamethyl-1,2,3,19,23,24-hexahydro-21*H*-bilin-3-*N*-tert-butoxycarbonylmethyllessigsäureamid [5; C₃₆H₄₇N₅O₅]

160 mg **4a**¹³ (0,51 mmol) und 350 mg Glycin-*tert*-butylester¹⁹ werden in 30 ml CHCl₃ gelöst. Die Lösung wird einrotiert und erneut in 50 ml CHCl₃ unter Zugabe von 116 mg Dicyclohexylcarbodiimid (0,56 mmol) gelöst. Bei 0 °C wird 16 h gerührt und danach mit 1 *N*HCl und H₂O gewaschen, abrotiert, in Benzol aufgenommen und vom Dicyclohexylharnstoff abfiltriert. Gereinigt wird mittels Dünnschichtchromatographie (Alox 150, Typ T, Merck; CH₂Cl₂/Petrol-ether/Methanol 10/20/1). Ausbeute 119 mg (61% d. Th.); Schmp.: 103–108 °C.

¹H-NMR (CDCl₃, δ, 360 MHz): 8,03 (d, d, breit, $J_1 = 5,8$ Hz, $J_2 = 3,6$ Hz; NH-CO), 6,59 (s, =HC-10), 6,08 (s, =HC-15), 5,58 (s, =HC-5), 4,01 (d, d, $J_1 = 18,4$ Hz, $J_2 = 5,8$ Hz, HCHNH), 3,74 (d, d, $J_1 = 18,4$ Hz, $J_2 = 3,6$ Hz, HCHNH), 3,19 (d, d, $J_1 = 5,9$ Hz, $J_2 = 11,1$ Hz, CH-3), 2,66 (d, d, $J_1 = 13,2$ Hz, $J_2 = 5,9$ Hz, HCH-C-3), 2,58 (d, d, $J_1 = 13,2$ Hz, $J_2 = 11,6$ Hz, HCH-C-3), 2,55 (q, $J = 7,6$ Hz, CH₂CH₃), 2,17 (s, CH₃-12), 2,11 (s, CH₃-13), 2,10 (s, breit, CH₃-8), 2,97 (s, breit, CH₃-7), 1,88 (s, CH₃-18), 1,26 (s, *tert*-butyl), 1,23 (t, $J = 7,6$ Hz, CH₂CH₃), 1,14 (s, CH₃-2) ppm.

IR (KBr): 1 735, 1 680, 1 635, 1 595 cm⁻¹.

UV-VIS (CHCl₃): 272 (18 400), 348 (32 600), 588 (14 100), nm (ε).

MS (75 eV, 150 °C): m/e (%) = 629 (M^+ , 27), 573 (7), 471 (4), 363 (6), 218 (17), 99 (21), 56 (100).

Hochaufgelöstes MS: $M_{\text{gef.}} = 629,3564 \pm 0,0015$, $M_{\text{ber.}} = 629,357719$.

rac-(4*Z*,9*Z*,15*Z*)-17-Ethyl-1,19-dioxo-2,2,7,8,12,13,18-heptamethyl-1,2,3,19,23,24-hexahydro-21*H*-bilin-3-*N*-glycyl-essigsäureamid [6; C₃₂H₃₉N₅O₅]

15 mg **5** werden in 3 ml Trifluoressigsäure (Merck, Uvasol) gelöst und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird in CH₂Cl₂ aufgenommen und mit verd. NaHCO₃-Lösung und H₂O geschüttelt, getrocknet und abrotiert. Schmp.: 162–168 °C.

¹H-NMR (CDCl₃, δ, 360 MHz): 6,70 (s, breit, =HC-10), 5,97 (s, =HC-15), 5,48 (s, breit, =HC-5), 3,94 (m, breit, HCH-COOH), 3,70 (m, breit, HCH-COOH), 3,44 (m, breit, CH-3), 3,65 (m, breit, CH₂-CON), 2,52 (q, $J = 7,6$ Hz, CH₂CH₃), 2,19 (s, CH₃-12), 2,14 (s, breit, CH₃-8), 2,08 (s, CH₃-13); 1,87 (s, CH₃-18), 1,77 (s, breit, CH₃-7), 1,22 (s, CH₃-2), 1,20 (t, $J = 7,6$ Hz; CH₂CH₃), 1,11 (s, CH₃-2) ppm.

IR (KBr): 1 735, 1 690, 1 600 cm⁻¹.

UV-VIS (CHCl₃): 272 (14 400), 330 (28 400), 362 (sh, 21 300), 615 (20 100), 650 (sh, 13 300) nm (ε).

MS (75 eV, 150 °C): m/e (%) = 474 (2), 386 (17), 225 (11), 167 (21), 149 (59), 97 (21), 83 (28), 71 (35), 57 (74), 28 (100).

MS (FD; 6,5 kV, 25 mA): $M = 573,4$, $M_{\text{ber.}} = 573,30$.

(3*S*)- und (3*R*)-(4*Z*,9*Z*,15*Z*)-17-Ethyl-1,19-dioxo-2,2,7,8,12,13,18-heptamethyl-1,2,3,19,23,24-hexahydro-21*H*-bilin-3-*N*²-(*N*⁶-*tert*-butoxycarbonyl-(*S*)-lysin-*tert*-butylester)-essigsäureamid [**7a** und **7b**; C₄₅H₆₄N₆O₇]

Die Darstellung erfolgt analog zu Verbindung **5**: Kondensation von 335 mg (1,11 mmol) *N*⁶-*tert*-Butoxycarbonyl-(*S*)-Lysin-*tert*-butylester²⁰ und 300 mg (0,58 mmol) **4a**¹³ mit 144 mg (0,7 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid. Die Reinigung erfolgt durch mehrmalige Entwicklung auf präparativen DC-Platten (Alox 150, Typ T, Merck; CH₂Cl₂/Petrolether/Methanol = 100/200/3). Vom schneller laufenden Diastereomeren erhält man 110 mg (24% d. Th.), vom langsameren 101 mg (22% d. Th.).

Spektroskopische Daten des schneller wandernden Diastereomeren vom Schmp.: 98–103 °C (**7b**):

¹H-NMR (CDCl₃, δ, 360 MHz): 7,71 (m, breit, NHCO), 6,67 (s, =HC-10), 6,12 (s, =HC-15), 5,62 (s, =HC-5), 4,51 (m, breit, CH-COO), 4,24 (m, breit, HNCOO), 3,25 (m, CH-3), 2,68 (m, breit, CH₂-NH), 2,63 (m, CH₂CON), 2,54 (q, *J* = 7,6 Hz, CH₂CH₃), 2,19 (s, CH₃-12), 2,14 (s, breit, CH₃-8), 2,10 (s, CH₃-13), 1,99 (s, breit, CH₃-7), 1,90 (s, CH₃-18), 1,43 (s, *tert*-butyl), 1,29 (s, *tert*-butyl), 1,23 (t, *J* = 7,6 Hz, CH₂CH₃), 2,18–1,20 (m, 3 × CH₂, verdeckt), 1,13 (s, CH₃-2), 1,08 (s, CH₃-2) ppm.

IR (KBr): 1735, 1685, 1635, 1595 cm⁻¹.

UV-VIS (CHCl₃): 272 (18 600), 348 (32 700), 582 (14 300) nm (ε).

MS (75 eV, 170 °C): *m/e* (%) = 279 (7), 224 (46), 159 (75), 149 (31), 99 (42), 71 (72), 57 (100).

MS (FD; 4,5 kV, 25 mA): *M* = 800,3; *M*_{ber.} = 800,48.

Spektroskopische Daten des langsamer wandernden Diastereomeren vom Schmp. 104–109 °C (**7a**):

¹H-NMR (CDCl₃, δ, 360 MHz): 8,44 (m, breit, NHCO), 6,55 (s, =HC-10), 6,07 (s, =HC-15), 5,56 (s, =HC-5), 4,62 (m, breit, HNCOO), 4,41 (m, breit, CHCOO), 3,14 (m, HC-3), 3,05 (m, CH₂-NH), 2,67 (m, CH₂CON), 2,55 (q, *J* = 7,6 Hz, CH₂CH₃), 2,17 (s, CH₃-12), 2,12 (s, CH₃-13), 2,08 (s, breit, CH₃-8), 1,95 (s, breit, CH₃-7), 1,89 (s, CH₃-18), 1,41 (s, *tert*-butyl), 1,22 (t, *J* = 7,6 Hz, CH₂CH₃), 2,20–1,20 (m, 3 × CH₂, verdeckt), 1,15 (s, *tert*-butyl), 1,14 (s, CH₃-2), 1,11 (s, CH₃-2) ppm.

IR (KBr): 1735, 1680, 1630, 1590 cm⁻¹.

UV-VIS (CHCl₃): 272 (18 500), 347 (33 900), 580 (15 100) nm (ε).

MS (75 eV, 170 °C): *m/e* (%) = 386 (5), 277 (77), 159 (82), 128 (32), 99 (44), 84 (46), 71 (62), 57 (100).

MS (FD; 4,5 kV, 25 mA): *M* = 800,5; *M*_{ber.} = 800,48.

(3*S*)- oder (3*R*)-(4*Z*,9*Z*,15*Z*)-17-Ethyl-1,19-dioxo-2,2,7,8,12,13,18-heptamethyl-1,2,3,19,23,24-hexahydro-21*H*-bilin-3-*N*²-(*S*)-lysinessigsäureamid-bis-trifluoacetat [**8a** · 2 H⁺; C₃₆H₄₈N₆O₅ · 2 (CF₃COOH)]

10 mg des obigen, am DC langsamer laufenden, Bilins **7a** werden in 1 ml Trifluoressigsäure (Merck, Uvasol) gelöst und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird mehrmals abwechselnd mit je 2 ml CH₂Cl₂ bzw. CH₃OH bei 20 °C abrotiert und zum Abschluß im Hochvakuum getrocknet. Schmp.: amorph.

¹H-NMR (CD₃OD, δ, 360 MHz): 8,50 (m, breit, NHCO), 7,27 (s, =HC-10), 6,12 (s, =HC-15), 5,61 (s, =HC-5), 4,35 (m, breit, CHCOO), 3,46 (m, CH-3), 2,83 (m, CH₂NH₂), 2,63 (m, CH₂C-3), 2,52 (q, *J* = 7,6 Hz, CH₂CH₃), 2,24 (s, 2 CH₃),

2,06 (s, CH₃), 1,98 (s, CH₃), 1,81 (s, CH₃-18), 2,24–1,65 (m, CH₂-verdeckt), 1,62 (m, breit, CH₂), 1,44 (m, breit, CH₂), 1,19 (s, CH₃-2), 1,11 (t, $J = 7,6$ Hz, CH₂CH₃), 1,04 (s, CH₃-2) ppm.

IR (CH₃OH): 1 680, 1 630, 1 595 cm⁻¹.

UV-VIS (CHCl₃): 328 (29 100), 615 (20 500), 680 (sh, 17 900) nm (ε).

MS (FD): nicht zu erhalten.

Verbindung **9** ist in Lit.²¹ beschrieben.

Literatur

- ¹ 54. Mitt.: *Edinger J., Falk H., Müller N.*, Monatsh. Chem. **115**, 837 (1984).
- ² *Nakanishi K., Balogh-Nair V., Arnaboldi M., Tsujimoto K., Honig B.*, J. Amer. Chem. Soc. **102**, 7945 (1980).
- ³ *Motto M. G., Sheves M., Tsujimoto K., Balogh-Nair V., Nakanishi K.*, J. Amer. Chem. Soc. **102**, 7947 (1980).
- ⁴ *Kakitani T., Kakitani H., Honig B., Nakanishi K.*, J. Amer. Chem. Soc. **105**, 648 (1983).
- ⁵ *Honig B., Dinner U., Nakanishi K., Balogh-Nair V., Gawinowicz M., Arnaboldi M., Motto M. G.*, J. Amer. Chem. Soc. **101**, 7084.
- ⁶ *Derguini F., Caldwell C. G., Motto M. G., Balogh-Nair V., Nakanishi K.*, J. Amer. Chem. Soc. **105**, 646 (1983).
- ⁷ *Davis R. C., Ditson S. L., Fentiman A. F., Pearlstein R. M.*, J. Amer. Chem. Soc. **103**, 6823 (1981).
- ⁸ *Suzuki H., Sugimoto T., Ishikawa K.*, J. Phys. Soc. Jap. **38**, 1110 (1975).
- ⁹ *Sugimoto T., Ishikawa K., Suzuki H.*, J. Phys. Soc. Jap. **40**, 258 (1976).
- ¹⁰ *Falk H., Müller N., Purschitzky A.*, Monatsh. Chem. **115**, 121 (1984).
- ¹¹ Siehe z. B. die Übersicht: *Rüdiger W.*, Structure and Bonding **40**, 101 (1980).
- ¹² *Falk H., Müller N., Schlederer T.*, Monatsh. Chem. **111**, 159 (1980).
- ¹³ *Falk H., Zrunek U.*, Monatsh. Chem. **115**, 101 (1984).
- ¹⁴ *Falk H., Zrunek U.*, Monatsh. Chem. **114**, 983 (1983).
- ¹⁵ *Falk H., Müller N.*, Tetrahedron **39**, 1875 (1983).
- ¹⁶ *Phieninger H., Ehl K., Klünger K.*, Ann. Chem. **743**, 112 (1971).
- ¹⁷ *Campaigne E. E., Jacoby F.*, El Crissol (Puerto Rico) **1953**, 19; C.A. **48**, 11320i (1954).
- ¹⁸ *Falk H., Grubmayr K., Kapl G., Zrunek U.*, Monatsh. Chem. **113**, 1329 (1982).
- ¹⁹ *Kentani T., Yoneyoshi Y., Tsuneyuki N.*, Jap. Kakai Tokhyo Koho **78**, 127, 413 (1978); C.A. **90**, 152613y (1979).
- ²⁰ *Wünsch E., Trinkl A.*, Z. Physiol. Chem. **345**, 193 (1966).
- ²¹ *Falk H., Grubmayr K., Magauer K., Müller N., Zrunek U.*, Israel J. Chem. **23**, 187 (1983).