

## Zum Einfluß externer Punktladungen auf das Absorptionsspektrum von Gallenfarbstoffen des Bilatrien-abc-typs

### Kurze Mitteilung

Heinz Falk\*, Norbert Müller und Andrea Purschitzky

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

(Eingegangen 29. Oktober 1983. Angenommen 14. November 1983)

*On the Influence of External Point Charges on the Absorption Spectra of Bilatriene-abc Type Bile Pigments (Short Communication)*

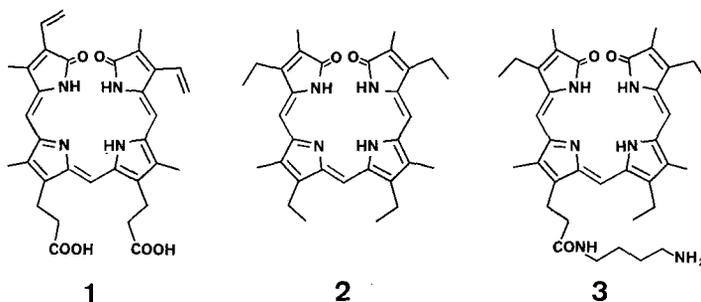
Spectrophotometric titrations of biliverdin (**1**) and a bilatriene-abc bearing an amine substituted chain (**3**) revealed an external charge induced bathochromic shift of the absorption spectrum in case of the positive non conjugated charge (**3**). This shift is in the order of 30 nanometers.

(*Keywords: Bilatriene-abc; Biliverdin; Phytochrome; Spectrophotometric titration*)

Für die spektroskopischen Verschiebungen beim Übergang zwischen den beiden Formen des Photorezeptors Phytochrom<sup>1</sup> sind aus theoretischer Sicht, d. h. auf Grund von semiempirischen Modellrechnungen, auch externe, mit dem chromophoren System nicht konjugierte Punktladungen verantwortlich gemacht worden<sup>2</sup>. Dazu soll nun ein erster experimenteller Beitrag aufzeigen, inwieweit solche externe Ladungen, wie sie in einem Apoprotein des nativen Systems vorhanden sein können, einen Einfluß auf einen Gallenfarbstoffchromophor nehmen. Wegen der leichteren Zugänglichkeit haben wir uns, wie auch schon früher<sup>3</sup>, zunächst der Bilatrien-abc-Verbindungsklasse bedient, um diese Studien zu einem späteren Zeitpunkt auf das eigentliche chromophore System des Phytochroms, die 2,3-Dihydrobilatriene-abc, auszuweiten.

Biliverdin (**1**) und Aetiobiliverdin-IV- $\gamma$  (**2**) stellte man nach den Angaben der Literatur dar<sup>4</sup>. Das Aminoderivat **3** erhielt man in Analogie zur früher beschriebenen Amidierung<sup>3</sup> des korrespondierenden Bilatrien-abc-methylesters<sup>5</sup> mit Putrescin:

Ausbeute = 50% d.Th.; Schmp.: 180 °C (Zers.); IR (KBr)<sup>6</sup>: 1685, 1640  $\text{cm}^{-1}$ ; UV-VIS ( $\text{CHCl}_3$ )<sup>7</sup>:  $\lambda = 635$  (20 400), 360 (55 000), 300 (29 000) nm ( $\epsilon$ ); UV-VIS (Dimethylsulfoxid/ $\text{H}_2\text{O}$ : 70% *w/w*):  $\lambda = 646$  (18 000), 368 (50 000) nm ( $\epsilon$ ); <sup>1</sup>H-NMR ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , 360 MHz)<sup>8</sup>: 6,75 (s, H-10), 5,85 (s, H-5 + H-15), 3,15 (m,  $\text{CH}_2$ ), 2,96 (m,  $\text{CH}_2$ ), 2,50 (m, 2  $\text{CH}_2$ ), 2,35 (q,  $J = 7$  Hz, 2  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 2,16 (s,  $\text{CH}_3$ -8), 2,08 (s,  $\text{CH}_3$ -7), 2,03 (s,  $\text{CH}_3$ -13), 1,83 (s,  $\text{CH}_3$ -2 +  $\text{CH}_3$ -18), 1,28 (s,  $\text{NH}_2$ ), 1,21 (t,  $J = 7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ) ppm; MS (FD)<sup>9</sup>:  $m/e = 598$ ; [ $\text{C}_{35}\text{H}_{46}\text{N}_6\text{O}_3$ ].



Wird nun **1** gelöst in Dimethylsulfoxid/Wasser (70% *w/w*) oder  $\text{CHCl}_3$  (vor Verwendung über  $\text{Al}_2\text{O}_3$  perkoliert) mit Tetramethylammoniumhydroxid oder Ethyldiisopropylamin spektrophotometrisch titriert<sup>7</sup>, so werden keine Verschiebungen im Absorptionsspektrum ( $\pm 0,5$  nm) erhalten. Dies wird auch durch Aufnahme von entsprechenden Derivativspektren (1. und 2. Ableitung) sowie den Differenzspektren ohne und nach Zusatz von zwei Äquivalenten Base bestätigt. Damit üben offenbar ein bis zwei nichtkonjugierte negative Ladungen in unmittelbarer Umgebung des chromophoren Systems keine erkennbare Wirkung aus.

Ebenso reagiert das Absorptionsspektrum von **2** nicht auf den Zusatz von geringen Basenmengen (0,5 Äquivalente). Wird hingegen **2** mit Schwefel- bzw. Trifluoressigsäure titriert<sup>10</sup>, so erhält man die charakteristischen bathochromen Verschiebungen von 630 auf 692 nm ( $\text{DMSO}/\text{H}_2\text{O}$ ) bzw. 630 auf 647 nm ( $\text{CHCl}_3$ ) mit isosbestischen Punkten bei 595 bzw. 530 nm, die der Protonierung des Chromophors am Pyrroleninstickstoff entsprechen.

Führt man dieses Experiment an **3** (daß die Länge des Aminogruppierungsrestes ausreicht, um die Aminogruppe in die Nähe des Chromophors zu bringen, folgt aus einer Studie des intramolekularen Additionsverhaltens einer analogen Verbindung<sup>3</sup>) zunächst unter Verwendung des  $\text{DMSO}/\text{H}_2\text{O}$ -Systems aus, so wird mit steigendem Säurezusatz nach etwa zwei Äquivalenten lediglich eine zum Verhalten von **2** analoge bathochrome Verschiebung und Intensivierung der langwelligen Bande (646 auf 689 nm) beobachtet. Der isosbestische Punkt ist dabei zwar etwas „unscharf“, jedoch liegen sonst keine Hinweise auf eine Verschie-

bung durch die dazwischen liegende monoprotониerte Spezies vor (die  $pK_a$ -Werte des Pyrroleninfragments<sup>11</sup> und des primärenamins von  $\sim 4,7$  bzw.  $\sim 10$  unterscheiden sich ja für eine schrittweise Protonierungsfolge ausreichend).

Die entsprechende Titration von **3** in  $\text{CHCl}_3$ -Lösung zeigt Abb. 1. Bei Zusatz von einem Äquivalent Säure entsteht eine monoprotониerte (primäres Amin!) Spezies, deren Absorptionsspektrum bei vergleichba-

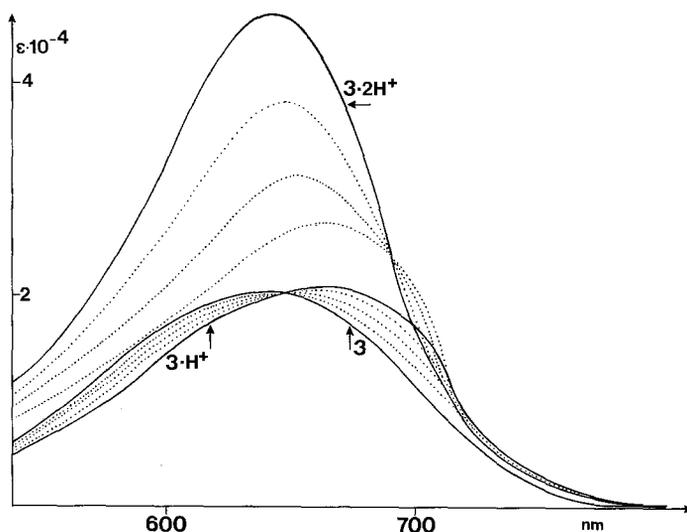


Abb. 1. Spektrophotometrische Titration von **3** ( $c = 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ) in  $\text{CHCl}_3$  mit 2 Äquivalenten Trifluoressigsäure in Schritten (...) von 0,25 Äquivalenten

rer Intensität um etwa 30 nm bathochrom verschoben ist. Zusatz eines weiteren Säureäquivalents führt zu einer Rücknahme der Verschiebung unter gleichzeitiger Intensitätserhöhung, die dann der an beiden basischen Zentren protonierten Spezies entspricht. Ungewöhnlich ist hier, daß die Protonierung des Pyrroleninteils nicht von einer bathochromen Verschiebung gegenüber der freien Base begleitet ist. Die kurzwellige Bande wird bei der Titration von 365 zunächst auf 368 und dann auf 360 nm verschoben — die Intensität verringert sich dabei stetig auf 80% des Ausgangswertes. Die nichtkonjugierte externe positive Ladung hat also in **3** zwei Konsequenzen:

1. eine bathochrome Verschiebung der langwelligen Absorptionsbande des freien Chromophors um etwa 30 nm und 2. eine hypsochrome Verschiebung der langwelligen Absorptionsbande des protonierten Chromophors.

Damit ist offenkundig, daß in bestimmten Fällen eine externe nichtkonjugierte Ladung einen Einfluß auf die Lage der langwelligen Absorptionsbande von Bilatrienen-abc nehmen kann. Für die Ursache dieser Phänomene ergeben sich zwei Hypothesen: 1. elektronische Wechselwirkungen zwischen Ladung und Chromophor im Sinne der Modellrechnungen<sup>2</sup> oder 2. Änderung der Konformererverteilung<sup>12</sup> durch die elektrostatische Wechselwirkung von Ladungen und permanenten Gruppenmomenten. Die Entscheidung darüber ist ein offenes Problem — ebenso bleibt abzuwarten, ob sich der 2,3-Dihydrobilatrien-abc-Chromophor analog verhält, bevor Schlüsse auf das Verhalten des Phytochroms<sup>1</sup> gezogen werden können.

### Literatur und Anmerkungen

- <sup>1</sup> Für eine neuere Übersicht siehe: *Rüdiger W.*, *Structure and Bonding* **40**, 101 (1980).
- <sup>2</sup> *Suzuki H.*, *Sugimoto T.*, *Ishikawa K.*, *J. Phys. Soc. Jap.* **33**, 1110 (1975); *Sugimoto T.*, *Ishikawa K.*, *Suzuki H.*, *J. Phys. Soc. Jap.* **40**, 258 (1976).
- <sup>3</sup> Siehe z. B.: *Falk H.*, *Müller N.*, *Schlederer T.*, *Monatsh. Chem.* **111**, 159 (1981) und davor erschienene Mitteilungen der Reihe „Beiträge zur Chemie der Pyrrolpigmente“.
- <sup>4</sup> a) *McDonagh A. F.*, *Palma L. A.*, *Biochem. J.* **189**, 193 (1980); wir danken Herrn Dipl.-Ing. *D. Eichinger* für die Darstellung von **1**; b) *Falk H.*, *Grubmayr K.*, *Synthesis* **1977**, 614.
- <sup>5</sup> *Falk H.*, *Schlederer T.*, *Monatsh. Chem.* **112**, 501 (1981).
- <sup>6</sup> Zeiss-IMR-25-Spektrometer; für die Aufnahme danken wir Frau Ing. *S. Wansch*.
- <sup>7</sup> Perkin-Elmer-330-Spektrophotometer.
- <sup>8</sup> Bruker-WM-360-Spektrometer.
- <sup>9</sup> Finnigan-MAT-212-Spektrometer; für die Aufnahme danken wir Herrn Dr. *W. Buchberger*.
- <sup>10</sup> Vgl. *Falk H.*, *Zrunek U.*, *Monatsh. Chem.* **114**, 983 (1983) und die davor erschienenen Protonierungsstudien von Gallenfarbstoffen.
- <sup>11</sup> *Falk H.*, *Gergely S.*, *Grubmayr K.*, *Hofer O.*, *Ann. Chem.* **1977**, 565.
- <sup>12</sup> *Falk H.*, *Müller N.*, *Tetrahedron* **39**, 1875 (1983).

---

Verleger: Springer-Verlag KG, Mölkerbastei 5, A-1010 Wien. — Herausgeber: Österreichische Akademie der Wissenschaften, Dr.-Ignaz-Seipel-Platz 2, A-1010 Wien, und Gesellschaft Österreichischer Chemiker, Eschenbachgasse 9, A-1010 Wien. — Redaktion: Währinger Straße 38, A-1090 Wien. — Hersteller: Adolf Holzhausens Nachfolger, Kandlgasse 19-21, A-1070 Wien. — Verlagsort: Wien. — Herstellungsort: Wien. — Printed in Austria.

Offenlegung gem. § 25 Abs. 1 bis 3 Mediengesetz: Unternehmensgegenstand: Verlag von wissenschaftlichen Büchern und Zeitschriften.

An der Springer-Verlag GmbH&Co. KG sind beteiligt: Prof. Dr. Georg F. Springer als Kommanditist zu 39,8%, Dr. Konrad F. Springer als Kommanditist zu 39,8%, beide Mölkerbastei 5, A-1010 Wien. Geschäftsführer: Dr. Konrad F. Springer, Ing. Wolfram F. Joos und Mag. Bruno Schweder, alle Mölkerbastei 5, A-1010 Wien.