

Synthese und Röntgenkristallstruktur eines (15*E*)-Dihydrobilatrien-abc-Derivats

Ulrike Gabriella Wagner^a, Christoph Kratky^{*a}, Heinz Falk^b und
Gerhard Kapl^b

^a Institut für Physikalische Chemie, Karl-Franzens-Universität Graz,
A-8010 Graz, Österreich

^b Institut für Chemie, Johannes-Kepler-Universität Linz, A-4040 Linz, Österreich

(Eingegangen 20. Januar 1986. Angenommen 24 Februar 1986)

Synthesis and X-ray Crystal Structure of a (15E)-Dihydrobilatriene-abc-Derivate

The crystal structure of the (15*E*)-configured 2,3-dihydrobilatriene-abc **2**, representing a model compound for the active form of the phytochrome chromophore, was determined at room temperature and at 97 K. Compared to the crystal structure of the corresponding (15*Z*)-derivative **1**, the molecule of **2** shows a similar helix conformation, but with considerably larger helix pitch. The azide hydrogen atoms are localized at the nitrogen atoms of rings A, C and D. The distribution of bond lengths and bond angles is compatible with previous crystal structures and with the canonical formula. Tautomeric form, conformation and crystal packing are understandable on the basis of the observed intra- and intermolecular hydrogen bonds.

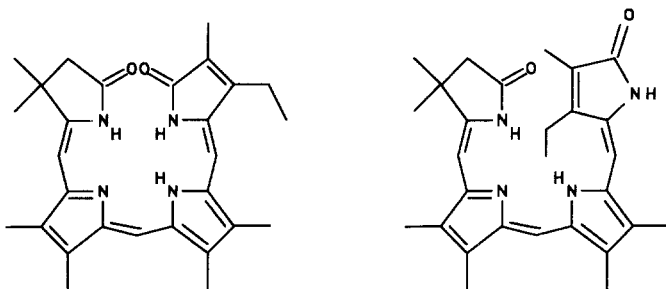
[*Keywords: Crystal structure of (15E)-2,3 dihydrobilatriene-abc; Dihydrobilatriene-abc; Phytochrome model compound*]

Einleitung

Nach dem derzeitigen Wissensstand werden die komplexen biochemischen Prozesse der Photomorphogenese durch die *Z* – *E* Isomerisierung einer Doppelbindung des Phytochromobilins [1] ausgelöst. Der Chromophor dieses Moleküls ist vom Typ eines 2,3-Dihydrobilatriens-abc, wobei die biochemisch relevante photochemische Isomerisierung die exocyclische Doppelbindung am Ring D betrifft [2].

In Anerkennung der Bedeutung von Molekülstruktur und Konformation für das Verständnis der Funktion des Phytochroms haben wir in den letzten Jahren eine Reihe von Röntgenkristallstrukturen linearer Tetrapyrrole durchgeführt [3 – 5], wobei wir kürzlich auch die Kristallstruktur

des (15*Z*)-2,3-Dihydrobilatriens (**1**) beschrieben haben [5]. Im vorliegenden Beitrag berichten wir über die Synthese und Röntgenkristallstrukturanalyse des entsprechenden (15*E*)-Diastereomeren **2**. Es ist dies unseres Wissens die erste Strukturbestimmung einer Modellverbindung der aktiven Form des Phytochromobilins.



Ergebnisse und Diskussion

Herstellung und Kristallisation von **2** hatten — um die Rückisomerisierung zum Diastereomeren **1** hintanzuhalten — rasch und unter Ausschluß von Licht und Säurespuren zu erfolgen (siehe experimenteller Teil). Die Kristallisationsbedingungen waren derart, daß Kristalle bereits nach einem Tag ausfielen, was nach unseren Erfahrungen mit der Kristallisation linearer Tetrapyrrole [3–5] extrem kurz ist. Die Auswahl von für die Strukturbestimmung geeigneter Kristalle war daher klein und wir mußten mit einem Kristall Vorlieb nehmen, welcher eine geringfügige Reflexaufspaltung zeigte.

Die Kristallstruktur von **2** wurde zunächst bei Raumtemperatur bestimmt und anschließend — zur Verbesserung der Genauigkeit — ein zweiter Satz von Intensitätsdaten bei Tieftemperatur mit dem selben Kristall gemessen. Die Raumtemperaturkoordinaten wurden nun gegen die Tieftemperatur-Strukturamplituden verfeinert, die Positionen von Wasserstoffatomen aus ΔF -Fouriersynthesen bestimmt und in die least-squares Verfeinerung einbezogen. Das gute Konvergenzverhalten dieser Verfeinerung (alle Wasserstoffatome konvergierten zu stereochemisch vernünftigen Positionen) zeigt, daß die Strukturbestimmung trotz der oben erwähnten Probleme von annehmbarer Genauigkeit ist.

Vergleich von Raumtemperatur- und Tieftemperatur Kristallstruktur

Abb. 1 zeigt Ortep-Zeichnungen der asymmetrischen Einheit der Kristallstruktur von **2** bei den beiden Temperaturen. Die bei allen Atomen beobachtbare einigermaßen gleichförmige Änderung der Temperatur-

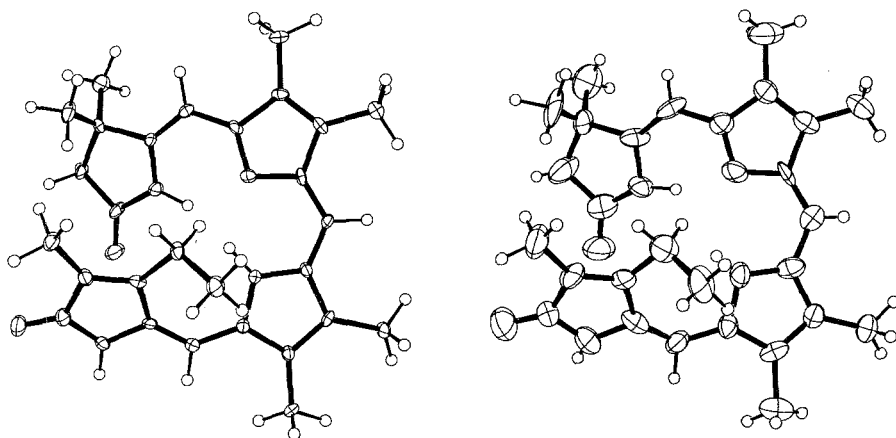


Abb. 1. Ortep-Zeichnung der Kristallstruktur von **2** bei Raum- (links) und Tieftemperatur (rechts); die Schwingungsellipsoide sind mit 50% Wahrscheinlichkeit gezeichnet

ellipsoide gibt einen unmittelbaren Hinweis auf das — nicht gezeigte — Ergebnis einer ausführlicheren Analyse (Auftragung der Raumtemperatur $-U_{ii}$ gegen Tieftemperatur $-U_{ii}$ [6, 7]), wonach kein Hinweis auf Fehlordnungen in der Kristallstruktur von **2** zu finden ist. Wie erwartet, zeigt die Raumtemperaturstruktur systematisch kürzere Bindungslängen als die Tieftemperaturstruktur [8]. Wegen ihrer inhärent besseren Genauigkeit wird die folgende Diskussion auf den in den Tabellen 1 und 2 wiedergegebenen Atomkoordinaten der Tieftemperatur-Kristallstruktur basieren; die Koordinaten der Raumtemperatur-Kristallstruktur wurden beim Cambridge Crystallographic Data Centre hinterlegt [9].

Konformation und Bindungsgeometrie

Molekülgeometrische Parameter für die Tieftemperatur-Kristallstruktur von **2** sind in Abb. 2 wiedergegeben, welche auch die zur Beschreibung der Kristallstruktur verwendete Atomnumerierung definiert.

Wie alle bisher kristallstrukturanalytisch untersuchten verdinoiden Verbindungen liegt das Molekül in einer helikalen Konformation [3, 4, 10] vor, wobei die „Helix-Ganghöhe“ in der vorliegenden Kristallstruktur deutlich größer ist als im (15*Z*)-konfigurierten Diastereomeren **1**. Dies ist unmittelbar aus Abb. 3 ersichtlich, welche Projektionen entlang der Verbindungsgeraden der Atome C₉ und C₁₁ für die Kristallstrukturen von **1** und **2** zeigt. Der Grund für die in der Abbildung beobachtbare stärkere Verdrehung von Ring D liegt offensichtlich im Platzbedarf der Ethylgrup-

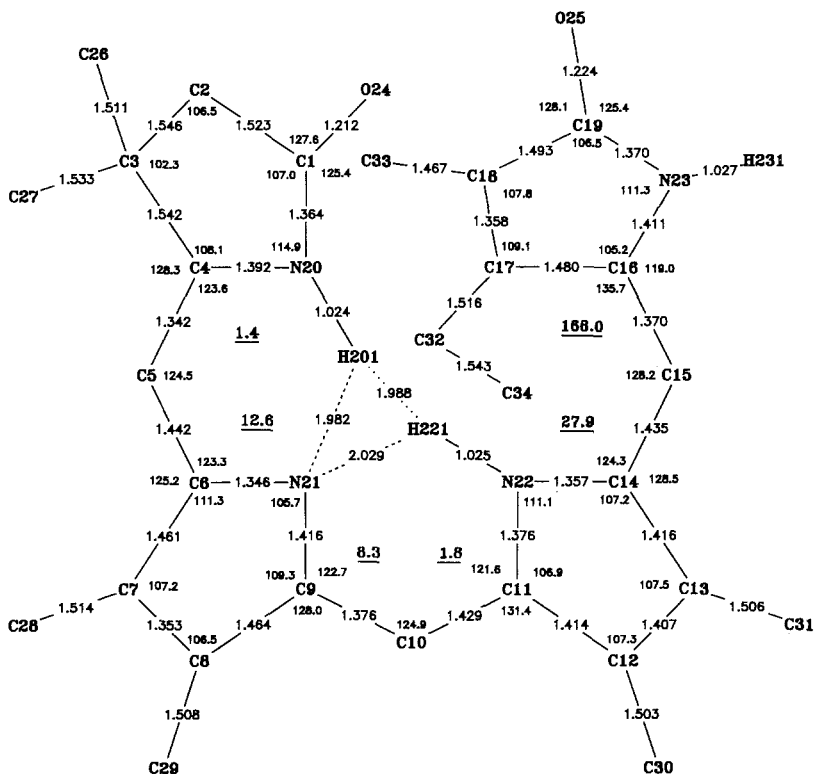


Abb. 2. Bindungsgeometrie in der Kristallstruktur von **2**. Die durchschnittlichen Standardabweichungen sind wie folgt: $X-Y$, $\sigma \sim 0.007-0.009 \text{ \AA}$; $N-H$, $\sigma \sim 0.05 \text{ \AA}$; $X-Y-Z$, $\sigma \sim 0.4-0.6^\circ$; $X-N-H$, $\sigma \sim 3.0-4.0^\circ$ ($X, Y, Z = C, N, O$)

pe am C₁₇; die dadurch erzwungene Moleküldeformation manifestiert sich in erster Linie in den Torsionswinkeln um die Bindungen C₁₄—C₁₅ und C₁₅—C₁₆.

Bindungslängen und Bindungswinkel (Abb. 2) stimmen gut mit den entsprechenden Werten der Kristallstruktur von **1** überein. Dies ist in erstklassiger Übereinstimmung mit der bereits früher gemachten Beobachtung, daß die Bindungsgeometrie in Systemen dieser Art in erster Linie durch die tautomere Form (s. u.) bzw. durch die daraus resultierende kanonische Formel vorhersagbar ist. Mit Ausnahme der Bindungswinkel um das Atom C₁₆ stimmen die beobachteten Bindungslängen bzw. -winkel für die drei ungesättigten pyrrolischen Ringe mit den für Fragmente gleicher kanonischer Formel angegebenen Standardwerten [5] überein.

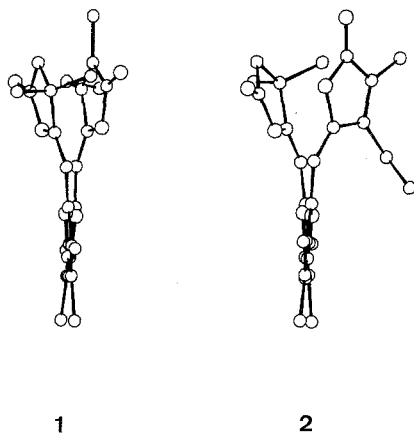


Abb. 3. Projektion von 1 und 2 in Richtung des C_9-C_{11} -Vektors

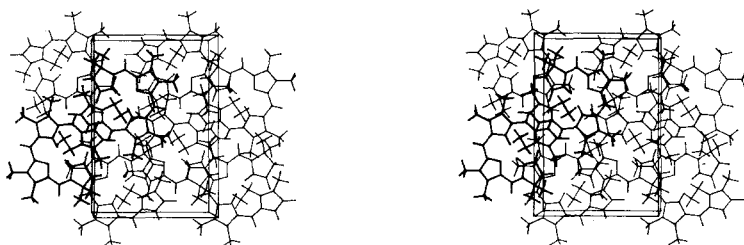


Abb. 4. Stereopackungsbild von 2. Ein zentrosymmetrisches Dimer ist fett gezeichnet. Die kristallographischen Achsen haben folgende Orientierung: X von links nach rechts, Y aufwärts, Z von rechts nach links

Die Verteilung der drei aziden Protonen ist in der vorliegenden Kristallstruktur analog wie in der Struktur des (15*Z*)-Isomeren **1**: die Protonen sind an die pyrrolischen Stickstoffe der Ringe A, C und D gebunden, wobei jene der Ringe A und C intramolekulare Wasserstoffbrücken zum Ring B Stickstoffatom ausbilden. Das Proton am Ring D bildet eine intermolekulare Wasserstoffbrücke zum Ring A Carbonylsauerstoffatom eines zentrosymmetrisch äquivalenten Moleküls. Dies führt zur Ausbildung zentrosymmetrischer Dimerer (Abb. 3), welche durch zwei H-231...O-24 Wasserstoffbrücken ($d = 1.97 \text{ \AA}$) zusammengehalten werden.

Die ungesättigten pyrrolischen Ringe B, C und D sind innerhalb der Standardabweichungen planar, wobei die Abweichungen von direkt an

diese Ringe gebundenen Substituentenatomen von einer besten Ebene durch die Ringatome bis zu 0.3 Å betragen. Der halbhydrierte Ring A ist nicht planar, die Puckering-Amplitude [11] dieses Ringes ist mit 0.106 Å sehr nahe beim entsprechenden Wert der Kristallstruktur von **1** (0.08 Å).

Tabelle 1. *Atomkoordinaten und äquivalente isotrope Temperaturkoeffizienten* ($\times 10^4$, U -Werte in Å²) für alle Nichtwasserstoffatome. Least-squares Standardabweichungen in Klammern. Die äquivalenten isotropen Temperaturkoeffizienten wurden als ein Drittel der Spur des orthogonalisierten U_{ij} Tensors berechnet und entsprechen einem isotropen Temperaturfaktor der Form

$$T = \exp(-8 \pi^2 u \cdot \sin^2 \vartheta / \lambda^2)$$

Atom	X/a	Y/b	Z/c	U _{eq}
C-1	4301(5)	2091(3)	5517(5)	211(30)
C-2	4921(5)	2848(3)	5727(5)	210(29)
C-3	4244(4)	3482(3)	5113(5)	172(28)
C-4	3153(5)	3054(3)	4780(5)	154(27)
C-5	2207(5)	3348(3)	4331(5)	182(29)
C-6	1217(5)	2902(3)	4056(5)	173(27)
C-7	90(5)	3219(3)	3875(5)	169(28)
C-8	-622(5)	2614(3)	3752(5)	182(27)
C-9	70(4)	1915(3)	3822(4)	139(26)
C-10	-271(5)	1160(3)	3708(5)	163(27)
C-11	488(4)	511(3)	3647(5)	155(27)
C-12	251(5)	-291(3)	3615(4)	149(26)
C-13	1296(4)	-670(3)	3641(4)	150(25)
C-14	2145(4)	-95(3)	3663(5)	151(26)
C-15	3343(5)	-194(3)	3704(5)	188(28)
C-16	4154(5)	300(3)	3339(5)	174(27)
C-17	4176(5)	991(3)	2622(4)	136(25)
C-18	5253(5)	1243(3)	2548(5)	194(28)
C-19	5983(5)	716(4)	3222(5)	223(30)
N-20	3301(4)	2273(3)	5014(4)	202(25)
N-21	1204(4)	2126(3)	4033(4)	172(23)
N-22	1618(4)	600(3)	3670(4)	160(23)
N-23	5288(4)	164(3)	3644(4)	182(24)
O-24	4604(4)	1446(3)	5770(4)	337(27)
O-25	7003(4)	745(3)	3363(4)	319(26)
C-26	4833(4)	3749(3)	4090(5)	260(33)
C-27	3983(4)	4170(3)	5881(5)	270(35)
C-28	-186(5)	4072(3)	3866(5)	289(36)
C-29	-1874(5)	2629(3)	3532(5)	255(33)
C-30	-893(5)	-660(4)	3568(5)	180(29)
C-31	1527(5)	-1526(3)	3640(5)	193(30)
C-32	3206(5)	1317(4)	1942(5)	177(29)
C-33	5744(6)	1877(4)	1916(6)	235(33)
C-34	2616(6)	717(4)	1190(6)	259(34)

Experimenteller Teil

Darstellung von (5*Z*, 9*Z*, 15*E*)-17-Ethyl-1,19-dioxo-3,3,7,8,12,13,18-heptamethyl-1,2,3,19,23,24-hexahydro-21*H*-bilin 2

30 mg (*E*)-4-Ethyl-3-methyl-5-(3,4-dimethyl-5-formyl-2-pyrrolylmethylen)-3-pyrrolin-2-on (0.12 mmol) [2] kondensiert man mit 37 mg (*Z*)-1,3,4,5-Tetrahydro-3,3,3',4'-tetramethyl-5-oxo-2,2'-pyrromethen-5'-carbonsäure-*tert*.butylester (0.12 mmol) [12] analog Lit. [13]. Chromatographische Reinigung an Aluminiumoxid (Chloroform/Methanol = 60/1).

¹H-NMR (CDCl₃, δ, 360 MHz): 6.59 (s, =CH-10), 6.25 (s, =CH-15), 5.39 (s, =CH-5), 2.47 (q, *J* = 7.5 Hz, CH₂—CH₃), 2.35 (s, CH₂), 2.16 (s, CH₃-12), 2.12 (s, CH₃-8), 1.98 (s, CH₃-7, CH₃-13), 1.90 (s, CH₃-18), 1.36 (s, 2 CH₃-3), 0.82 (t, *J* = 7.6 Hz, CH₂—CH₃) ppm Signalzuordnung durch NOE.

Tabelle 2. Atomkoordinaten und isotrope Temperaturkoeffizienten ($\times 10^3$) der Wasserstoffatome

Atom	X/a	Y/b	Z/c	U _{iso}
H -C5	216(6)	395(1)	428(6)	30(19)
H -C10	-113(1)	103(3)	365(4)	1(13)
H -C15	363(5)	-73(2)	401(4)	9(15)
H -C21	573(2)	276(4)	543(5)	17(17)
H -C22	497(6)	293(4)	658(1)	31(21)
H -N20	267(4)	190(3)	477(6)	30(20)
H -N22	202(5)	112(2)	375(5)	7(19)
H -N23	554(6)	-32(3)	408(5)	45(24)
H1 -C26	446(5)	415(3)	353(5)	33(21)
H2 -C26	565(2)	398(3)	427(5)	19(15)
H3 -C26	501(6)	324(3)	364(5)	51(23)
H1 -C27	347(4)	398(4)	652(3)	22(18)
H2 -C27	347(4)	458(3)	544(4)	14(16)
H3 -C27	473(3)	445(4)	614(5)	27(20)
H1 -C28	-2(5)	431(4)	465(2)	30(18)
H2 -C28	33(5)	441(3)	334(4)	33(19)
H3 -C28	-105(2)	418(5)	364(6)	61(26)
H1 -C29	-230(4)	293(3)	417(3)	6(14)
H2 -C29	-219(6)	205(1)	361(6)	27(21)
H3 -C29	-210(6)	302(3)	289(4)	48(22)
H1 -C30	-156(4)	-30(3)	384(5)	25(20)
H2 -C30	-114(7)	-88(5)	278(3)	47(25)
H3 -C30	-98(7)	-118(3)	402(6)	49(25)
H1 -C31	81(4)	-184(4)	392(6)	38(21)
H2 -C31	228(3)	-161(4)	412(5)	24(18)
H3 -C31	164(7)	-178(5)	285(3)	56(28)
H1 -C32	260(4)	157(3)	245(4)	12(15)
H2 -C32	356(4)	169(3)	136(4)	5(15)
H1 -C33	586(5)	239(2)	239(4)	19(18)
H2 -C33	658(3)	174(5)	169(6)	42(23)
H3 -C33	531(5)	205(4)	118(3)	26(20)
H1 -C34	202(4)	101(3)	67(4)	23(18)
H2 -C34	219(6)	27(3)	163(5)	38(22)
H3 -C34	322(5)	47(5)	65(5)	52(26)

UV-Vis (CHCl_3): $\lambda = 348$ (25 000), 550 (18 000), 620 (sh, 10 000) nm (ϵ).

Zur Kristallisation wurden einige mg von **2** in etwa 1 ml *n*-Hexan suspendiert und gerade soviel Dichlormethan zugegeben, daß eine klare Lösung entstand. Die Lösung wurde in einen Exsikator, in dem sich ein offenes Gefäß mit *n*-Hexan befand, gestellt. In der Kälte (5 °C) bildeten sich nach einem Tag violette, zur Strukturbestimmung geeignete Kristalle. Bei der Herstellung der Kristallisationsansätze wurde auf Lichtausschluß und Abwesenheit von Säurespuren, die eine Rückisomerisierung zum (*Z*)-Derivat katalysieren, geachtet.

NMR-Spektren wurden auf einem Bruker-WM-360-, UV-Vis-Spektren auf einem Perkin-Elmer-330-Spektrometer aufgenommen.

Tabelle 3. Zusammenfassung experimenteller Parameter und Meßdaten

	298 ± 2 K	97 ± 1 K ^a
Summenformel		$\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2$
Kristallgröße [mm ³]		$0.3 \times 0.35 \times 0.2$
Raumgruppe		$P2_1/n$
Zelldimensionen		
a [Å]	11.943 (4)	11.892 (3)
b [Å]	17.468 (15)	17.314 (11)
c [Å]	12.439 (3)	12.154 (3)
β [°]	90.66	91.07
V [Å ³]	2 594	2 502
<i>Z</i>		4
gemessene Dichte [gcm ⁻³] ^b	1.174	—
berechnete Dichte	1.169	1.217
Zahl und 2 θ -Bereich von Reflexen zur Bestimmung der Gitterparameter	15 $7^\circ \leq 2\theta \leq 16^\circ$	21 $7^\circ \leq 2\theta \leq 16^\circ$
Grenzen der Intensitätsdatensammlung	$0 \leq 2\theta \leq 50$ $0 \leq h \leq 14$ $0 \leq k \leq 20$ $-14 \leq l \leq 14$	$0 \leq 2\theta \leq 60$ $0 \leq h \leq 18$ $0 \leq k \leq 25$ $-18 \leq l \leq 18$
Standardreflexe: Indizes		-1 5 4 -1 0 7 -4 3 0 100
Frequenz max. Schwankung	± 8%	± 4%
Zahl der gemessenen Reflexe	5 134	8 098
Zahl der unabhängigen Reflexe	4 497	7 294
Zahl der signifikanten Reflexe ($F_0 > 3\sigma(F_0)$)	1 341	3 019
R/R_w -Wert	0.112/0.072	0.094
Gewichtssystem	$1/\sigma^2(F)$	Einheitsgewichte
Zahl der Observablen	1 375	3 053
Zahl der Parameter	444	444
höchster Peak (eÅ ⁻³) in letzter ΔF -Fourier-Synthese	0.11	0.15

^a Angezeigte Temperatur des kalten Stickstoffstromes ca. 1 cm vor dem Kristall.

^b Schwebemethode, H₂O/CsCl.

Röntgenkristallstrukturanalyse von 2

Die Strukturbestimmung wurde bei zwei Temperaturen (Raumtemperatur und 97 ± 1 K) mit dem selben Kristall auf einem modifizierten Stoe 4-Kreis-Diffraktometer mit $\text{MoK}\alpha$ -Strahlung ($\lambda = 0.71069 \text{ \AA}$, Graphit Monochromator) durchgeführt. Bei der Tieftemperaturmessung wurde eine modifizierte Nonius-Tieftemperaturreinrichtung verwendet. Zur Unterdrückung von Eisablagerungen am Kristall war das Diffraktometer in einer glove-box aufgestellt, in der die Luftfeuchtigkeit mit Hilfe von Silikagel gesenkt wurde.

Wichtige experimentelle Daten und Meßparameter sind in Tab. 3 zusammengefaßt.

Bereits im Zuge des Suchlaufes zur Bestimmung von Reflexpositionen für die Bestimmung der Orientierungsmatrix wurde eine Aufspaltung der Reflexmaxima von ca. 0.7° beobachtet, wobei die beiden Teilmaxima ein Intensitätsverhältnis von 1 : 3 aufwiesen. Da uns kein besserer Kristall zur Verfügung stand, wurden die Scanbreiten so gewählt, daß sie über beide Teilmaxima reichten. Die so erhaltene Orientierungsmatrix repräsentiert somit einen „gewichteten Mittelwert“ zweier um 0.7° gegeneinander verdrehten Zellen. Auch bei der Datensammlung mittels „background-peak-background“-Methode wurde auf eine ausreichend große Scanbreite geachtet.

Die Intensitätsdaten wurden in der üblichen Weise verarbeitet (Lp-Korrektur, aber weder Absorptions- noch Extinktionskorrektur, $\mu\text{MoK}\alpha = 0.4 \text{ cm}^{-1}$). Die Struktur ließ sich problemlos mit direkten Methoden lösen (Raumtemperaturdaten) und mittels „least-squares“ (*F*-Werte) verfeinern. Für die Tieftemperaturstruktur konnten neben den Koordinaten der schwereren Atome auch die Positionen aller Wasserstoffatome aus Differenz-Fouriersynthesen bestimmt werden. Diese Wasserstoffatomkoordinaten wurden dann auch für die letzten Verfeinerungszyklen der Raumtemperaturstruktur verwendet. Wegen der großen Anzahl von Parametern mußte die Struktur in 3 Teilen verfeinert werden. In beiden Strukturen wurden für alle Nichtwasserstoffatome anisotrope Temperaturkoeffizienten verfeinert, wobei in den letzten Verfeinerungszyklen die Abstände von Kohlenstoff- bzw. Stickstoffatomen zu Wasserstoffatomen mittels entsprechender nicht-linearer constraints fixiert wurden ($\text{sp}^3 \text{ C—H: } 1.09 \text{ \AA}$; $\text{sp}^2 \text{ C—H: } 1.07 \text{ \AA}$; $\text{N—H: } 1.05 \text{ \AA}$).

Folgende Computerprogramme wurden, in teilweise modifizierter Form, zur Auswertung herangezogen: Multan [14], Shelx [15], Pluto [16], Ortep [17].

Literatur

- [1] Als Übersicht (1983) Photomorphogenesis. *Encyclop Plant Physiol* 16
- [2] Falk H, Grubmayr K, Kapl G, Müller N, Zrunek U (1983) *Monatsh Chem* 114: 753
- [3] Kratky C, Jorde C, Falk H, Thirring K (1983) *Tetrahedron* 39: 1859—1863
- [4] Kratky C, Falk H, Grubmayr K (1985) *Monatsh Chem* 116: 745—760
- [5] Kratky C, Falk H, Grubmayr K, Zrunek U (1985) *Monatsh Chem* 116: 761
- [6] Hirshfeld FL (1971) *Acta Cryst* A27: 157
- [7] Rosenfield RE, Trueblood KN, Dunitz JD (1978) *Acta Cryst* A34: 328
- [8] Kratky C, Falk H, Zrunek U (1985) *Monatsh Chem* 116: 607
- [9] Allen FH, Kennard O, Taylor R (1983) *Acc Chem Res* 16: 146
- [10] Sheldrick WS (1983) *Isr J Chem* 23: 162
- [11] Dunitz JD (1979) *X-Ray analysis and the structure of organic molecules*. Cornell University Press

- [12] *Falk H, Grubmayr K, Kapl G, Zrunek U* (1982) *Monatsh Chem* 113: 1329
- [13] *Gossauer A, Blacha-Puller M, Zeisberger R, Wray V* (1981) *Ann Chem* 1981: 342
- [14] *German G, Main P, Woolfson MM* (1971) *Acta Cryst* A27: 368
- [15] *Sheldrick GM* (1976) *Shelx 76*, a program for crystal structure determination. University of Cambridge, England
- [16] *Motherwell S* (1976) program *Pluto*. University of Cambridge, England
- [17] *Johnson CK* (1976) Ortep report ORNL 5138, Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, Tennessee, U.S.A.