

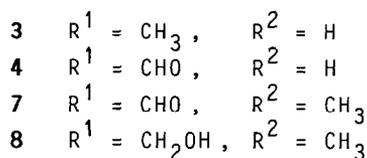
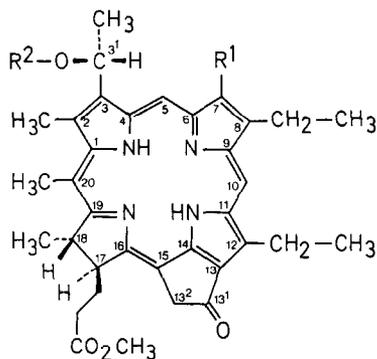
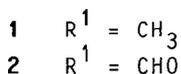
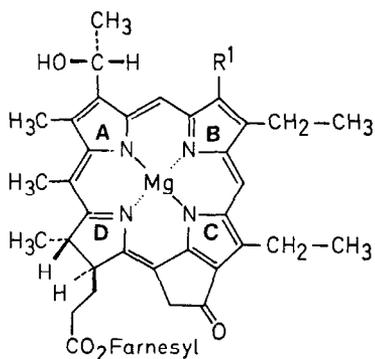
Photobilin e. Photooxidation von Bacteriochlorophyll-e-Derivaten

Nikolaus Risch, Anette Schormann und Hans Brockmann

Fakultät für Chemie der Universität Bielefeld, D-4800 Bielefeld

Summary : The blue photooxidation products from metall-free derivatives of bacteriochlorophyll e can be purified without decomposition by reversed phase chromatography. They are identified spectroscopically and chemically as open-chain tetrapyrroles and are named photobilins e.

Die Photooxidation von metallfreien Derivaten des Bacteriochlorophylls c 1 führt zu linearen Tetrapyrrolfarbstoffen (z.B. 5), deren Struktur durch spektroskopische ^{1,2)} und chemische ³⁾ Verfahren abgesichert ist. Diese Reaktion läuft offenbar nur ab, wenn der Phorbiringkörper einen Substituenten an C-20 trägt.

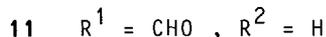
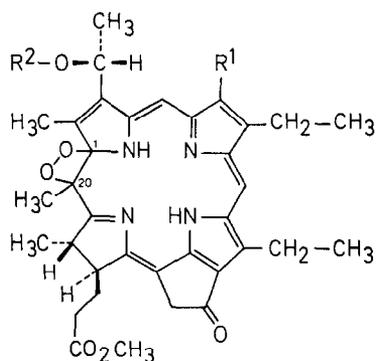
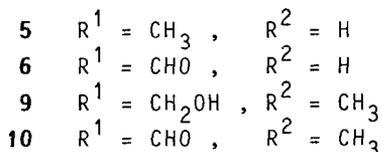
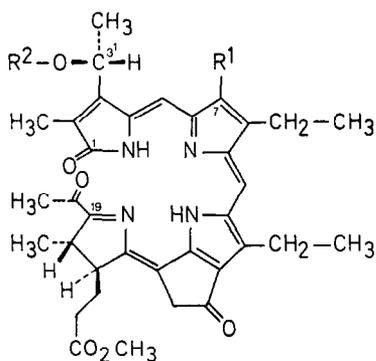


Das Bacteriochlorophyll e 2 ⁴⁾ zeichnet sich wie 1 durch einen Methylsubstituenten an C-20 aus und unterscheidet sich von diesem nur durch den Austausch der Methylgruppe an C-7 gegen einen Formylrest ^{4,5)}. Hiermit weisen die Bacteriochlorophylle c 1 und e 2 die gleiche strukturelle Beziehung wie die Chlorophylle a und b aus grünen Pflanzen auf. Auch metallfreie Derivate (z.B. 4) von 2 bilden im Licht bei Anwesenheit von molekularem Sauerstoff ein Photooxidationsprodukt, das jedoch nicht wie

das Photobilin c **5** rotviolett sondern blau gefärbt ist. Beim Versuch, das blaue Oxidationsprodukt durch Chromatographie an Kieselgel in einheitlicher Form zu erhalten, beobachtet man eine relativ rasche Zersetzung zu etwas polaren, rot gefärbten Folgeprodukten. Auch diese zersetzen sich noch auf der Kieselgeloberfläche zu farblosen und kaum zu charakterisierenden Bruchstücken. Es gelingt nicht, das macrocyclische Edukt vollständig umzusetzen, ohne dabei auch erhebliche Mengen des gewünschten blauen Photoproduktes zu zerstören. Eine Reinigung durch fraktionierte Kristallisation scheitert an den zu geringen Löslichkeitsunterschieden und den doch recht kleinen Substanzmengen (10-30 mg).

Erfolgreich ist jedoch die chromatographische Reinigung an Kieselgel mit chemisch modifizierter Oberfläche (LiChroprep RP-8). Mit dem Laufmittel Acetonitril gelingt die Abtrennung des blauen Photooxidationsproduktes problemlos. Zersetzungsprodukte werden bei diesem Trennverfahren nicht beobachtet.

Die spektroskopischen Untersuchungen unterstützen die naheliegende Vermutung, daß es sich bei dem blauen Produkt um das dem Photobilin-c-methylester **5** analoge Derivat **6** handelt, das somit als Photobilin-e-methylester bezeichnet wird.



Wie auch bei **5** weist das UV/VIS-Spektrum von **6** (Abb.1) mit seiner sehr breiten Absorptionsbande um 580 nm auf die Umwandlung des Chloringrundgerüsts in ein lineares Tetrapyrrol hin. Während ein aussagekräftiges Massenspektrum nicht erhalten wurde, belegt jedoch das 1H -NMR-Spektrum eindeutig die Analogie zum Photobilin-c-methylester **5**. Als besonders charakteristisch sollen die Signale bei 11.59 ppm und 9.22 ppm (je NH), 2.20 ppm (Acetyl- CH_3) und der drastische Hochfeldshift z.B. der Methinprotonen und der aromatischen Methylgruppen (vgl. auch Tab.1) herausgestellt werden.

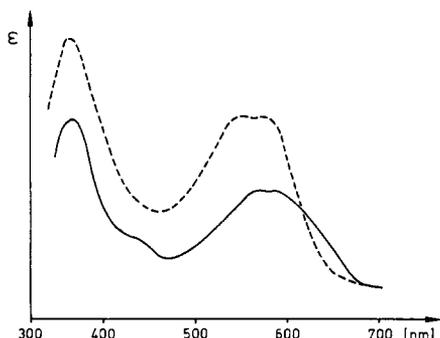


Abbildung 1 : Vergleich der UV/VIS-Spektren der Photobalin-c- und -e-methylester **5** (---) und **6** (—)

Tabelle 1: $^1\text{H-NMR}$ -Daten der Bacteriophäophorbid-c- und -e-methylester **3** und **4** bzw. der Photobalin-c- und -e-methylester **5** und **6**. (Chemische Verschiebung in δ [ppm]; CDCl_3/TMS)

| | 3 | 4 | 5 | 6 |
|--|----------|----------|--------------|--------------|
| 5-H | 9.93 | 10.58 | 6.44 | 7.22 |
| 10-H | 9.52 | 9.42 | 6.88 | 7.16 |
| 3 ¹ -H | 6.50 | 6.56 | 5.09 | 5.12 |
| 13 ² -CH ₂ | 5.24 | 5.20 | um 3.56 (AB) | um 3.60 (AB) |
| 18-H | 4.57 | 4.58 | 3.02 | 3.05 |
| 20-CH ₃ | 3.88 | 3.86 | 2.21 | 2.20 |
| 17 ² -CO ₂ CH ₃ | 3.59 | 3.62 | 3.69 | 3.69 |
| 2-CH ₃ | 3.51 | 3.53 | 2.09 | 1.94 |
| 7-CH ₃ / 7-CHO | 3.29 | 11.07 | 1.88 | 10.20 |
| 3 ¹ -CH ₃ | 2.14 | 2.15 | 1.60 | 1.63 |
| 12 ¹ -CH ₃ | 1.95 | 1.92 | 1.39 | 1.41 |
| 8 ¹ -CH ₃ | 1.71 | 1.72 | 1.22 | 1.36 |
| 18-CH ₃ | 1.48 | 1.51 | 1.20 | 1.11 |

Ein qualitativer chemischer Beweis der Konstitution **6** gelingt auf folgendem Weg :

Bacteriophäophorbid-e-methylester **4** wird mit Methanol/Schwefelsäure in die entsprechende 3¹-O-Methylverbindung **7** übergeführt, die ebenfalls ein blaues Photobilin bildet. Mit Natriumtetrahydridoborat in THF gelingt selektiv die Reduktion der Formylgruppe in **7** zur Hydroxymethylgruppe. Dieses Derivat **8** verhält sich beim Bestrahlen in Gegenwart von Sauerstoff ganz analog wie metallfreie Derivate (z.B. **3**) des Bacteriochlorophylls c. Man isoliert ein rotes Oxidationsprodukt mit der entsprechenden offenkettigen Photobilinstruktur **9**. Die Reoxidation der 7-Hydroxymethylgruppe sollte nun das entsprechende Photobilin **10** der e-Reihe ergeben. Tatsäch-

lich isoliert man nach Umsetzen mit Acetanhydrid/DMSO neben einer Vielzahl von farblosen Zersetzungsprodukten in geringen Mengen auch ein blaues Produkt, das sich in seinem chromatographischen Verhalten und seinem UV/VIS-Spektrum als identisch mit dem aus der 31-O-Methylverbindung **7** erhaltenen blauen Photobilin **10** erweist.

Wie von uns bereits bei der Photooxidation des Bacteriophäophorbid-c-methyl-esters **3** durch Isotopenmarkierung und nachfolgenden chemischen Abbau belegt ³⁾ und später von Smith ⁶⁾ bestätigt, haben wir es auch hier mechanistisch offenbar mit einer Synchronaddition von Singulett-Sauerstoff an die relativ elektronenreiche 1.20-Doppelbindung des konjugierten Systems zu tun. Das intermediär gebildete Dioxetan **11** kann nicht isoliert werden und lagert thermisch zum offenkettigen Photobilin **6** um.

Über den in vivo Abbau von Chlorophyllderivaten ist noch relativ wenig bekannt ⁷⁾. Die photochemische Ringöffnung z.B. der metallfreien Derivate des Bacteriochlorophylls e kann hier möglicherweise modellhaft als Beispiel gelten, wenn auch der weitere Abbau der blauen Photobiline z.B. an Oberflächen wie Kieselgel über ein rotes Folgeprodukt zu nicht mehr gefärbten Zersetzungsprodukten auf einem von uns bislang noch nicht erkannten Weg abläuft. Es scheint gesichert, daß in der Natur beim Chlorophyll a der Abbau über die metallfreien Phorbide abläuft ⁸⁾; analog beobachten wir die Photobilinbildung ebenfalls nur am metallfreien Liganden. Im vorliegenden Fall sind die Ringe A und D durch die Substitution an C-20 gegeneinander verdrillt, was eindeutig durch NMR-Untersuchungen belegt ist ⁴⁾. Durch eine geeignete Verdrillung kann somit offenbar eine spezifische Sollbruchstelle erzielt werden, so daß hier der einleitende Schritt für einen Abbau getan ist: a) Aktivieren einer Methinposition und b) Erzeugen einer Sollbruchstelle z.B. durch Substitution einer Methinbrücke.

LITERATUR

- 1) H. Brockmann und C. Belter, Z. Naturforsch. **34b**, 127 (1979).
- 2) G.W. Kenner, J. Rimmer, K.M. Smith und J.F. Unsworth, Phil. Trans. Roy. Soc., (London) Ser. B, **273**, 255 (1976).
- 3) N. Risch und C. Belter, Z. Naturforsch. **34b**, 129 (1979).
- 4) H. Brockmann, A. Gloe, N. Risch und W. Trowitzsch, Liebigs Ann. Chem. **1976**, 566.
— Die Bacteriochlorophylle aus Chlorobiineae liegen in der Regel als Gemische von Homologen und Isomeren mit unterschiedlichen Alkylsubstituenten an C-8 und C-12 vor. Sie lassen sich durch HPLC trennen ⁵⁾. Sämtliche in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Reaktionen wurden ausgehend von der einheitlichen Komponente **4** mit jeweils Ethylgruppen an C-7 und C-8 durchgeführt.
- 5) N. Risch, T. Kemmer und H. Brockmann, Liebigs Ann. Chem. **1978**, 585.
- 6) R.F. Troxler, K.M. Smith und S.B. Brown, Tetrahedron Lett. **1980**, 491.
- 7) R.B. Kufner in 'Pigments in Plants' (F.-C. Czygan, ed.) 2. Aufl. G. Fischer, Stuttgart 1980, S. 308.
- 8) K.L. Simpson, T.-C. Lee, D.B. Rodriguez und C.O. Chichester in 'Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments' (T.W. Goodwin, ed.) Academic Press, London 1976, S. 780.

(Received in Germany 26 September 1984)