

Zur Chemie der Pyrrolpigmente, 54. Mitt.¹: Phytochrommodellstudien: Ein 2,3-Dihydrobilatrien-abc-3- Cholesterylderivat

Josef Edinger, Heinz Falk* und Norbert Müller

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

(Eingegangen 19. Dezember 1983. Angenommen 17. Januar 1984)

*On the Chemistry of Pyrrole Pigments, LIV.: Phytochrome Model Studies:
A 2,3-Dihydrobilatriene-abc-3-Cholesteryl Derivative*

The diastereomeric 2,3-Dihydrobilatrienes-abc derivatives (4*Z*, 9*Z*, 15*Z*)-**7** and (4*Z*, 9*Z*, 15*E*)-**7** bearing a cholesterylacetate moiety in position 3 of the chromophore are prepared. The reaction sequence contains an isomerisation step providing quantitative enantioselective formation of the chiral center in position 3. Configurations and conformations of the diastereomers are elucidated using ¹H- and ¹³C-NMR spectra, NOE-difference spectra, 2D-NMR experiments (NOESY) and arguments from UV-VIS and CD data. It is concluded that the hydrophobic interactions between chromophore and cholesteryl-fragment yield a "compact" conformation where the two substructures are in close contact with each other. On the other hand these interactions seem to be too weak to induce significant changes in the chemistry, absorption spectra and conformational characteristics of the bile pigment chromophore. Therefore hydrophobic interactions between chromophore and apolar amino acid residues of the protein in phytochrome should be of minor relevance for determining spectroscopic shifts.

(*Keywords:* 2*D*-¹H-NMR; 2,3-Dihydrobilatrienes-abc; Enantiospecific synthesis; Hydrophobic interactions; NOESY; Phytochrome models)

Einleitung

Im pflanzlichen Photomorphogeneserezeptor Phytochrom ist der Chromophor (ein 2,3-Dihydrobilatrien-abc) kovalent mit einem Protein verknüpft². Es liegt nun nahe, daß gewisse Eigenschaften und Verhaltensweisen dieses Chromophors nicht nur aus der spezifischen Chemie des Dihydrobilatriens heraus verständlich sind, sondern erst durch die Wechselwirkung mit dem hochmolekularen System hervorgebracht

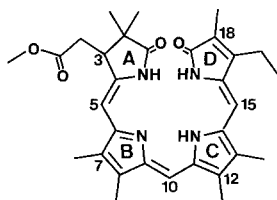
werden. Um uns schrittweise an ein diesbezügliches Verständnis heranzutasten, wird versucht, aus der kovalenten Verknüpfung des Bilatriens mit einem stereochemisch gut überschaubaren, möglichst hochmolekularen Partner erste Einblicke in die Eigenschaften solcher Systeme zu gewinnen.

Die vorliegende Mitteilung berichtet über die Darstellung, Konformationsanalyse und Lichtabsorptionseigenschaften einer solchen Verbindung. Dabei haben wir als Verknüpfungspartner des 2,3-Dihydrobilatriens-abc Cholesterin gewählt, da dessen weitgehend starres Steroidskelett und sein Kohlenwasserstoffcharakter zunächst einen Zugang für eine Untersuchung hydrophober Wechselwirkungen mit dem Chromophor bieten sollte.

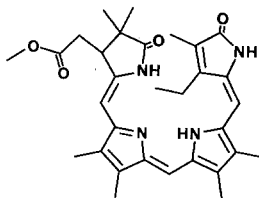
Ergebnisse und Diskussion

Syntheseaspekte

Das bislang am besten untersuchte Modell-2,3-dihydrobilatrien **1**^{1,3-6} bietet über seine Carboxylfunktion eine ideale Handhabe zur Einführung beliebiger alkoholischer Reste in Position 3, die ja auch im natürlichen System Ausgangspunkt für die kovalente Bindung zum Protein ist².



(4Z,9Z,15Z)-1

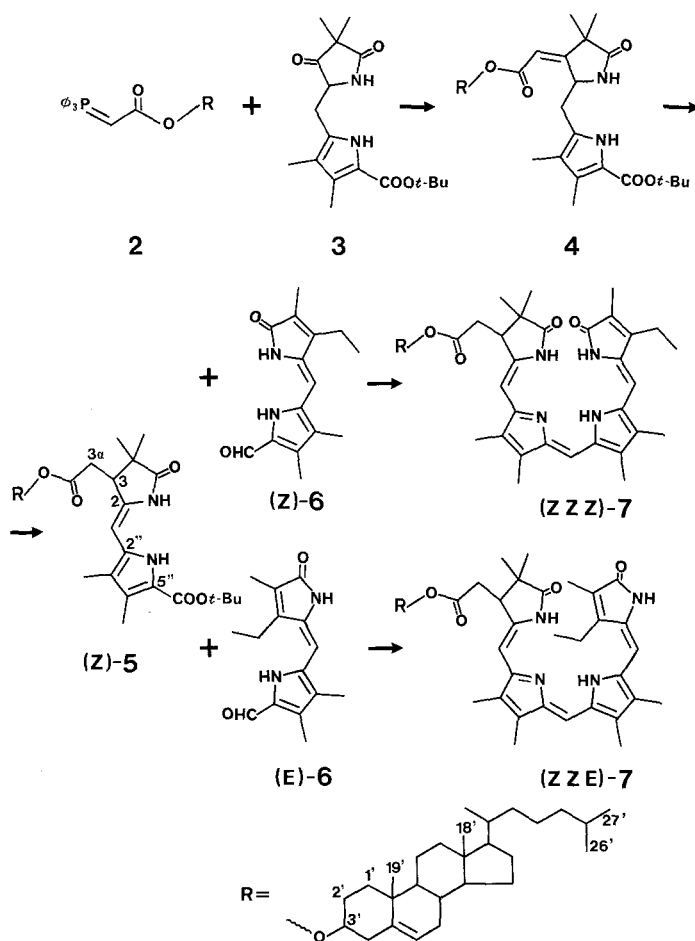


(4Z,9Z,15E)-1

Allerdings zeigte sich, daß eine direkte Umesterung [z. B. basisch katalysiert oder in Gegenwart von $\text{Ti}(\text{OCH}_3)_3$] von **1** oder ausgehend vom daraus abgeleiteten 3,4-Lakton-Tautomeren⁶ präparativ nicht gangbar war. Deshalb führte man den Cholesterylrest schon früh im Syntheseverlauf ein: Das aktivierte *Wittig*-Ylid **2** erhielt man glatt aus dem Bromessigsäurecholesterylester — Umsatz desselben mit dem früher dargestellten Oxosystem **3**⁷ führt glatt zu **4**, woraus dann durch Umlagerung⁷ das 3,4-Dihydropyrromethenon (*Z*)-**5** zugänglich war. Kondensation von (*Z*)-**5** mit dem Pyrromethenonaldehyd (*Z*)-**6** führte zum Zielmolekül (4*Z*,9*Z*,15*Z*)-**7**, dessen Diastereomer (4*Z*,9*Z*,15*E*)-**7** problemlos durch die Verknüpfung von (*Z*)-**5** mit (*E*)-**6** darzustellen ist. Letzteres wird aber auch durch Photoisomerisierung des 10-Thiolalkohols oder des Kieselgeladsorbates von (4*Z*,9*Z*,15*Z*)-**7** gebildet.

(4*Z*, 9*Z*, 15*E*)-**7** besitzt eine vergleichbare thermische und photochemische Stabilität wie das entsprechende Diastereomere von **1**.

Im Rahmen dieser Synthesefolge ist der Umstand bemerkenswert, daß bei der Umlagerung von **4** zu (*Z*)-**5** nur ein einziges Diastereomeres bezüglich des Chiralitätszentrums in Position 3 gebildet wird. Dies läßt sich z. B. aus dem Vergleich der ¹H- und ¹³C-NMR-Daten mit jenen des entsprechenden Lysinderivates⁸ ableiten; für dieses wird der doppelte Satz charakteristischer, sauber voneinander getrennter Signale erhalten, wobei auch die präparative Trennung der beiden Diastereomeren möglich ist⁸. Damit verursacht in dieser, wahrscheinlich thermodynamisch gesteuerten Reaktion, der Cholesterylrest eine asymmetrische Synthese mit praktisch quantitativer enantiomerer Ausbeute!



Konfiguration und Tautomerie der geometrischen Isomeren von 7

Die Konfigurationen der beiden Diastereomeren von **7** an den exocyclischen Doppelbindungen folgt zunächst in Analogie zu früheren Ergebnissen⁴, aus den abschließenden Syntheseschritten sowie aus dem Umstand, daß das Produkt aus der Kondensation von (Z)-**5** mit (E)-**6** thermisch leicht in das Produkt der Kondensation zwischen (Z)-**5** und (Z)-**6** überführt werden kann. Das erstere Diastereomere (4Z, 9Z, 15E)-**7** zeigt verglichen mit (4Z, 9Z, 15Z)-**7** auch die erwartete langsamere chromatographische Beweglichkeit an Kieselgel.

Ordnet man nun die ¹H- und ¹³C-NMR-Signale in üblicher Weise zu (Verschiebungsanalogie³, Kopplungsphänomene³ und für den Cholesterylrest aus der Literatur^{9,10}), so ergeben sich aus diesen Spektren weitere Rückschlüsse auf die Konfiguration der beiden Diastereomeren: Die Methinsignale von (4Z, 9Z, 15Z)-**7** liegen sowohl im ¹H- als auch im ¹³C-Spektrum im typischen Verschiebungsbereich für diese Kerne bei analogen Verbindungen, wie (4Z, 9Z, 15Z)-**1**³ (siehe Exp. Teil). Demgegenüber beobachtet man für (4Z, 9Z, 15E)-**7** die Verschiebung des H-15- und CH₃-17-Signals zu kleineren, des C-15-Signals jedoch zu höheren Frequenzen. In den NOE-Differenzspektren werden für (4Z, 9Z, 15Z)-**7** Übertragungen von CH-5 auf CH₃-7, CH-10 auf CH₃-8 und CH₃-12, CH-15 auf CH₃-13 und CH₂-17 auf CH-15 beobachtet. Im Falle von (4Z, 9Z, 15E)-**7** wird demgegenüber kein Effekt von CH₂-17 auf CH-15 und von CH-15 auf CH₃-13 erhalten. Damit ist die Konfiguration an den exocyclischen Doppelbindungen von (4Z, 9Z, 15Z)-**7** und (4Z, 9Z, 15E)-**7** mehrfach abgesichert.

Eine mit **1**³ vergleichbare Tautomeriesituation im Bereich der Ringe B und C folgt aus dem unterschiedlichen Fernkopplungsverhalten von CH₃-7 und CH₃-8 einerseits und CH₃-12 und CH₃-13 andererseits. Sie ist — wie in der Formelübersicht für (4Z, 9Z, 15Z)-**7** und (4Z, 9Z, 15E)-**7** gezeigt — fixiert.

Konfiguration und Konformation von (4Z, 9Z, 15Z)-7 und (4Z, 9Z, 15E)-7

Die beiden Diastereomeren von **7** verfügen außerdem in Position 3 des Chromophors über ein Chiralitätszentrum. Hinsichtlich dieses Zentrums wird, wie im Syntheseabschnitt gezeigt, ausschließlich *ein* Enantiomeres erhalten. Die Absolutkonfiguration dieses Zentrums folgt allerdings nicht unmittelbar. Es stellte sich aber im Verlauf der konformationsanalytischen Untersuchung, die im folgenden diskutiert wird, heraus, daß es über die entsprechenden Daten eine Korrelationsmöglichkeit zwischen der Konfiguration an C-3 und der bekannten Absolutkonfiguration des Cholesterins — wenn auch mit aller gebotenen Vorsicht — gibt.

Für die Konformationsanalyse von (4Z, 9Z, 15Z)-**7** und (4Z, 9Z, 15E)-**7** konzentrierte man sich abwechselnd auf die Untersuchung

einzelner Fragmente und spektroskopische Daten, die Schlüsse auf die räumliche Anordnung des Gesamtsystems in Lösung (CHCl_3) zulassen:

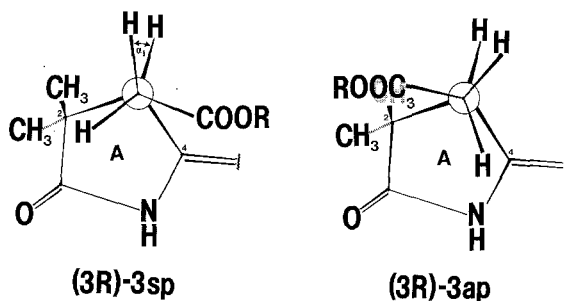
Zunächst folgt für das Chromophorfragment von (4*Z*, 9*Z*, 15*Z*)-**7** aus den oben erwähnten NOE-Differenzspekten die auch für Bilatriene-abc typische¹¹, flach helikale 5 sp, 10 sp, 14 sp Konformation. Diese wird auch für kristallisiertes **1**¹² und für CHCl_3 -Lösungen geeigneter Derivate durch Anwendung der LIS-Methodik¹³ gefunden. Entsprechendes gilt für (4*Z*, 9*Z*, 15*E*)-**7**, in dem nach dem NOE-Differenzspektrum kaum eine Änderung im Bereich der Ringe A, B und C eintritt. Gegenüber dem all-(*Z*)-Diastereomeren ist aber die Bindung zwischen C-14 und C-15 stärker verdreht. In Analogie zu entsprechenden Bilatrien-abc-Diastereomeren¹¹ und wegen der Abwesenheit eines NOE zwischen CH_3 -CH₂-17 und CH_3 -13 dürfte die Konformation in diesem Bereich 14 sc sein. Ein weiteres Fragment, das einer einfachen konformationsanalytischen Untersuchung zugänglich ist, liegt im Bereich der Position 3 des Chromophors vor: Das Fragment $\text{—HC}^5=\text{C}^4\text{—C}^3\text{H—CH}_2\text{—}$ gibt im ¹H-NMR-Spektrum ein ABCX-Spinsystem, dessen Kopplungskonstanten vom Torsionswinkel an der Bindung $\text{C}^3\text{H—CH}_2$ abhängen. Tabelle 1 enthält die mit Hilfe des Simulationsprogramms PANTIC¹⁴ errechneten Kopplungskonstanten und die beiden Diederwinkel α_1 und α_2 zwischen H-3, H und H' des CH_2 -Fragments. Diese Winkel erhielt man aus der Anwendung einer modifizierten *Karplus*-Gleichung (Programm CAG-PLUS¹⁵). Als Kontrolle kann dienen, daß sich α_2 etwa additiv aus α_1 und dem *Newman*-Projektionswinkel des CH_2 -Fragments, also 120°, zusammensetzen sollte.

Tabelle 1. *Kopplungskonstanten (J , Hz) und Diederwinkel α_1 , α_2 ($\pm 5^\circ$) des ABCX-Systems von 1 und 7*

Verbindung	J_{AB}	J_{AC}	J_{BC}	J_{CD}	α_1	α_2
(4 <i>Z</i> , 9 <i>Z</i> , 15 <i>Z</i>)- 1	16,3	8,0	6,8	1,4	30	145
(4 <i>Z</i> , 9 <i>Z</i> , 15 <i>E</i>)- 1	—	7,4	7,4	1,6	25	140
(4 <i>Z</i> , 9 <i>Z</i> , 15 <i>Z</i>)- 7	16,1	7,4	7,4	1,4	25	140
(4 <i>Z</i> , 9 <i>Z</i> , 15 <i>E</i>)- 7	22,2	8,5	6,9	1,8	20	135

Es sei betont, daß die zweite Möglichkeit, bei der $J_{AC} \approx J_{BC}$ ist, bei $\alpha_1 = 120^\circ$ und $\alpha_2 = 240^\circ$ liegt, wofür die Größe der Kopplungskonstante aber lediglich den halben Wert der gemessenen aufweisen müßte. Für die in Tabelle 1 gefundene Situation gibt es am Ring A bei vorgegebener Konfiguration an C-3 wiederum zwei Möglichkeiten der Konformation an der Bindung $\text{C}^3\text{H—CH}_2\text{COOR}$ (3 sp oder 3 ap). Wie aber Schema 1 für das Beispiel der Konfiguration (3*R*) verdeutlicht, ist durch die Wechselwirkung zwischen dem raumerfüllenden Fragment —COOR mit der geminalen Dimethylgruppierung in Position 2 des Chromophors das 3 ap-Konformere auszuschließen.

Schema 1



Der bevorzugte Aufenthaltsort des Esterfragmentes von (4*Z*, 9*Z*, 15*Z*)-**7** und (4*Z*, 9*Z*, 15*E*)-**7** in der Nähe des Chromophors — wie er aus dem Diederwinkel α_1 abzuleiten ist — legt es nahe, nach möglichen Wechselwirkungen zwischen dem Cholesterylfragment und dem Chromophor zu suchen. Dazu sollte ein 2D-NOE-Experiment (NOESY) vor allem dann geeignet sein, wenn man durch die Vorgabe verlängerter Mischungszeiten auch die Beobachtung von NOE-Beziehungen zwischen weiter entfernten Protonen ($\sim 5 \text{ \AA}$) ermöglicht¹⁶. Da die beiden Subsysteme des Chromophors und des Cholesterylfragments durch die „Spinbarriere“ der Estergruppierung voneinander entkoppelt sind, kann gegebenenfalls auftretende Spindiffusion — wie sie unter den genannten Meßbedingungen möglich ist — zu keiner Fehlinterpretation von Korrelationssignalen zwischen Gruppen der beiden Subsysteme führen. Abb. 1 und 2 zeigen diese Experimente für (4*Z*, 9*Z*, 15*Z*)-**7** und (4*Z*, 9*Z*, 15*E*)-**7**: Dabei wurden vor allem die Korrelationen zwischen Gruppen der jeweiligen Subsysteme mit durchgehenden Korrelationslinien hervorgehoben. So korreliert die Methingruppe 10, nicht aber 5 und 15 des Chromophors mit der Methylgruppe 18' [(*Z*, *Z*, *Z*)-**7**] bzw. 26', 27' [(*Z*, *Z*, *E*)-**7**] des Cholesterylfragments. Mit den Methylgruppen 7, 12 und 13 stehen die Cholesterylgruppierungen 18', 19' und 26' bzw. 27' in Wechselwirkung. Schwächere Korrelationen sind darüber hinaus ebenfalls gegeben, sie werden aber wegen des geringen Signal-Rauschverhältnisses nicht in die Argumentation einbezogen. Geringe Spindiffusion innerhalb der Subsysteme wird z. B. durch eine Korrelation zwischen CH_3 -8 und CH_3 -13 angezeigt, sie ist aber offenbar für die Wechselwirkung zwischen den beiden Subsystemen nicht relevant, da man ja sonst auch eine Korrelation von Cholesterylprotonen mit z. B. CH-5 des Chromophors beobachten sollte, was aber, wie oben erwähnt, nicht der Fall ist. Daneben werden natürlich auch Korrelationen zwischen den Chromophorprotonen erhalten (unterbrochene Korrelationslinien), wie sie im NOE-Differenzspektrum (kurze Aufbauzeiten!) eingangs disku-

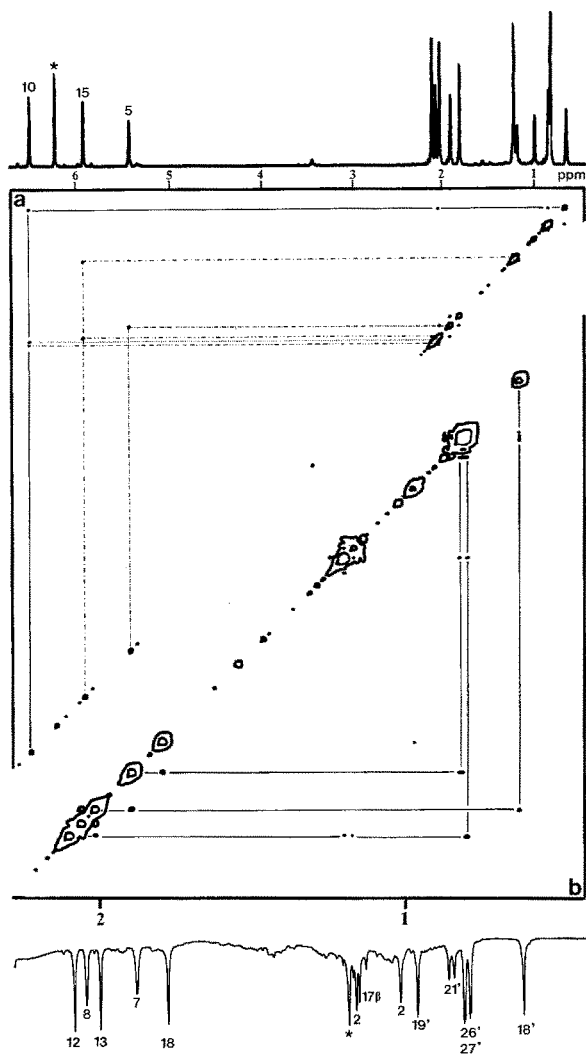


Abb. 1. Homonuklear NOE-korreliertes 2-D- ^1H -NMR-Spektrum (NOESY) von (4Z, 9Z, 15Z)-7 [CDCl_3 ; (a) Ausschnittvergrößerung; (b) (tieferes Niveau der Konturlinien!) des Alifatenbereichs]. Die Korrelationen zwischen Chromophorprotonen und Cholesterylprotonen sind mit durchgehenden Linien, für den Bilatrienchromophor konfigurationsrelevante mit unterbrochenen Linien hervorgehoben. Faltungsartefakte und Verunreinigungen: ★

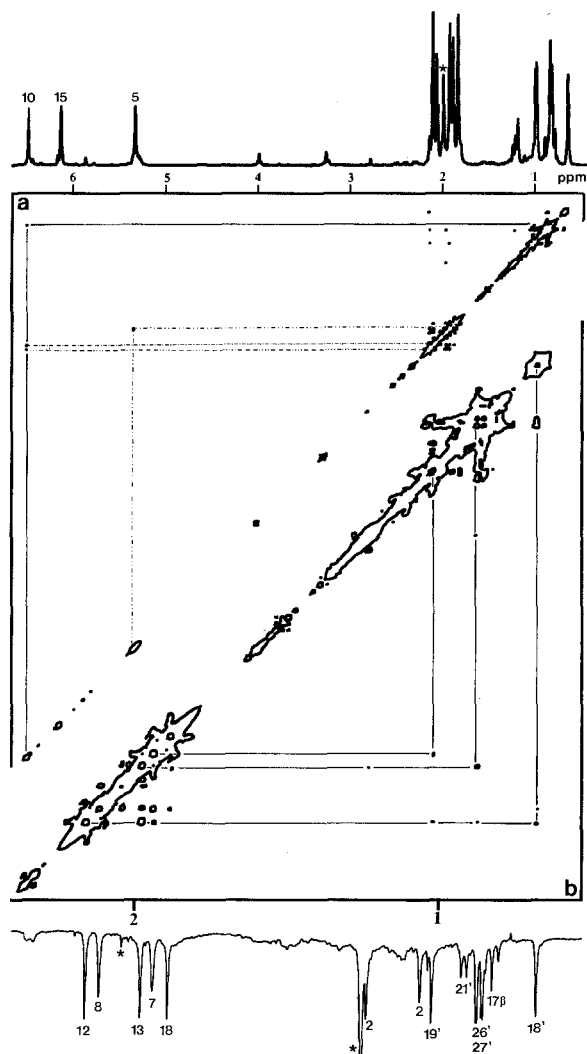
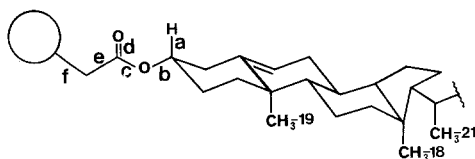


Abb. 2. Homonuklear NOE-korreliertes 2-D- ^1H -NMR-Spektren (NOESY) von (4*Z*, 9*Z*, 15*E*)-7 [CDCl_3]; (a) Ausschnittvergrößerung; (b) (tieferes Niveau der Konturlinien!) des Alifatenbereichs]. Die Korrelationen zwischen Chromophorprotonen und Cholesterylprotonen sind mit durchgehenden Linien, für den Bilatrienchromophor konfigurationsrelevante mit unterbrochenen Linien hervorgehoben. Faltungsartefakte und Verunreinigungen: ★

tiert wurden. Die NOESY-Befunde lassen demnach darauf schließen, daß der Cholesterylrest im Zeitmittel mit seiner „Oberseite“ (d. h. also jener Seite, auf die die angularen Methylgruppen 18' und 19' zu liegen kommen) der Chromophorhelix zugewandt ist. Inwieweit dies nun unter Einbeziehung der Konformationscharakteristik des Bindungsfragmentes zwischen Chromophor und Cholesterylrest möglich ist, soll im Rahmen der folgenden Diskussion untersucht werden:

Wie Schema 2 zeigt, liegen in diesem Bindungsfragment prinzipiell vier Rotationsfreiheitsgrade vor: Einer davon (um *f*) wurde bereits oben durch Analyse des Kopplungsphänomens auf 3 sp eingeschränkt.

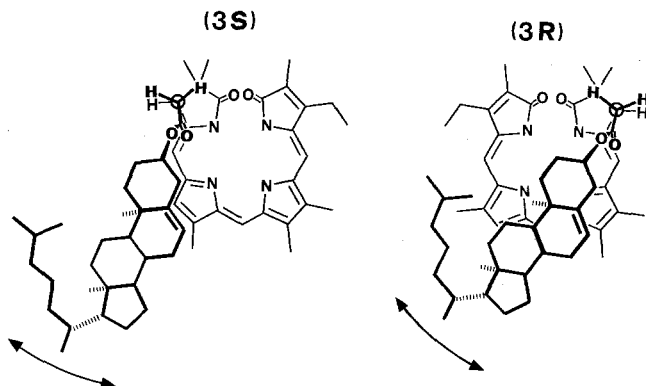
Schema 2



Hinsichtlich der Rotation um *b* ist, wie die Inspektion eines Kalottenmodells zeigt, eine *sp*-Konformation bezüglich *abc* mit einem Diederwinkel um 30° zwanglos möglich. Röntgenstrukturanalytische Untersuchungen an Cholesterylestern¹⁷ zeigen wie auch Ester sekundärer Alkohole¹⁸ diese plausible Anordnung an dieser Bindung. Bezüglich der Situation an *bce* liegt sowohl für den kristallinen Zustand^{17,18} als auch für Lösungen¹⁹ ein umfassendes Material vor, aus dem man mit großer Wahrscheinlichkeit auf eine weitgehend planare *ap*-Konformation an dieser Bindung schließen kann. Damit bleibt der Rotationsfreiheitsgrad an Bindung *e* offen. Wie die Betrachtung eines Kalottenmodells sofort zeigt, ist eine Wechselwirkung zwischen Cholesterylmethylgruppen und Chromophor nur möglich, wenn der Torsionswinkel *def* um 90° liegt. Aus einer Studie über die Konformation der Estergruppierung im kristallinen Zustand ist bekannt¹⁸, daß die Verdrillung im Bereich des eben diskutierten Winkels in einem weiten Bereich von 0–180° liegen kann.

Verknüpft man nun dieses Cholesterylessigsäureesterfragment in der oben abgeleiteten Konformation mit C-3 des Chromophors, so kann eine Wechselwirkung der angularen Methylgruppen des Cholesterylfragments und Gruppen des Chromophors nur im Falle der (*R*)-Konfiguration an C-3 auftreten. Wie Schema 3 zeigt, ist dies auf die diastereomere Wechselbeziehung der beiden, bezüglich der Zeichenebene chiralen Subsysteme des Chromophors und des Essigsäurecholesterylesterfragments zurückzuführen. Mit Vorsicht folgern wir daraus, daß dem Chiralitätszentrum in 3 die Absolutkonfiguration (*R*) zuzuordnen ist.

Schema 3



Die damit für das Gesamtmolekül abgeleitete Konformation ist aber natürlich mit einer gewissen Librationsbewegung versehen (also als dynamisches Mittel) zu sehen, wie dies in Schema 3 durch Pfeile angedeutet ist. Eine analoge Argumentation führt für (4*Z*, 9*Z*, 15*E*)-7 zu einem ähnlichen Ergebnis.

Was nun die Helizität des Dihydrobilatrien-chromophors anbelangt, so deutet das jeweils einfache Liniensystem des ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektrums bei Raumtemperatur auf zwei Möglichkeiten hin: Entweder liegt lediglich ein Helixenantiomeres vor oder es kommt zu einem raschen Austausch zwischen den Helizes der Konfigurationen (P) und (M) auf der Basis eines Interkonversionsprozesses. Aufnahme der ^1H -NMR-Spektren von (4*Z*, 9*Z*, 15*Z*)-7 und (4*Z*, 9*Z*, 15*E*)-7 bei 190 K gibt außer geringfügigen Verschiebungen und Linienverbreiterungen keinerlei Hinweise auf das Einfrieren eines solchen Austauschprozesses. Dies schränkt die Möglichkeiten auf einen Austauschprozeß zwischen vergleichbar populierte, enantiomeren Helizes mit geringer Aktivierungsbarriere oder einem reinen Helixenantiomeren lediglich in energetischer Hinsicht ein. Eine Entscheidung zwischen diesen beiden Möglichkeiten bringt aber die Untersuchung chiroptischer Eigenschaften: Abb. 3 zeigt die CD-Spektren zusammen mit den UV-VIS-Spektren für die beiden geometrischen Isomeren von 7. Die Größe des chiroptischen Effekts liegt in derselben Größenordnung, wie er für eine nur wenig vom Mischungsverhältnis der beiden enantiomeren Helizes von 1:1 abweichenden Populationen zu erwarten ist²⁰. Für ein reines Helixenantiomeres sollte der CD wenigstens den zwanzigfachen Wert des tatsächlich beobachteten haben. Damit ist bezüglich der Konformationssituation im Chromophorbereich ein mit geringer Aktivierungsbarriere interkonvertiertes Helixenantiomerenpaar gegeben. Dessen Population weicht nur gering-

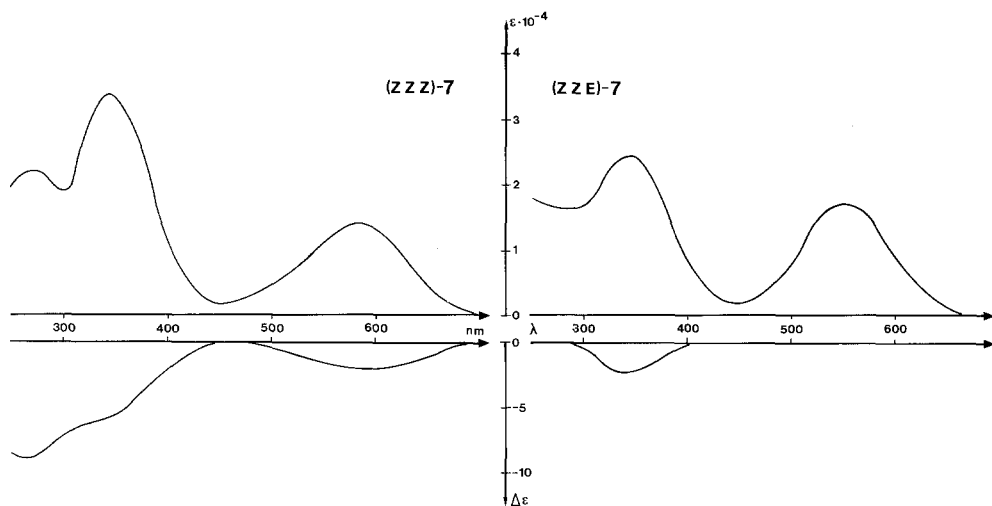


Abb. 3. UV-VIS- und CD-Spektren von (4Z, 9Z, 15Z)-7 und (4Z, 9Z, 15E)-7 (CHCl_3 ; $c = 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$)

fällig von einer razemischen Verteilung ab²¹. Offenbar ist das chirale System an C-3 nicht imstande, eine der beiden Helixkonfigurationen zu stabilisieren. Die damit zusammenhängenden Probleme sowie die optische Aktivität solcher Systeme soll später in größerem Zusammenhange diskutiert werden.

Zusammenfassende Bemerkungen

Die oben erhaltenen Ergebnisse führen zum Schluß, daß der Cholesterylrest in der Lage ist, mit dem 2,3-Dihydrobilatrien-abc-Chromophor über hydrophobe Wechselwirkungen eine „kompakte“ Konformation aufzubauen, in der sich Cholesterylrest und Chromophor räumlich sehr nahe kommen (vgl. Schema 3). Diese Wechselwirkung ist allerdings zu wenig ausgeprägt, um das konformative Verhalten der Chromophor-Substruktur (verglichen mit Verbindungen wie **1**) zu beeinflussen: Die UV-VIS-Spektren korrespondierender Diastereomere von **1** und **7** unterscheiden sich voneinander praktisch nicht. Ebenso werden bei Protonierung vergleichbare⁶ Verschiebungen und Intensitätsänderungen erhalten. Aber auch eine relative Stabilisierung eines Helixenantiomeren wird durch diese Wechselwirkung nicht ermöglicht, was vor dem Hintergrund einer mit quantitativer enantiomerer Ausbeute ablaufenden asymmetrischen Synthese von (Z)-**5** bemerkenswert ist.

Damit ist aber, was das Verständnis der spektralen Änderungen bei den Transformationen des Phytochroms² anbelangt, ein Einfluß hydro-

phober Wechselwirkungen zwischen Chromophor und Alkylresten des Proteins weitestgehend auszuschließen. Die Energie dieser Wechselwirkung kann zwar die Ausbildung niederenergetischer Anordnungen beeinflussen, sie ist aber sicherlich für eine Änderung des Konformationsverhaltens des Chromophors zu schwach. Zwar sollten diese Wechselwirkungen in polaren Systemen noch stärker zum Ausdruck kommen, entsprechende spektroskopische Daten der Diastereomeren von **7** in Methanol zeigen aber, daß dies, wenn überhaupt, in nur sehr geringem Umfang der Fall ist und dabei eher noch die Wechselwirkung des polaren Chromophors mit dem polaren Lösungsmittel im Vordergrund steht.

Dank

Herrn Dr. W. Buchberger und Frau Ing. S. Wansch danken wir für die Aufnahme von MS-Spektren sowie für Aufnahme von IR-Spektren und präparative Arbeiten sehr herzlich.

Experimenteller Teil

Schmelzpunkte bestimmte man mit einem Kofler-Heiztischmikroskop (Reichert); die ^1H -, ^{13}C -, IR-, M-, UV-VIS- und CD-Spektren erhielt man mit Hilfe der Bruker-WM360-, Varian-FT80A-, Zeiss-IMR-25-, Finnigan-MAT-115-, Perkin-Elmer-330- und Jobin-Yvon-Mark-V-Spektrometer. Zur Aufnahme der Daten dienten jeweils Lösungsmittel spektroskopischer Reinheit. Für die NOE- und NOESY-Daten entgaste man die Lösungen durch Spülen mit Argon ($c = 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$, CDCl_3). Die Aufnahme der NOE-Differenzspektren erfolgte mit dem Aspect-2000-Microprogramm NOEDIFF. Die Sättigungsdauer betrug 0,4 s, der Anregungspuls $1,8 \mu\text{s}$ (30°) und die Relaxationsverzögerung 4 s. Für die NOESY-Experimente fand das Aspect-2000-Microprogramm NOSY Anwendung. Die Mischungszeit betrug 1 s und wurde um 25% statistisch variiert. Die drei 90° -Pulse dauerten je $5,6 \mu\text{s}$. Die spektrale Breite in beiden Dimensionen war 2300 Hz. Für 256 Zeilen der Zeitdomänen-Datenmatrix wurden je 128 freie Induktionsabfälle auf 2048 Datenpunkte unter cyclischer Phasenvariation zur Quadraturdetektion in f_1 akkumuliert. Vor der Fouriertransformation wurde mit einer optimierten Pseudoecho-Funktion zur Auflösungsverbesserung multipliziert.

Die Verbindungen (4Z, 9Z, 15Z)-**1** und (4Z, 9Z, 15E)-**1** sind in der Literatur^{3,4} beschrieben.

Cholesteryloxy carbonylmethylentriphenylphosphoran [**2**; $\text{C}_{47}\text{H}_{61}\text{O}_2\text{P}$]

1,15 g (4,4 mmol) Triphenylphosphin und 2,23 g Cholesteryl bromoacetat²² (4,4 mmol) löst man in 50 ml absol. Benzol und kocht unter kräftigem Rühren 8 h am Rückfluß. Dann engt man auf 10 ml ein, kühlt 30 min auf 0° , saugt den Niederschlag ab, wäscht ihn mit etwas Benzol und löst ihn in 20 ml CHCl_3 . Überschieben mit 60 ml H_2O unter Schütteln und Titration mit 1 N NaOH bis zum Umschlag von Phenolphthalein gibt einen organischen Extrakt, der mit Na_2SO_4 getrocknet und einrotiert wird. Umkristallisieren des Rückstandes aus Petrolether/Ethylethanoat (3/1) bei -20°C gibt 2,36 g (78% d. Th.); Schmp. $165\text{--}170^\circ\text{C}$.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ , 80 MHz): 7,40 (m, *Ph*), 5,23 (m, =CH—), 4,40 (m, —OCH—), 2,81 (breites s, $\text{P}=\text{CH}$ —), 2,30—0,70 (m, Cholesterylprotonen), 0,66 (s, CH_3 -18') ppm. IR (KBr): 1613 cm^{-1} . MS (FD, 4,5 kV, 20 mA): $M = 688,5$; $M_{\text{ber.}} = 688,44$.

(2*rac*)-(Z)-3-Cholesteryloxycarbonylmethylen-2,3,4,5-tetrahydro-3'',4,4,4''-tetramethyl-5-oxo-2,2''-dipyrromethan-5''-carbonsäure-tert-butylester [4; $\text{C}_{47}\text{H}_{72}\text{N}_2\text{O}_5$]

570 mg **3**²³ (1,7 mmol) und 1940 mg **2** (2,82 mmol) werden in 15 ml *p*-Xylol aufgeschlämmt, mit Argon gespült und unter Ar 40 h am Rückfluß gekocht. Nach Abrotieren wird in 20 ml Ether aufgenommen, vom Triphenylphosphin-oxid filtriert, einrotiert und der Rückstand an Kieselgel chromatographiert (Petrolether/Ethylethanoat = 3/1). Ausb. 839 mg (66% d. Th.); Schmp. 136 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ , 80 MHz): 9,20 (breites s, NH-1''), 6,36 (breites s, NH-1), 5,81 (d, $J = 2$, 2 Hz, CH-3), 5,37 (m, CH-6'), 5,01 (m, CH-2), 4,65 (m, CH-3'), 3,22 (dd, $J_1 = 14$ Hz, $J_2 = 3$ Hz, CH_2), 2,82 (dd, $J_1 = 14$ Hz, $J_2 = 8$ Hz, CH_2), 2,99 (s, CH_3 -4''), 2,35 (m, CH_2 -1'), 1,92 (s, CH_3 -3''), 1,52 (s, *tert*-Bu), 1,27 (s, CH_3 -4), 1,04 (s, CH_3 -19'), 0,92 (d, $J = 6,5$ Hz, CH_3 -21'), 0,86 (d, $J = 6,5$ Hz, CH_3 -26' + CH_3 -27'), 0,68 (s, CH_3 -18'), 2,20—0,70 (m, Cholesterylprotonen) ppm. IR (KBr): 1710, 1664 cm^{-1} . MS (FD; 4,5 kV, 25 mA): $M = 744,4$; $M_{\text{ber.}} = 744,54$.

(3*R*?)-(Z)-3-Cholesteryloxycarbonylmethyl-1,3,4,5-tetrahydro-3'',4,4,4''-tetramethyl-5-oxo-2,2''-pyrromethen-5''-carbonsäure-tert-butylester [(Z)-5; $\text{C}_{47}\text{H}_{72}\text{N}_2\text{O}_5$]

Die Umlagerung von **4** erfolgte in Analogie zum früher beschriebenen analogen Edukt²³ von **1** mit *K-tert*-Butanolat und Benzoesäure. Chromatographie an Silikagel (CHCl_3 /Ethylethanoat = 7/1) gibt in einer Ausbeute von 50% d. Th. (Z)-5 vom Schmp. 185—186 °C.

$^1\text{H-NMR}$ -(CDCl_3 , δ , 360 MHz): 8,80 (breites s, NH-1''), 8,09 (breites s, NH-1), 5,38 (m, =CH-6'), 5,34 (s, =CH—), 4,69 (m-CH-3'), 3,26 (t, $J = 7,5$ Hz, CH-3), 2,56 (d, $J = 7,5$ Hz, CH_2 -3), 2,35 (m, CH_2 -1'), 2,21 (s, CH_3 -4''), 1,90 (s, CH_3 -3''), 1,85 (m, Cholesterylprot.), 1,54 (s, *tert*-Butyl), 1,50 (m, Cholesterylprot.), 1,27 (s, CH_3 -4), 1,12 (s, CH_3 -4), 1,02 (s, CH_3 -19'), 0,92 (d, $J = 6,5$ Hz, CH_3 -21'), 0,87 (2 d, $J = 6,6$ Hz, CH_3 -26' + CH_3 -27'), 0,68 (s, CH_3 -18') ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , δ , 90,56 MHz, breitbandentkoppelt): 181,6 (5), 171,3 (3 β), 161,4 (5'' α), 140,1 (5'), 139,4 (2), 127,5 (4''), 126,7 (2''), 123,0 (6'), 120,3 (3''), 118,6 (5''), 92,3 (=CH—), 80,6 (*tert*-Butyl- α), 74,8 (3'), 56,8 (14'), 56,3 (17'), 50,1 (9'), 46,6 (3 α), 43,7 (4), 42,4 (13'), 39,8 (12'), 39,6 (24'), 38,2 (4'), 37,0 (1'), 36,7 (10'), 36,3 (22'), 35,8 (20'), 34,8 (3), 31,9 (7' + 8'), 28,5 (*tert*-Butyl- β), 28,2 (16'), 28,0 (25'), 27,8 (2'), 24,6 (4 α), 24,3 (15'), 23,9 (23'), 22,8 (27'), 22,6 (26'), 21,1 (11'), 19,7 (4 α), 19,3 (19'), 18,8 (21'), 11,9 (18'), 10,7 (4'' α), 9,5 (3'' α) ppm; für die Zuordnung der pyrrolischen Zentren siehe ²⁴.

IR (KBr): 1734, 1677 cm^{-1} . UV-(CHCl_3): $\lambda = 305$ (14350) nm (ϵ). MS (FD; 4 kV, 25 mA): $M = 744,5$; $M_{\text{ber.}} = 744,54$.

(3*R*?)-(4*Z*,9*Z*,15*Z*)-3-Cholesteryloxycarbonyl-methyl-17-ethyl-2,2,7,8,12,13,18-hepta-methyl-1,19-dioxo-1,2,3,19,12,24-hexahydro-21*H*-bilin
[(4*Z*,9*Z*,15*Z*)-7; $\text{C}_{57}\text{H}_{80}\text{N}_4\text{O}_4$]

Dies wird in Analogie zur Darstellung von (4*Z*,9*Z*,15*Z*)-1³ aus der Kondensation von (Z)-5 mit dem Aldehyd (Z)-6³ unter Einwirkung von CF_3COOH mit einer Ausbeute von 80% d. Th. erhalten; Schmp. 234 °C (Zers.).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ , 360 MHz): 6,56 (s, =CH-10), 5,97 (s, =CH-15), 5,48 (X-Teil d. ABCX, Tab. 1, =CH-5), 5,39 (m, =CH-6'), 4,70 (m, CH-3'), 3,46 (C-Teil d. ABCX, Tab. 1, CH-3), 2,75 und 2,69 (AB-Teil d. ABCX, Tab. 1, CH_2 -3), 2,46 (q, $J = 7,6$ Hz, CH_2CH_3 -17), 2,25 (m, CH_2 -1'), 2,09 (s, CH_3 -12), 2,05 (s, CH_3 -8), 2,00 (s, CH_3 -13), 1,88 (s, CH_3 -7), 1,78 (s, CH_3 -18), 1,18 (s, CH_3 -2), 1,16 (t, $J = 7,6$ Hz, CH_2CH_3 -17), 1,02 (s, CH_3 -2), 0,96 (s, CH_3 -19'), 0,85 (d, $J = 6,4$ Hz, CH_3 -21'), 0,80 und 0,79 (je 1 d, $J = 6,6$ Hz, CH_3 -26' und CH_3 -27'), 0,61 (s, CH_3 -18') ppm.

NOE-Differenzspektrum: CH-5 $\rightarrow$ CH_3 -7; CH-10 $\rightarrow$ CH_3 -8 + CH_3 -12; CH-15 $\rightarrow$ CH_3 -13; CH_2 -17 $\rightarrow$ CH-15.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , δ , 90,56 MHz, breitbandentkoppelt): 181,5 (1), 174,2 (19), 171,9 (3 β), 165,7 + 150,8 + 147,7 + 139,7 + 139,3 + 135,8 + 134,1 + 132,8 + 127,2 + 124,0 + 122,8 + 122,7 (quartäre Chromophor-C-Atome), 140,9 (5'), 121,7 (6'), 111,7 (10), 96,7 (15), 92,4 (5), 74,7 (3'), 56,9 (14'), 56,3 (17'), 50,3 (9'), 46,3 (3), 42,8 (2), 42,4 (13'), 39,9 (12'), 39,6 (24'), 38,3 (4'), 37,4 (1'), 36,6 (10'), 36,3 (22'), 35,8 + 35,7 (20' + 3 α), 32,0 + 31,9 (7' + 8'), 28,3 (16'), 28,1 (25' + 2), 26,0 (2 α), 24,4 (15'), 23,9 (23'), 22,8 + 22,6 (26' + 27'), 21,2 (11'), 19,4 + 19,3 (2 α + 19'), 18,8 (21'), 18,0 (17 β), 14,4 (17 β), 11,9 (18'), 9,7 + 9,3 + 9,3 + 9,3 (8 α + 12 α + 13 α + 7 α), 8,3 (18 α) ppm.

Die Zuordnung erfolgte aus Literaturdaten des Cholesterins¹⁰ bzw. der Anwendung der INEPT-Technik sowie dem Vergleich mit ^{13}C -Spektren von 2,3-Dihydrobilatrienen²⁴.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , δ , 360 MHz) wegen der geringen Löslichkeit nur Teilzuordnungen: 6,65 (s, =CH-10), 6,03 (s, CH-15), 5,47 (breites s, =CH-5), 5,28 (m, CH-6'), 2,69 (m, CH_2 -3), 2,50 (q, $J = 7,3$ Hz, CH_2 -17), 2,10 (s, CH_3 -12), 2,06 (s, CH_3 -8), 2,01 (s, CH_3 -13), 1,89 (s, CH_3 -7), 1,73 (s, CH_3 -18), 1,13 (s, CH_3 -2), 0,80 (d, $J = 6,5$ Hz, CH_3 -26' + CH_3 -27'), 0,64 (s, CH_3 -18') ppm.

IR (KBr): 1735, 1689, 1631, 1591 cm^{-1} . UV-VIS (CHCl_3): $\lambda = 271$ (20 600), 344 (34 700), 580 (14 900) nm (ϵ); UV-VIS (CH_3OH): $\lambda = 268$ (25 700), 339 (36 000), 582 (14 300) nm (ϵ). MS (FD; 4,5 kV, 25 mA): es wird M (884) nicht erhalten, sondern lediglich uncharakteristische Fragmentmassen.

(3*R*)-(4*Z*, 9*Z*, 15*E*)-3-Cholesteryloxycarbonyl-methyl-17-ethyl-2,2,7,8,12,13,18-heptamethyl-1,19-dioxo-1,2,3,19,23,24-hexahydro-21*H*-bilin[(4*Z*, 9*Z*, 15*E*)-7; $\text{C}_{57}\text{H}_{80}\text{N}_4\text{O}_4$]

In Analogie zu (4*Z*, 9*Z*, 15*E*)-1⁵ erhält man (4*Z*, 9*Z*, 15*E*)-7 mit sowohl durch Kondensation von (*Z*)-5 mit (*E*)-6⁵ als auch photochemisch aus dem Thioladdukt von (4*Z*, 9*Z*, 15*Z*)-7; Ausbeuten 85 bzw. 43% d. Th.; Schmp. 230 °C (Zers. nach vorheriger Umwandlung).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ , 360 MHz): 6,60 (s, =CH-10), 6,24 (s, =CH-15), 5,43 (d, $J = 1,8$ Hz, X-Teil d. ABCX-Systems, =CH-5), 5,38 (m, CH-6'), 4,69 (m, CH-3'), 3,04 (C-Teil d. ABCX-Systems, Tab. 1, CH-3), 2,57 (AB-Teil d. ABCX-Systems, CH_2 -3), 2,45 (q, $J = 7,6$ Hz, CH_2 -17), 2,35 (m, CH_2 -1'), 2,16 (s, CH_3 -12), 2,12 (s, CH_3 -8), 1,98 (s, CH_3 -13), 1,94 (s, CH_3 -7), 1,89 (s, CH_3 -18), 1,95 (m, Cholesterylprotonen), 1,50 (m, Cholesterylprotonen), 1,24 (s, CH_3 -2), 1,06 (s, CH_3 -2), 1,02 (s, CH_3 -19'), 0,92 (d, $J = 6,2$ Hz, CH_3 -21'), 0,87 und 0,86 (je 1 d, $J = 6,6$ Hz, CH_3 -26' und CH_3 -27'), 0,82 (t, $J = 7,6$ Hz, CH_2CH_3 -17), 0,68 (s, CH_3 -18') ppm.

NOE-Differenzspektrum: CH-15 $\rightarrow$ CH_3 -7; CH-10 $\rightarrow$ CH_3 -8 + CH_3 -12.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , δ , 90,56 MHz, breitbandentkoppelt): 180,7 (1), 171,2 + 171,0 (19 + 3 β), 165,6 + 149,6 + 149,3 + 144,8 + 138,8 + 132,6 + 132,3 + 131,5 + 130,8 + 129,9 + 128,3 + 120,0 (quartäre Chromophor-C-Atome), 139,8 (5'), 122,2 ('), 112,8 (10), 101,5 (15), 92,5 (5), 74,8 (3'), 56,9 (14'), 56,1 (17'), 50,0

(9'), 46,4 (3), 43,3 (2), 42,3 (13'), 39,7 (12'), 39,5 (24'), 38,2 (4'), 37,0 (1'), 36,6 (10'), 36,1 (22'), 35,8 (20'), 34,8 (3 α), 31,9 + 31,8 (7' + 8'), 29,7 + 28,2 + 28,0 (16' + 25' + 2'), 25,2 (2 α), 24,3 (15'), 23,8 (23'), 22,8 + 22,5 (26' + 27'), 21,0 (11'), 20,1 (2 α), 19,3 + 19,2 + 18,7 (17 β + 19' + 21'), 13,2 (17 α), 11,8 (18') + 9,8 + 9,7 + 9,6 + 9,5 (7 α + 8 α + 12 α + 13 α), 8,9 (18 α) ppm.

IR (KBr): 1 735, 1 681, 1 630, 1 595 cm⁻¹. UV-VIS (CHCl₃): λ = 348 (24 800), 550 (18 000) nm (ϵ). MS: siehe (4Z, 9Z, 15Z)-7.

Die Aufnahme der ¹H-NMR-Spektren (CD₂Cl₂, 360 MHz) von (Z, Z, Z)- und (Z, Z, E)-7 zwischen 300 und 190 K erfolgte mit Hilfe des Bruker-Tiefemperaturzusatzes BVT-1000, Eichung mit Ethylenglycol.

Literatur

- ¹ 53. Mitt.: Falk H., Wolschann P., Zrunek U., Monatsh. Chem. **115**, 243 (1984).
- ² Siehe z. B. die Übersicht: Rüdiger W., Structure and Bonding **40**, 258 (1980).
- ³ Falk H., Grubmayr K., Magauer K., Müller N., Zrunek U., Israel J. Chem. **23**, 187 (1983).
- ⁴ Falk H., Grubmayr K., Kapl G., Müller N., Zrunek U., Monatsh. Chem. **114**, 753 (1983).
- ⁵ Falk H., Kapl G., Müller N., Monatsh. Chem. **114**, 773 (1983).
- ⁶ Falk H., Zrunek U., Monatsh. Chem. **114**, 983 (1983); **114**, 1107 (1983) und **115**, 101 (1984).
- ⁷ Grubmayr K., Monatsh. Chem. **113**, 1073 (1982).
- ⁸ Edinger J., Falk H., Jungwirth W., Müller N., Zrunek U., Monatsh. Chem., im Druck.
- ⁹ Hinckley C. C., J. Amer. Chem. Soc. **91**, 5160 (1969).
- ¹⁰ Joseph-Nathan P., Mejiy G., Abramo-Bruno D., J. Amer. Chem. Soc. **101**, 1289 (1979).
- ¹¹ Falk H., Grubmayr K., Haslinger E., Schleder T., Thirring K., Monatsh. Chem. **109**, 1451 (1978).
- ¹² Kratky C., in Vorbereitung.
- ¹³ Falk H., Kapl G., Müller N., Zrunek U., Z. Naturforsch., im Druck.
- ¹⁴ Programm PANIC, Version 820601 auf Aspect-2000-Computer (Bruker).
- ¹⁵ Programm CAGPLUS (Abacus Prog. Nr. ABA-037): Haasnoot C. A. G., Tetrahedron **36**, 2783 (1980); Aspect-2000-Computer (Bruker). (Wir danken Herrn Dr. Haasnoot für die Überlassung einer verbesserten Programmversion.)
- ¹⁶ Kumar A., Wagner G., Ernst R. R., Wüthrich K., J. Amer. Chem. Soc. **103**, 3654 (1981).
- ¹⁷ Z. B.: Cholesterylazetat: Sawzik P., Craven B. M., Acta Cryst. **35 B**, 895 (1979); Cholesteryllaurat: Sawzik P., Craven B. M., Acta Cryst. **35 B**, 789 (1979). Suche im „Cambridge Crystallographic Data File“ ergab insgesamt 17 Kristallstrukturanalysen verschiedener Cholesterylester, die hinsichtlich der diskutierten Konformation im Bereich der Estergruppierung große Ähnlichkeit aufweisen. Wir danken Herrn Dr. C. Kratky (Univ. Graz) sehr herzlich für diese Daten sowie den Hinweis auf Lit.¹⁸.
- ¹⁸ Schweizer B., Dunitz J. D., Helv. Chim. A. **65**, 1547 (1982).
- ¹⁹ Jones G. I. L., Owen N. L., J. Mol. Struct. **18**, 1 (1973); Nakanishi H., Fujita H., Yamamoto O., Bull. Chem. Soc. Jap. **51**, 214 (1978); Bailey J., North A. M., Walker S. M., J. Mol. Struct. **6**, 53 (1970).
- ²⁰ Vgl. Falk H., Thirring K., Tetrahedron **37**, 761 (1981).

²¹ Das für Lit.⁸ eingangs erwähnte Lysinderivat von **1** zeigt in CHCl_3 im Bereich der langwelligen Bande ein $\Delta\epsilon$ von ca. 50!

²² Landowne R. A., Lipsky S. R., Anal. Chem. **35**, 532 (1963).

²³ Grubmayr K., Monatsh. Chem. **113**, 1073 (1983).

²⁴ Falk H., Müller N., Vormayr G., Org. Magnet. Res., im Druck.