

Strukturuntersuchungen an chiralen Schiff-Basen des 11-*cis*-Retinals

Structure Investigation of Chiral Schiff Bases of 11-*cis*-Retinal

Volker Buß*, Verena Haas und Ute Wingen

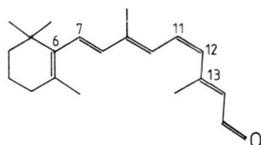
Fachgebiet Theoretische Chemie der Universität, Lotharstraße 1, D-4100 Duisburg, FRG

Z. Naturforsch. **44b**, 333–344 (1989); eingegangen am 7. Oktober 1988

Retinals, Schiff Bases, Chirality

CD and UV spectra of four chiral 11-*cis*-retinal Schiff bases obtained by condensing the aldehyde with asymmetric amines are used to gain structural information about the polyene conformation. The spectra are temperature-dependent indicating the same 12-*s-cis/trans* equilibrium as in 11-*cis*-retinal. In addition, CD absorptions arise at lower temperatures whose only origin is the inherent dissymmetric nature of the retinylidene chromophore. CNDO/S-calculations performed on the basis of force-field optimized geometries give results which can partially be rationalized on the basis of experimental data. Quantitative agreement is obtained in the case of chiral hydrogen-bonded dimers.

11-*cis*-Retinal (**1**) ist der Chromophor des Sehpigments Rhodopsin, in dem es in Form einer protonierten Schiff-Base kovalent mit einer Lysineinheit des Membranproteins Opsin verknüpft ist. Der photochemisch ausgelöste Sehprozess [1] führt über die Isomerisierung



der C(11)–C(12)-Doppelbindung und eine Reihe von weiteren Umlagerungen schließlich zur Freisetzung von *all-trans*-Retinal unter gleichzeitigem Aufbau einer Potentialdifferenz über die Membran der Photorezeptorzelle hinweg. Zwar wurde die Aminosäuresequenz des Opsins inzwischen analysiert [2, 3], aus der sich gewisse Vorstellungen über die Faltung des Proteins und die Anordnung des Retinalchromophors darin ableiten lassen [4]. Ohne eine Kristallstrukturanalyse ausreichender Auflösung ist man allerdings weiterhin auf indirekte, vor allem spektroskopische Methoden angewiesen, um die Konformation der konjugierten Kette in der Umgebung des Proteins sowie deren Veränderungen im Verlauf des Sehprozesses zu entschlüsseln.

So läßt sich beispielsweise die ausgeprägte langwellige Verschiebung des Absorptionsmaximums, die mit dem Einbau des 11-*cis*-Retinals in das Opsin einhergeht, nur zum Teil auf die Veränderung der Elektronenstruktur beim Übergang vom freien Aldehyd in die Schiff-Base und deren Protonierung zurückführen; zur Erklärung der pigmentspezifischen, sogenannten Opsinverschiebung [5, 6] müssen weitere bisher im einzelnen noch ungeklärte Wechselwirkungen des Chromophors mit der ionischen oder wenigstens stark polarisierenden Umgebung des Proteins postuliert werden.

Die chirale Umgebung im Protein ist es letztlich auch, die das Rhodopsin chiroptischen Methoden zugänglich macht. Dabei läßt sich der sowohl bei natürlichen Rhodopsinen [7] als auch bei synthetischen Modellverbindungen [8] beobachtete Circular-dichroismus (CD) auf zwei prinzipiell unterschiedliche Mechanismen zurückführen:

Die spiegelbildlichen Konformationen der Schiff-Base, die durch entgegengesetzte Verdrillung um verschiedene Bindungen, etwa C(6)–C(7) oder C(12)–C(13), aus der planaren Konformation hervorgehen, sind nur unter achiralen Bedingungen energiegleich und daher nicht unterscheidbar. Bei ausreichender Wechselwirkung mit der chiralen Oberfläche des Proteins werden sie dagegen in unterschiedlichem Maße populiert; der Chromophor wirkt unter diesen Umständen wie ein inherent chirales System [9].

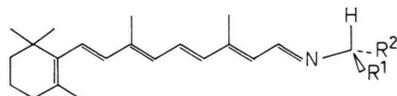
Wechselwirken die Übergangsmomente des Polyenchromophors ausreichend mit chromophoren Gruppen des Proteins (Amidbindungen, Aromaten),

* Sonderdruckerfordernungen an Prof. Dr. V. Buß.

so erhalten die gekoppelten elektronischen Anregungen als Folge der chiralen Geometrie des Systems Rotationsstärke [10]. Die Verdrillungen des Chromophors sind bei diesem Mechanismus nur von sekundärer Bedeutung; theoretisch könnte auch bei planarer Anordnung des gesamten Doppelbindungssystems [11] ein CD-Spektrum resultieren.

(Der Vollständigkeit halber erwähnen wir die CD-Spektren, die in der Membran photosyntheseaktiver Blaualgen gemessen wurden [12] und die möglicherweise durch die excitonartige Wechselwirkung der *all-trans*-Retinalchromophore benachbarter, in der Membran in *quasi*-kristalliner Form angeordneter Bacteriorhodopsinmoleküle hervorgerufen werden [13].)

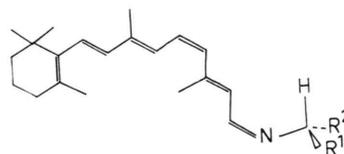
Um zwischen den beiden erstgenannten Alternativen unterscheiden zu können, haben wir chirale Schiff-Basen des *all-trans*-Retinals dargestellt und spektroskopisch analysiert:



Ist einer der Substituenten R^1 oder R^2 selbst ein Chromophor, lassen sich die CD-Spektren als Resultat der Wechselwirkung der Übergangsmomente des Retinals mit dem Substituenten deuten [14] (Mechanismus 2). Sind die Substituenten dagegen unterschiedliche Alkylgruppen, so können CD-Banden im Absorptionsspektrum des Polyens nur noch durch die inherente Chiralität des Retinylidenchromophors hervorgerufen werden (Mechanismus 1). Wir haben festgestellt, daß ein solches chromophoral inaktives chirales Zentrum für eine Unterscheidung der enantiotopen Flächen im *all-trans*-Retinal nicht ausreicht, wohl aber im β -Cyclocitral [15], das man als radikal verkürztes Retinalanalog ansehen kann.

Es war zu erwarten, daß in 11-*cis*-Retinal-Schiff-Basen die Wechselwirkung des verknäulten Chromophors mit dem chiralen Aminrest wesentlich stärker sein sollte als im gestreckten *all-trans*-Isomeren. Um

diese Vermutung zu überprüfen, haben wir die Verbindungen 2–5 (siehe Tab. I)



synthetisiert und spektroskopisch sowie theoretisch analysiert.

Experimentelles

11-*cis*-Retinal wurde von Hoffmann-La Roche, Nutley, N. J., zur Verfügung gestellt. Die HPLC-Analyse der Verbindung zeigte einen Gehalt von 97,5%; die Verunreinigungen bestanden aus *all-trans*-Retinal (1,5%) und 13-*cis*-Retinal. Noch mehr als die *all-trans*-Isomeren zeichnen sich das 11-*cis*-Retinal und die entsprechenden Schiff-Basen durch leichte Isomerisierung aus; alle Arbeiten wurden daher im Dunkeln unter Inertgas durchgeführt, wobei Handhabung der Proben über 273 K möglichst vermieden wurde. Die verwendeten chiralen Amine (siehe Tab. I) wurden gekauft ((R)-2-Aminobutan von Norse, (R)-2-Amino-1-butanol sowie (S)-2-Amino-1-propanol von Fluka) bzw. durch Trennung des entsprechenden Razemats ((S)-2-Aminopentan) erhalten.

Zur Darstellung der Schiff-Basen wurde das Retinal in Hexan gelöst und über Molsieb (3 Å) mit dem zehnfachen Überschuß an Amin versetzt. Die Lösung reagiert unter Argon in wenigen Stunden vollständig ab. Für die spektroskopischen Untersuchungen benötigte Proben wurden unmittelbar vor der Messung mittels HPLC fraktioniert (Si-60-Säule, Ether/Methanol als Eluent, 2 ml/min Fluß, 80 bar). Nach dem Abziehen des Eluenten im Wasserstrahl- bzw. Feinvakuum wird das Amin in Riginolve (2,2-Dimethylbutan/*n*-Pentan 8:3) oder in einem der anderen Lösungsmittel aufgenommen und seine Konzentration UV-spektroskopisch bestimmt.

UV-Spektren wurden mit einem Perkin-Elmer-Lambda-5-Spektrophotometer, CD-Spektren mit

| Verbindung | R^1 | R^2 | Eingesetztes Amin |
|------------|--------------------------|-----------------------------------|------------------------|
| 2 | CH_2CH_3 | CH_3 | (R)-2-Aminobutan |
| 3 | CH_3 | <i>n</i> - C_3H_7 | (S)-2-Aminopentan |
| 4 | CH_3 | CH_2OH | (S)-2-Amino-1-propanol |
| 5 | CH_2OH | CH_2CH_3 | (R)-2-Amino-1-butanol |

Tab. I. Untersuchte chirale Schiff-Basen des 11-*cis*-Retinals.

einem Jobin-Yvon-Dichrograph Mark IV aufgenommen. Beide Geräte sind mit Einrichtungen zur thermostatisierten Tieftemperaturspektroskopie ausgestattet. Die Kontraktion des Lösungsmittels bei tiefen Temperaturen ist bei allen Spektren berücksichtigt.

Ergebnisse

Spektroskopische Untersuchungen

Die UV-Spektren mit ihrer intensiven ($\lg \epsilon = 4,5$) Absorption bei 350 nm und einem weniger intensiven Maximum bei 250 nm entsprechen dem, was man von einem Chromophor mit 6 konjugierten Doppelbindungen, davon einer an zentraler Position *cis*-konfiguriert, erwartet [16]. Die Spektren sind, wie auch beim Aldehyd selbst [17], in hohem Maße lösungsmittel- und temperaturabhängig. Zur Veranschaulichung sind in Abb. 1 die Spektren von **2** bzw. **3** in Methanol/Ethanol, Rigosolve und Propionitril gezeigt sowie deren Veränderungen bis zu den niedrigsten in dem jeweiligen Lösungsmittel erreichbaren Temperaturen. Das Intensitätsverhältnis $\epsilon_{cis\text{-Peak}}/\epsilon_{\text{Hauptbande}}$ beträgt bei Zimmertemperatur 0,55 in Methanol/Ethanol, 0,45 in Rigosolve und 0,38 in Propionitril. In allen drei Lösungsmitteln nimmt dieses Verhältnis mit sinkender Temperatur ab, und zwar in Rigosolve

stärker (0,3 bei 113 K) als in Methanol/Ethanol (0,4). Zusätzlich entwickelt sich in diesem Lösungsmittel bei tiefer Temperatur eine Schulter bei 400 nm. Die anderen Verbindungen verhalten sich völlig analog, mit quantitativ übereinstimmenden Intensitätsverhältnissen.

Eine Ausnahme bilden die Spektren der hydroxylhaltigen Schiff-Basen **4** und **5** in dem unpolaren Lösungsmittel Rigosolve (Abb. 2). Bei diesen beiden Verbindungen wächst der *cis*-Peak mit sinkender Temperatur im Verhältnis zur Hauptbande, bis er einen Maximalwert bei etwa 190 K erreicht. Erst bei noch weiterem Abkühlen nimmt auch bei diesen Verbindungen die Intensität im *cis*-Bereich ab und verlagert sich in die Hauptbande. Die CD-Spektren (*vide infra*) liefern Hinweise darauf, daß diese Anomalien durch Assoziationsgleichgewichte hervorgerufen werden. Zusätzlich wurden deshalb die UV-Spektren bei unterschiedlicher Konzentration (10^{-3} bis 10^{-5} mol/l) aufgenommen. Bei allen Lösungen geht die *cis*-Intensität durch ein Maximum bei 190 K, das in der dünnsten Lösung am stärksten ausgeprägt ist; die Unterschiede bei Zimmertemperatur bzw. 113 K sind dagegen nicht signifikant.

Die CD-Spektren der Schiff-Basen **2** bzw. **3** zeigt Abb. 3. Anders als in Propionitril, in dem nur eine langwellige Bande um 330 nm auszumachen ist, wer-

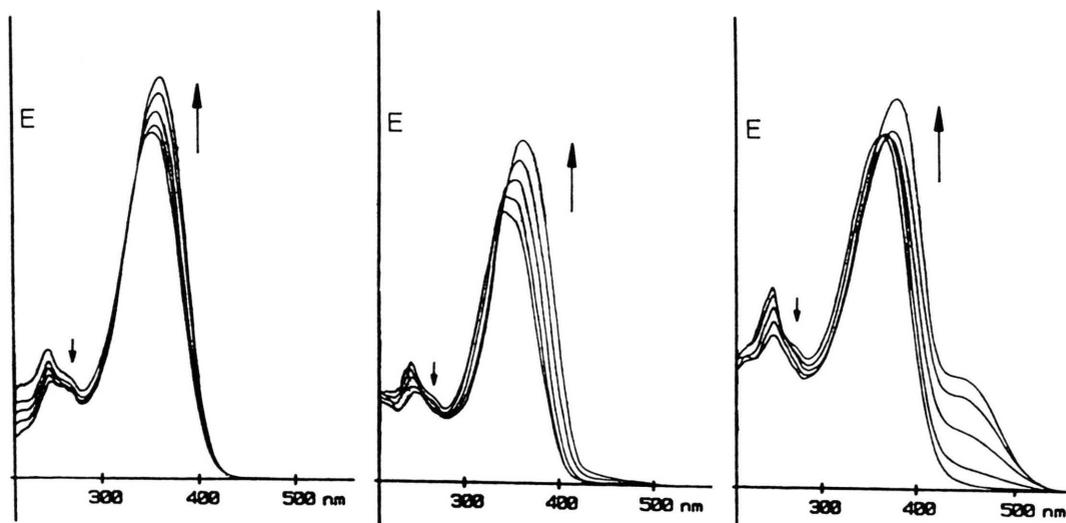


Abb. 1. Temperaturabhängige UV-Spektren von 11-*cis*-Retinal-Schiff-Basen. Hier und in den folgenden Figuren zeigen Pfeile die Amplitudenveränderung in Richtung auf niedrigere Temperaturen an. Links: **3** in Propionitril, $4,5 \cdot 10^{-5}$ mol/l bei 293, 253, 233, 213 und 193 K. Mitte: **3** in Rigosolve $3,4 \cdot 10^{-5}$ mol/l bei 293, 233, 193, 153 und 113 K. Rechts: **2** in Methanol/Ethanol 1:4, $4,7 \cdot 10^{-5}$ mol/l bei 293, 233, 193, 153 und 113 K.

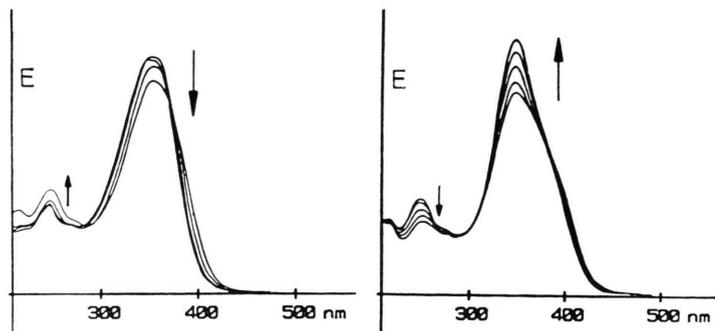


Abb. 2. Temperaturabhängige UV-Spektren von **5** in Methanol/Ethanol, $3,1 \cdot 10^{-5}$ mol/l bei (links) 273, 253, 233, 213 K und (rechts) 193, 173, 153, 133 und 113 K.

den in den beiden anderen Lösungsmitteln drei Banden mit alternierenden Vorzeichen und Maxima bzw. Minima (350, 250 und 220 nm) registriert, die mit den UV-Banden zusammenfallen. Dabei liefern

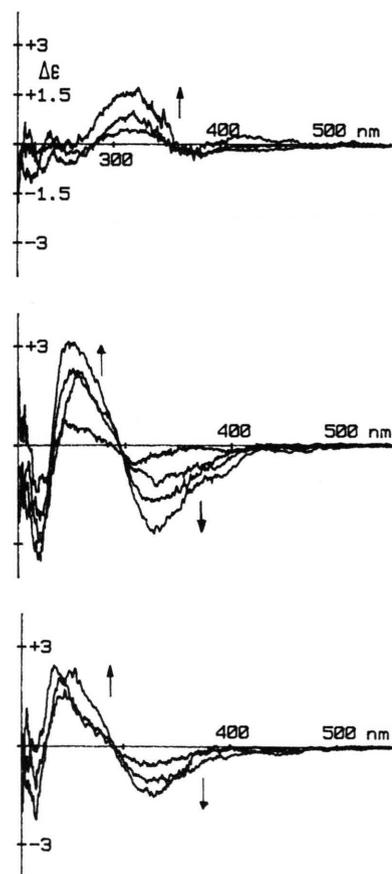


Abb. 3. Temperaturabhängige CD-Spektren von 11-*cis*-Retinal-Schiff-Basen. Oben: **3** in Propionitril, $3,5 \cdot 10^{-5}$ mol/l bei 253, 213 und 193 K. Mitte: **2** in Riginolve $3,0 \cdot 10^{-5}$ mol/l bei 283, 173, 133 und 103 K. Unten: **2** in Methanol/Ethanol, $3,3 \cdot 10^{-5}$ mol/l bei 283, 213 und 133 K.

2 (in Riginolve) und **3** (in Methanol) [18] spiegelbildlich strukturierte Spektren, was die unterschiedliche absolute Konfiguration der beiden Verbindungen bestätigt. Eine CH_2OH -Gruppe am Asymmetriezentrum allerdings kehrt diese Korrelation um. So hat die 350-nm-Bande von **4** mit S-Konfiguration negatives Vorzeichen, genau wie **2**, das R-konfiguriert ist, und das Spektrum von **5** (R) entspricht in der Vorzeichenabfolge dem von **3** (S). Ganz entsprechende Verhältnisse haben wir bei den β -Cyclocitral-Schiff-Basen gefunden [15]. Die relative Intensität der 250-nm-Bande (verglichen mit der längstwelligen CD-Bande) zeigt dieselbe Lösungsmittelabhängigkeit wie die Extinktion im UV: in Methanol ist sie am größten, in Riginolve kleiner und in Propionitril nicht eindeutig auszumachen.

In allen Lösungsmitteln sind die Spektren temperaturabhängig, wenn auch in unterschiedlichem Maße: in Riginolve nehmen die Amplituden beim Abkühlen auf 103 K um etwa das 5-fache zu, in Methanol/Ethanol ist der entsprechende Faktor etwa 2; allerdings wird ab etwa 150 K keine Zunahme mehr registriert.

Von ganz anderer Natur zeigen sich die CD-Spektren der beiden Schiff-Basen **4** und **5**, die schon im UV aufgefallen waren (Abb. 4). Die Spektren sind, im Gegensatz zu den bisher diskutierten, deutlich konzentrationsabhängig. Sie werden beherrscht von einer Doppelbande, einem sog. CD-Couplet, das sich bei tiefer Temperatur im Bereich der langwelligen Absorptionsbande entwickelt und im Maximum dieser Bande seinen Nulldurchgang hat. Die Entwicklung dieses Couplets setzt um so früher ein, je konzentrierter die Lösung ist, und erreicht bei genügend tiefer Temperatur einen Grenzwert, der konzentrationsunabhängig ist [19]. Ein weniger intensives Couplet entwickelt sich mit entgegengesetzter Vorzeichenabfolge im Bereich des *cis*-Peaks und erreicht seine größte Amplitude um 200 K. Bei weite-

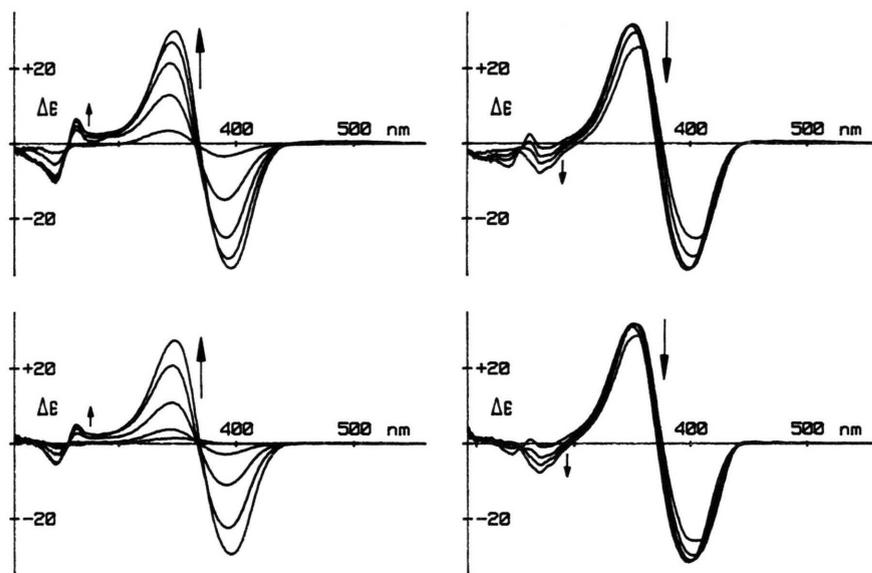
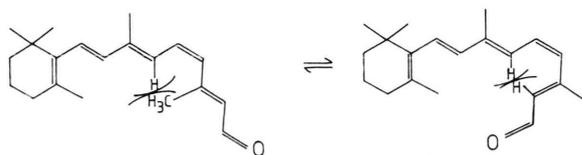


Fig. 4. Temperaturabhängige CD-Spektren von **5** bei zwei verschiedenen Konzentrationen, $4,3 \cdot 10^{-4}$ mol/l (oben) und $3,1 \cdot 10^{-5}$ mol/l (unten) bei 283, 253, 233, 213 und 193 K (links) und 173, 153, 133 und 113 K (rechts).

rem Abkühlen wird diese Doppelbande durch eine einfache negative CD-Bande abgelöst. Wir machen für diese Spektren Assoziationsgleichgewichte verantwortlich, wie wir sie auch schon für entsprechende Hydroxy-Schiff-Basen des *all-trans*-Retinals postuliert haben [20].

Kraftfeldrechnungen

Die Abhängigkeit der UV- und CD-Spektren der Schiff-Basen von den äußeren Bedingungen (Temperatur, Lösungsmittel) ist Ausdruck der konformativen Flexibilität des Retinylidenchromophors. An zwei Stellen ist im 11-*cis*-Retinal die konjugierte Kohlenstoffkette als Folge sterischer Wechselwirkungen erheblich verdrillt, und zwar an der C(6)–C(7)-Bindung, die den β -Iononring mit der Polyenkette verknüpft, und an der C(12)–C(13)-Bindung, wo der Wasserstoff an C(10) durch Abstoßung der Methylgruppe an C(13) die Einstellung einer planaren *s-trans*- und durch Abstoßung des Wasserstoffs an C(15) die einer planaren *s-cis*-Konformation verhindert:



Beide Verdrillungen sind an Hand von Röntgenstrukturdaten belegt. Die unterschiedlichen Positionen dieser beiden Torsionsstellen innerhalb der konjugierten Kette – die eine fast am Ende, die andere fast zentral – machen verständlich, warum deren Einfluß auf die Elektronenspektren so verschieden ist: während die Bedeutung des *s-cis/s-trans*-Gleichgewichts der C(6)–C(7)-Bindung für diese Spektren, wenn überhaupt, dann kontrovers diskutiert wird [21, 22], spiegelt die ausgeprägte Temperaturabhängigkeit der UV-Spektren von 11-*cis*-Retinal direkt das dynamische Gleichgewicht zwischen den beiden bezüglich der C(12)–C(13)-Bindung verdrillten Konformationen wider. Nach Birge, Sullivan und Kohler [17] ist das 12-*s-cis*-Konformere stabiler als das 12-*s-trans*-Konformere, allerdings wird letzteres durch elektrostatische Wechselwirkungen mit dem Lösungsmittel in höherem Maße stabilisiert als das erstere. Die Folge ist eine nicht der Boltzmann-Verteilung folgende Temperaturabhängigkeit und die zunehmende Stabilisierung des *trans*-Konformeren in polaren Lösungsmitteln, wie wir es auch im Falle der 11-*cis*-Retinal-Schiff-Basen beobachten.

Um quantitative Aussagen für die von uns vermuteten Verbindungen machen zu können, haben wir sowohl für das 11-*cis*-Retinal als auch für die davon abgeleiteten Schiff-Basen Kraftfeldrechnungen durchgeführt [23], wobei wir besondere Sorgfalt auf

die Optimierung dieser beiden Diederwinkel legten. Das absolute Minimum auf der Energiehyperfläche eines Moleküls aus fast 60 Atomen zu finden, stellt auch heute noch [24] eine Herausforderung dar. Wir haben deshalb, wo immer möglich, auf bereits optimierte Molekülfragmente zurückgegriffen, aus denen dann das Gesamtmolekül zusammengesetzt und neu optimiert wurde.

Die sterischen Verhältnisse um die C(6)–C(7)-Bindung haben wir in dem weniger komplexen *all-trans*-Retinal untersucht [25], für das auch mehrere Kristallstrukturanalysen vorliegen [26]. Abhängig von der Einstellung des Cyclohexen-Halbsessels lassen sich zwei *s-cis*-Konformationen mit einem Diederwinkel von 55° von zwei um etwa 2 kcal/mol ungünstigeren *s-trans*-Konformationen (Diederwinkel 145°) unterscheiden. Die beiden Konformationen sind nur durch ein sehr flaches Maximum getrennt; sehr viel aufwendiger (4,5 bzw. 2,5 kcal/mol) ist es dagegen, die beiden *s-cis*- bzw. *s-trans*-Konformationen ineinander zu überführen, und zwar deshalb, weil dabei eine planare Einstellung der beiden Doppelbindungen durchlaufen werden muß. Alle diese Konformationen sind chiral, allerdings unter achiralen Bedingungen nicht zu beobachten.

Im Kristall liegt das *all-trans*-Retinal in dieser bevorzugten *s-cis*-Konformation vor [26], und H-NMR-Untersuchungen machen das Vorliegen dieser Konformation auch in Lösung wahrscheinlich [27]. Die gute Übereinstimmung des Verdrillungswinkels (55,8 berechnet gegenüber 58,3 gefunden) mag allerdings eher zufällig sein: für das 11-*cis*-Retinal berechnen wir mit unserem Kraftfeld einen dem *all-trans*-Retinal sehr ähnlichen Verdrillungswinkel (52°), während im Feststoff ein Wert von nur 41,4° gefunden wurde [28].

Mit der weiteren Verdrillungsstelle entlang der C(12)–C(13)-Bindung lassen sich nun im 11-*cis*-Retinal gemischt-helikale von solchen Konformationen unterscheiden, in denen die Verdrillungen bezüglich dieser beiden Bindungen gleich sind (PP bzw. das spiegelbildliche MM). In Tab. II sind die Energien und Diederwinkel der optimierten Strukturen zusammengestellt. Die Geometrien zeigen eine gute Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Rechnungen [29]. Der berechnete Energieunterschied zwischen der stabilsten 12-*s-cis*- und 12-*s-trans*-Konformation fällt mit 0,3 kcal/mol allerdings deutlich geringer aus als der aus Experimenten abgeleitete Wert (0,6 kcal/mol [18]).

Die Kondensation des 11-*cis*-Retinals mit chiralen Aminien sollte die Möglichkeit der chiralen Diskriminierung zwischen sonst enantiomeren Konformationen eröffnen. Tab. II zeigt, in welchem Ausmaß von den Rechnungen her eine solche Unterscheidung zu erwarten ist. Am stabilsten kommt dabei das 12-*s-cis*-Konformere mit doppelt P-helikaler Verdrillung heraus. Einzelheiten der 3-dimensionalen Struktur zeigt das Stereobild (Abb. 5): der Wasserstoff am chiralen C-Atom nimmt eine angenähert ekliptische Stellung zur Azomethinbindung ein; die Helizität an der C(12)–C(13)-Bindung (die durch die Chiralität des Aminrestes am stärksten beeinflusst werden dürfte) stellt die CH₂OH-Gruppe der konjugierten Kette gegenüber, während die CH₃-Gruppe sozusagen im freien Raum steht. Diese Konformation ist um 0,3 kcal/mol stabiler als die spiegelbildlich verdrillte, und um 0,5 kcal/mol stabiler als die beste *s-trans*-Form, Energiewerte, die allein schon zeigen, daß man bei der Untersuchung dieser Verbindung mit einer Vielzahl von nebeneinander in Lösung vorliegenden Strukturen rechnen muß.

| | Energie kcal/mol ^a | Diederwinkel | |
|-----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| | | C ₅ –C ₆ –C ₇ –C ₈ | C ₁₁ –C ₁₂ –C ₁₃ –C ₁₄ |
| 11- <i>cis</i> -Retinal | | | |
| 12- <i>s-cis</i> -PM ^c | 0 | 51° | – 42° |
| 12- <i>s-cis</i> -PP | 0,07 | 53° | 43° |
| 12- <i>s-trans</i> -PP | 0,3 | 52° | 154° |
| Kristallstruktur ^b | | 41,4° | 38,7° |
| 11- <i>cis</i> -Retinal SB 5 | | | |
| 12- <i>s-cis</i> PP | 0 | 56° | 44° |
| 12- <i>s-cis</i> -PM | 0,1 | 57° | – 43° |
| 12- <i>s-cis</i> MM | 0,31 | –56° | – 46° |
| 12- <i>s-trans</i> -PP | 0,54 | 51° | 156° |
| 12- <i>s-trans</i> -MM | 0,74 | –53° | –157° |

Tab. II. Ergebnisse der Kraftfeldrechnungen an 11-*cis*-Retinal und dessen Schiff-Base **5**.

^a Angegeben sind Energien relativ zum stabilsten Konformerem; ^b R. D. Gilardi, I. L. Karle, J. Karle, *Acta Crystallogr.* **32B**, 2605 (1972); ^c P und M kennzeichnen den Helizitätssinn an der C₆–C₇- bzw. C₁₂–C₁₃-Bindung.

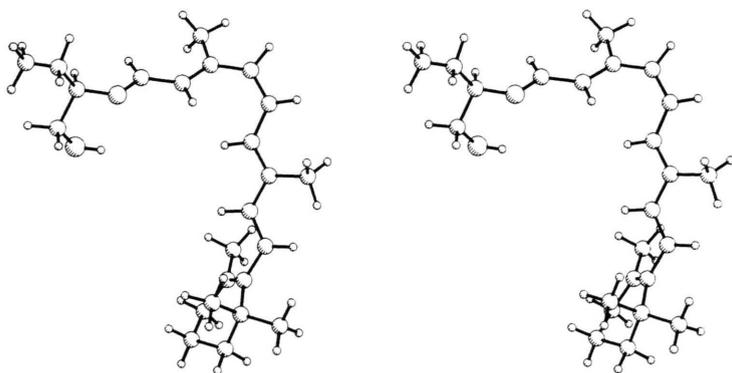
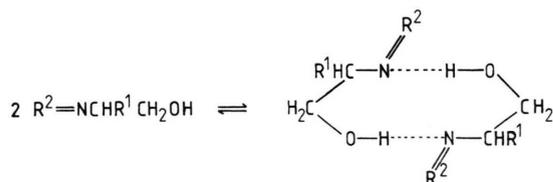


Abb. 5. Stereoplot von **5**. Die β -Iononeinheit ist unten, die 11-*cis*-Bindung oben rechts und das chirale Zentrum oben links.

Typisch für β -Hydroxyamin-Schiff-Basen in nicht-polaren Lösungsmitteln ist deren Aggregation zu chiralen Dimeren, die wir über die Bildung von Wasserstoffbrücken formulieren [14, 30]:



R^1 : Alkylgruppe

R^2 : Chromophor

Nach den UV-Befunden an **4** und **5** ist an dieser Aggregation auch das 12-*s-cis/trans*-Gleichgewicht beteiligt; wir haben deshalb für die beiden stabilsten Formen (12-*s-cis*-PP bzw. 12-*s-trans*-PP) diese Dimeren optimiert. Dabei wird offensichtlich die Aggregation des *s-cis*-Konformeren günstiger beurteilt, denn die Energiedifferenz zum *s-trans*-Dimeren beträgt immerhin 1,8 kcal/mol (Monomere: 0,3 kcal/mol). Die sehr unterschiedlichen Geometrien sind in Abb. 6 gegenübergestellt: das 12-*s-cis*-Dimere ist eine sehr offene Struktur, in der die beiden Chromophore in entgegengesetzte Richtungen zeigen. Im 12-*s-trans*-Dimeren dagegen liegen die beiden konjugierten Systeme fast über die ganze Länge in engem Kontakt nebeneinander [31]. Dies läßt sehr unterschiedliche elektronische Eigenschaften für diese beiden Spezies erwarten.

MO-Rechnungen

Für die Hauptabsorptionen der längeren konjugierten Polyene bzw. Imine hat die Theorie längst

eine befriedigende Beschreibung gefunden [32]. Sie geht im wesentlichen auf die Wechselwirkung der vier Grenzorbitale zurück und liefert für die längstwellige und die *cis*-Absorption Energien und Intensitäten, die auf einfach nachvollziehbare Weise von der Konfiguration des zugrundeliegenden Polyens abhängen. Für die chiroptischen Daten, die vor allem Rückschlüsse auf Ausmaß und Richtung von Kettenverdrillungen gestatten, liegen solche Untersuchungen nur für kurze Polyene vor [33]. Auf der Grundlage der MMP2-optimierten Geometrien haben wir CNDO/S-Rechnungen [34] durchgeführt; für **5** sind die wichtigsten Ergebnisse in Tab. III zusammengefaßt. Die Bezeichnung der angeregten Zustände nach der tatsächlich vorliegenden Symmetrie (C_1) ist wenig informativ; wir haben statt dessen, soweit sich dies durchführen ließ, die Einteilung der MO's nach ihrer Herkunft aus der Punktgruppe C_{2h} vorgenommen.

„ B_u “: Dieser niedrigste angeregte Zustand geht zu etwa 95% aus der HOMO-LUMO-Anregung hervor, und seine Intensität korreliert deutlich mit dem gestreckten bzw. geknäulten Charakter des Chromophors. Die Rotationsstärke ist positiv für P-helical verdrillte, negativ für M-verdrillte und fast Null für gemischt-verdrillte Chromophoren, wie man es für die längstwellige, elektrisch und magnetisch erlaubte Anregung eines helikalen Systems erwartet.

„ N_u “: Dieser Zustand hat kein Gegenstück in C_{2h} . Er geht aus der Anregung eines hauptsächlich am Stickstoff konzentrierten Orbitals in die beiden niedrigsten unbesetzten π -Orbitale hervor. Anders als in kurzkettigen Schiff-Basen [15] dürfte dieser Zustand wegen seiner geringen Oszillatoren- und Rotationsstärke neben dem intensiven B_u -Zustand kaum zu sehen sein.

| | | „B _u “ | „N“ | „A _g ⁺ “ | „A _g ⁻ “ | „B _u “ | „B _u “ | „A _g “ | „B _u “ |
|----------------------|----------------|-------------------|------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 12- <i>cis</i> -PP | l ^a | 343 | 298 | 276 | 267 | 242 | 233 | 219 | 213 |
| | f ^b | 0,87 | 0,01 | 0,37 | 0,14 | 0,34 | 0,36 | 0,16 | 0,20 |
| | R ^c | 169 | -10 | -171 | -92 | -159 | 95 | 74 | 45 |
| 12- <i>cis</i> -PM | l | 346 | 297 | 278 | 267 | 245 | 234 | 221 | 216 |
| | f | 0,74 | 0,01 | 0,36 | 0,19 | 0,58 | 0,27 | 0,08 | 0,20 |
| | R | -16 | 28 | 25 | -5 | 45 | -81 | -22 | -6 |
| 12- <i>trans</i> -PP | l | 346 | 300 | 272 | 269 | 244 | 232 | 217 | 214 |
| | f | 1,69 | 0,01 | 0,21 | 0,12 | 0,08 | 0,03 | 0,04 | 0,13 |
| | R | 147 | 4 | -144 | 25 | -43 | 41 | 9 | 2 |
| 12- <i>trans</i> -PM | l | 344 | 298 | 272 | 269 | 242 | 232 | 217 | 210 |
| | f | 1,70 | 0,01 | 0,25 | 0,07 | 0,11 | - | 0,01 | 0,03 |
| | R | -92 | 10 | -36 | 9 | -59 | 14 | 12 | -11 |

Tab. III. Berechnete spektrale Daten der MMP2-optimierten Geometrien der monomeren Schiff-Base **5**.

^a Wellenlänge in nm; ^b Oszillatorenstärke; ^c Rotationsstärke in 10⁻⁴⁰ cgs.

„A_g⁺“ und „A_g⁻“: Ursprung dieser beiden Zustände sind zwei Konfigurationen, bei denen jeweils ein Orbital übersprungen wird, wobei das Plus- bzw. Minuszeichen die Art der (Konfigurations-)Wechselwirkung beschreibt [35]. Dabei hängt das Ausmaß dieser Wechselwirkung stark von der Energie der „reinen“ Zustände (den Diagonalelementen der CI-Matrix also) ab; nur bei identischen Energien, wie sie in der PPP-Theorie als Folge der Vernachlässigung von Nicht-Nachbar-Wechselwirkungen auftreten, ist sie maximal. Nur dort, nicht aber im CNDO-Formalismus, ist die +/-Bezeichnung exakt gültig. Bei den Retinalen nun hängen diese Energien stark von der Verdrillung der konjugierten Kette ab. Im 12-*s-cis*-Konformeren ist die prozentuale Zusammensetzung des A_g⁺-Zustands aus den beiden Konfigurationen 80 zu 2 und die des A_g⁻-Zustands 2 zu 72; mit anderen Worten, die Konfigurationswechselwirkung ist nur gering. Größer ist sie dagegen im *trans*-Konformeren, wo die entsprechenden Zahlen 60 zu 20 bzw. 20 zu 60 sind.

Als Folge dieser unvollständigen CI haben beide Zustände beträchtliche Oszillatorenstärken, von denen aber nur die des A_g⁺-Zustands konformationsabhängig ist. Die Rotationsstärken erreichen Werte wie die des B_u-Zustands, und zwar mit entgegengesetzten Vorzeichen in den *s-cis*-Konformeren, während in den *s-trans*-Konformeren B_u und A_g⁻ gleiches Vorzeichen besitzen.

Es folgen zwei B_u-Zustände gleicher Herkunft mit hohen Oszillatorenstärken im *cis*- und vernachlässigbaren Werten im *trans*-Bereich, sowie, energetisch abgesetzt davon, ein A_g⁻ und ein B_u-Zustand, die ebenfalls nur bei den *s-cis*-Konformeren signifikante Oszillatoren- und Rotationsstärken aufweisen.

Honig *et al.* [23] bezeichnen die drei Bereiche um 360, 280 und 250 nm in den Spektren von Retinal und verwandten Molekülen als α -, β - und γ -Banden. Während sie und andere [36] den B_u- und (langwelligen) A_g-Zustand den ersten beiden Banden zuordnen, ist nach Becker [21] der *cis*-Peak, also die erlaubte A_g-Kombination, in der 250-nm-Bande zu suchen. Unsere Rechnungen zeigen, daß eine solche eindeutige Unterscheidung, wegen der schwachen CI zwischen den beteiligten Zuständen, nicht möglich ist: beide A_g-Zustände haben eine Verteilung der Übergangsdichte, wie sie dem *cis*-Peak entspricht, wobei aber, wie schon ausgeführt, der Intensitätsverlust in der *s-trans*-Konformation ausschließlich zu Lasten der längerwelligen Bande geht. Der $n\pi^*$ -Übergang, der in den Retinalen selbst bei 390 nm vermutet wird [26, 37], erfährt in den Schiff-Basen eine wesentlich stärkere kurzwellige Verschiebung als die $\pi\pi^*$ -Übergänge und erscheint jetzt bei 298 nm, in Übereinstimmung mit unseren Beobachtungen am β -Cyclocitral [16] und am *all-trans*-Retinal selbst [38].

Der Inhalt der Tab. III läßt sich folgendermaßen zusammenfassen: die einheitlich helikal verdrillten 12-*s-cis*-Konformeren zeigen drei Absorptionsbereiche um 340, 260 und 220 nm mit erheblichen, alternierenden Rotationsstärken. Die entsprechenden *s-trans*-Konformeren zeigen nur noch die beiden langwelligen dieser Absorptionen, während die gemischt-helikalen Konformeren Rotationsstärken aufweisen, die um eine Größenordnung niedriger sind.

In Tab. IV sind die berechneten spektralen Daten für die beiden dimeren Aggregate zusammengefaßt, deren Existenz wir nach den UV- und CD-spektro-

| 12- <i>s-cis</i> -Dimer | | | 12- <i>s-trans</i> -Dimer | | | | |
|-------------------------|----------------|----------------|---------------------------|---------|-----|------|------|
| Zustand ^a | l ^b | f ^c | R ^d | Zustand | l | f | R |
| 1B | 346 | 1,72 | 518 | 1B | 381 | 0,08 | 400 |
| 1A | 341 | 0,13 | -708 | 1A | 329 | 3,36 | -267 |
| 2A | 282 | - | 53 | 2A | 322 | 0,04 | -1 |
| 2B | 282 | 0,11 | -18 | 2B | 309 | 0,02 | 39 |
| 3B | 274 | 0,56 | -49 | 3B | 282 | 0,35 | -56 |
| 3A | 273 | 0,1 | 357 | 4B | 273 | - | -1 |
| 4B | 267 | 0,18 | 101 | 3A | 267 | 0,05 | -15 |
| 4A | 267 | 0,05 | 51 | 4A | 263 | 0,33 | 197 |
| 5B | 243 | 0,54 | -137 | 5B | 258 | 0,03 | -44 |
| 5A | 240 | 0,23 | 263 | 5A | 257 | 0,02 | 18 |
| 6A | 234 | - | - | 6B | 244 | 0,12 | -78 |
| 6B | 234 | 0,03 | -23 | 6A | 239 | 0,07 | 41 |

Tab. IV. Berechnete spektrale Daten der MMP2-optimierten Geometrien der beiden dimeren Schiff-Basen von **5**.

^a Symmetrierassen gemäß Punktgruppe C₂; ^b Wellenlänge in nm; ^c Oszillatorenstärke; ^d Rotationsstärke in 10⁻⁴⁰ cgs.

skopischen Befunden postulieren. Im 12-*s-cis*-Dimer, in dem die Monomeren weit voneinander entfernt und die einzelnen Übergänge deshalb nur wenig gestört sind, ist die Herkunft der Dimerabsorption aus den Monomerabsorptionen als symmetrische (A) oder antisymmetrische Kombination (B) noch deutlich erkennbar (Symmetriebezeichnungen nach der vorliegenden Punktgruppe C₂); typisch vor allem der Vorzeichenwechsel der Rotationsstärken innerhalb eines solchen Paares, der sich experimentell im Auftreten eines CD-Couplets ausdrückt. Die Wechselwirkung ist im 12-*s-trans*-Dimer wesentlich größer (für den längstwelligen Übergang mehr als 4000 cm⁻¹ verglichen mit nur 350 cm⁻¹ für das *cis*-Dimer), so daß hier eine Korrelation von Monomer- und Dimerabsorptionen nur noch für die beiden längstwelligen Übergänge sinnvoll ist.

Diskussion

Monomere Schiff-Basen

Wir gehen davon aus, daß wir in der Temperaturabhängigkeit der Elektronenspektren zwei zunächst unabhängig voneinander ablaufende Prozesse beobachten, nämlich im CD die mit sinkender Temperatur zunehmende Diskriminierung zwischen verschiedenen chiralen Konformationen und im UV gleichzeitig die zunehmende Verschiebung des 12-*s-cis*/*trans*-Gleichgewichts in Richtung auf das *trans*-Konformere.

Wir müssen ferner davon ausgehen, daß die mit unserem Kraftfeld berechneten Geometrien besser sind als die Energien; darauf deutet auf der einen Seite die gute Übereinstimmung mit experimentellen Geometrien in den Fällen, in denen ein solcher Ver-

gleich möglich ist, und auf der anderen das Scheitern der Methode bereits an der relativen Stabilität der beiden Konformeren.

Schließlich ist nach unseren Erfahrungen die Korrelation zwischen berechneten Rotationsstärken und absoluten Konformationen im Falle inherent chiraler Chromophore gut, wenn dabei langwellige, deutlich von anderen Anregungen abgesetzte Übergänge beschrieben werden und wenn dabei signifikante elektrische und magnetische Übergangsmomente auftreten.

Die aussagekräftigsten CD-Spektren werden in den Lösungsmitteln erhalten, in denen nach Ausweis der UV-Daten der Anteil an 12-*s-cis*-Konformeren besonders hoch ist, nämlich in Methanol/Ethanol und in Rigisolve. Da die Verbindungen außer dem konjugierten π -System keine weiteren polarisierbaren oder chromophoren Gruppen enthalten und intermolekulare Wechselwirkungen ausgeschlossen werden können, müssen die Spektren auf die Verdrehung des Polyenchromophors selbst zurückgeführt werden. Weitere Indizien für diese Deutung sind die weitgehende Unabhängigkeit der CD-Spektren von den Substituenten des chiralen Zentrums sowie ihre aus drei Banden bestehende Struktur mit Maxima bzw. Minima dort, wo laut UV bzw. Rechnungen die elektronisch angeregten Zustände liegen sollten. Alternierende Vorzeichen dieser drei Banden mit signifikanten Rotationsstärken werden nur für die Verbindungen berechnet, bei denen die beiden Diederwinkel gleichsinnig verdreht sind, der Gesamtchromophor also eine deutlich helikale Geometrie aufweist. Dabei deutet die Vorzeichenabfolge in den drei Banden darauf hin, daß die S-konfigurierten Alkyl-Schiff-Basen (bzw. die R-konfigurierten β -

Hydroxy-Schiff-Basen) PP-Helizität und die R- (bzw. S-)konfigurierten MM bevorzugen. Den Rechnungen zufolge ist die Helizität, unabhängig davon, ob das Asymmetriezentrum eine Hydroxygruppe enthält oder nicht, PP für R und MM für S, was nur für die Hydroxy-Schiff-Basen Übereinstimmung mit dem Experiment bedeutet. Den berechneten Rotationsstärken dieser drei Banden (170, -422 und $214 \cdot 10^{-40}$ cgs) stehen bei 103K gemessene [39] von nur 1,4, -14 und $14 \cdot 10^{-40}$ cgs gegenüber. Für die Diskrepanz sind hauptsächlich zwei Gründe verantwortlich: die Tatsache, daß der Anteil an 12-*s-cis*-Konformer, das wir für diese Spektren verantwortlich machen, mit abnehmender Temperatur ebenfalls abnimmt, und ferner, daß nach den berechneten Energieunterschieden (Tab. II) die chirale Diskriminierung äußerst gering ist. Die gemischt-helikale Form ist nur um 0,1 kcal/mol weniger stabil, was selbst bei 103K nur einem Gleichgewichtsanteil von etwas über 60% entspricht. Bedenkt man, daß die *quasi*-enantiomere Form ebenfalls nur weitere 0,2 kcal/mol darüber liegt, wird aus diesen Zahlen, die in der Größenordnung richtig sein dürften, deutlich, warum die in der Lösung gemessenen Werte hinter denen für eine reine chirale Form berechneten so weit zurückbleiben.

Die CD-Spektren liefern keine Hinweise darauf, daß auch das 12-*s-trans*-Konformere chiral diskriminiert wird. Den Rechnungen zufolge sind die Rotationsstärken von verdrehten *s-trans*- und *s-cis*-Konformeren in der 350-nm-Bande vergleichbar, dagegen sind sie im 260- und 220-nm-Bereich für das gestreckte Konformer wesentlich niedriger als für das stärker verknäulte. Eine Zunahme der Rotationsstärke im langwelligen Bereich auf Kosten der beiden kürzerwelligen mit abnehmender Temperatur aber wurde von uns nie beobachtet. Zwar zeigt das Propionitrilspektrum (Abb. 3) vergleichsweise starke CD-Absorption bei 350 nm; leider läßt gerade dieses Lösungsmittel keine sehr tiefen Temperaturen zu.

Dimere Schiff-Basen

Das auffällige CD-spektroskopische Verhalten, das die β -Hydroxy-Schiff-Basen zeigen – Konzentrationsabhängigkeit, um das Zehnfache höhere Rotationsstärken sowie deutliche Coupletstruktur – beweist, daß diese Verbindungen dimerisieren, so wie wir es an anderen analogen Verbindungen nachgewiesen haben [40]. Bei den vorliegenden Schiff-Ba-

sen kommt als Komplikation das vorgeschaltete Konformerengleichgewicht der Monomeren hinzu, das man nur im UV-, nicht aber im CD-Spektrum beobachtet. Unsere Erklärung dafür beruht auf der Annahme, daß nur das aus dem 12-*s-trans*-Konformeren gebildete Dimer im CD sichtbar ist, nicht aber das damit im Gleichgewicht stehende Dimer des 12-*s-cis*-Konformeren. Denn zwar werden für die beiden Zustände, die aus der Wechselwirkung der langwelligen B_u -Anregungen resultieren, Rotationsstärken vergleichbarer Größenordnung berechnet (Tab. IV); nur führt die sehr schwache Wechselwirkung im *s-cis*-Dimer dazu, daß diese beiden Zustände an fast derselben Stelle im Spektrum erscheinen, sich also in hohem Maße gegenseitig auslöschen.

Alle (mindestens vier) Spezies stehen dabei in einem dynamischen Gleichgewicht: bei Zimmertemperatur (und nicht zu hohen Konzentrationen) die beiden 12-*s-cis*- bzw. -*trans*-Konformeren, deren Verhältnis durch die Hydroxygruppe nicht maßgeblich beeinflusst wird. Bei sinkender Temperatur kommen dann die Dimeren dazu, und zwar zunächst bevorzugt die des 12-*s-cis*-Konformeren. Dies ist in unserer Argumentation der schwächste Punkt, denn das einzige Indiz für diese Dimerisierung ist die Zunahme der Absorptionsintensität im 250-nm-Bereich des UV. Dabei lassen wir uns an den schon erwähnten Gründen die berechnete Energie dieses Dimeren, die wesentlich niedriger liegt als die des *s-trans*-Dimeren, aus der Betrachtung heraus, merken aber an, daß die Rechnungen die Dimerisierung beider Konformere günstig beurteilen.

Bei etwa 200 K erreicht die *cis*-Intensität und damit die Konzentration des *s-cis*-Dimers ihr Maximum, um bei weiterer Abkühlung wieder abzunehmen. Jetzt macht sich die zunehmende Stabilisierung des 12-*s-trans*-Konformers auf Kosten des 12-*s-cis*-Konformers bemerkbar, wodurch dem *s-cis*-Monomer-Dimer-Gleichgewicht eine Komponente, nämlich das Monomere, entzogen wird. Die Konzentrationsunabhängigkeit der maximalen CD-Amplitude bei tiefer Temperatur zeigt, daß im untersuchten Konzentrationsbereich (10^{-3} – 10^{-5} molar) praktisch nur noch das aus dem 12-*s-trans*-Konformer gebildete Dimer vorliegt.

Die berechnete Vorzeichenabfolge des Couplets ist durch die absolute Konfiguration des Aggregats, insbesondere die Stellung der beiden Chromophore zueinander, festgelegt. Diese Abfolge stimmt nicht mit der experimentell ermittelten für die beiden

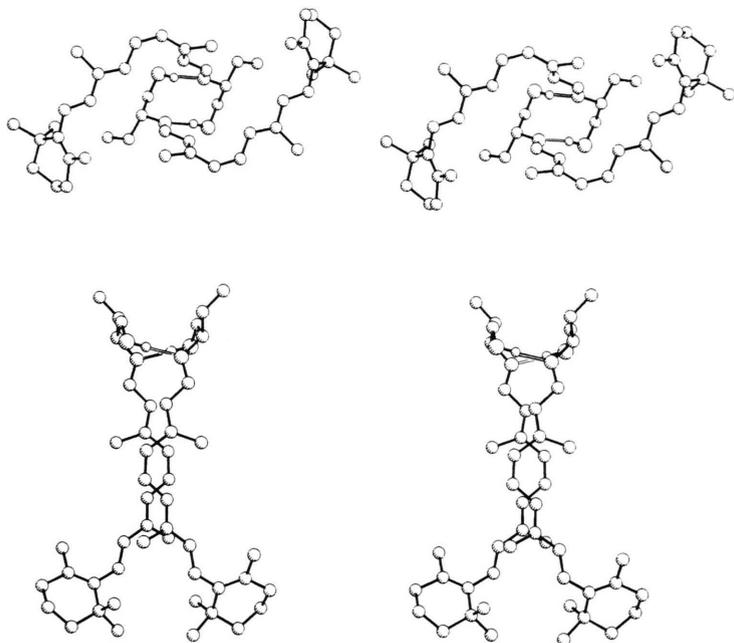


Abb. 6. Energieniedrigste Konformationen der Dimeren von **5**, oben in der 12-*s-cis*-Form, unten in der 12-*s-trans*-Form.

Schiff-Basen **4** und **5** überein. Der Grund ist unseres Erachtens in der besonderen Geometrie des Dimeren zu suchen, in dem die Übergangsmomente der beiden Monomeren fast parallel verlaufen (Abb. 7). Bei einer solchen Anordnung geht die UV-Intensität fast vollständig in einen der beiden Excitonzustände, wie es auch das Ergebnis der Rechnungen zeigt. Dabei genügt eine minimale Geometrieänderung, um die Anordnung der Übergangsmomente in ihr Spiegelbild zu überführen. Offensichtlich ist das verwendete Kraftfeld nicht in der Lage, zwischen zwei auch energetisch so nahe liegenden Anordnungen zu unterscheiden.

Bestimmt wird die Geometrie der Aggregate vor allem durch nichtbindende Wechselwirkungen, wie

sie auch bei der Berechnung von flexiblen oder aggregierenden Strukturen, etwa von Solvathüllen, eine besondere Rolle spielen. Wir glauben, daß die hier vorgestellten Verbindungen, die bei einer definierten Struktur hochempfindlich auf Änderungen der Umgebung reagieren, für die Weiterentwicklung von Kraftfeldern besonders geeignet sind.

Die beschriebenen Untersuchungen wurden gefördert von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und vom Fonds der Chemischen Industrie sowie (teilweise) vom Minister für Wissenschaft und Forschung NRW. Für die großzügige Überlassung von 11-*cis*-Retinal danken wir der Fa. Hoffmann-La Roche, Nutley, N.J.

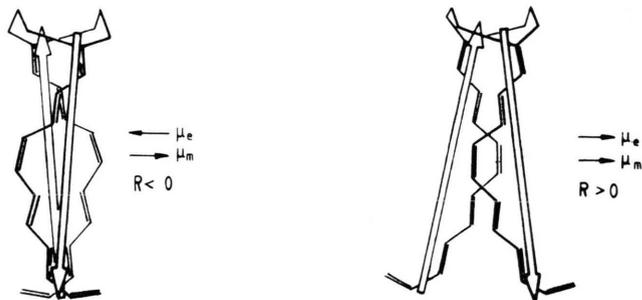


Abb. 7. Energieniedriger (langwelliger) Kopplungsmodus der Übergangsmomente, der zu negativer (links) bzw. bei geringer Änderung der Geometrie des Dimeren zu positiver Rotationsstärke (rechts) führt.

- [1] D. S. Kliger und E. L. Menger, *Acc. Chem. Res.* **8**, 81 (1975).
- [2] Y. A. Ovchinnikov, N. G. Abdulev, M. Y. Feigina, I. D. Artomonov, A. S. Zolotarev, M. B. Kostina, A. S. Bogachuk, A. I. Miroshnikov, V. I. Martinov und A. Kudelin, *Bioorg. Khim.* **8**, 1011 (1982).
- [3] P. A. Hargrave, J. H. McDowell, D. R. Curtis, J. K. Wang, E. Juszczak, S. L. Fong, J. K. M. Rao und P. Argos, *Biophys. Struct. Mech.* **9**, 235 (1983).
- [4] E. A. Dratz und P. A. Hargrave, *Trends Biochem. Sci.* **8**, 128 (1983).
- [5] K. Nakanishi, V. Balogh-Nair, M. Arnaboldi, K. Tsujimoto und B. Honig, *J. Am. Chem. Soc.* **102**, 7945 (1980).
- [6] M. G. Motto, M. Sheves, K. Tsujimoto, V. Balogh-Nair und K. Nakanishi, *J. Am. Chem. Soc.* **102**, 7947 (1980); siehe auch die zusammenfassende Literatur bei M. Sheves, N. Friedman, *Angew. Chem.* **98**, 260 (1986); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **25**, 284 (1986).
- [7] W. F. Mommaerts, in B. R. Straatsma (Herausg.): *The Retina*, S. 225 ff., University of California Press, Los Angeles 1969; H. Akita, S. P. Tanis, M. Adams, V. Balogh-Nair und K. Nakanishi, *J. Am. Chem. Soc.* **102**, 6370 (1980).
- [8] K. Nakanishi, *Pure Appl. Chem.* **57**, 769 (1985); Y. Fukada, Y. Shichida, T. Yoshizawa, M. Ito, A. Kodama und K. Tsukida, *Biochemistry* **23**, 5826 (1984).
- [9] F. Crescitelli, W. F. Mommaerts und T. I. Shaw, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **56**, 1729 (1966); F. J. M. Daemen und S. L. Bonting, *Nature* **222**, 879 (1969).
- [10] A. S. Waggoner und L. Stryer, *Biochemistry* **10**, 3250 (1971); E. M. Johnston und R. Zand, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **47**, 712 (1972).
- [11] Dieser Fall ist nur theoretisch denkbar; da in der chiralen Struktur die Spiegelsymmetrie fehlt, kann auch keine Teilstruktur (hier die Polyenkette) dieses Symmetrieelement enthalten.
- [12] B. Becher und J. Cassim, *Biophys. J.* **15**, 65 (1975).
- [13] T. G. Ebrey, B. Becher, B. Mao, P. Kilbride und B. Honig, *J. Mol. Biol.* **112**, 377 (1977); siehe jedoch W. Stoerkenius, *Acc. Chem. Res.* **13**, 337 (1980).
- [14] V. Buss, M. Klein und U. Wingen, *Tetrahedron Lett.* **25**, 4487 (1984).
- [15] M. Klein, U. Wingen und V. Buss, *J. Am. Chem. Soc.* **109**, 6486 (1987).
- [16] A. M. Schaffer, W. H. Waddell und R. S. Becker, *J. Am. Chem. Soc.* **96**, 2063 (1974).
- [17] R. B. Birge, M. J. Sullivan und B. E. Kohler, *J. Am. Chem. Soc.* **98**, 358 (1976).
- [18] **2** und **3** liefern auch im gleichen Lösungsmittel (Rigisolve oder Methanol/Ethanol) annähernd spiegelbildliche CD-Spektren; die Auswahl in Abb. 3 wurde aus Platzgründen getroffen.
- [19] Zusätzlich zu den Konzentrationen der Abb. 4 wurde auch eine noch einmal um den Faktor 10 konzentriertere Lösung von **5** in Rigisolve vermessen, für die bei weitem nicht die maximale Amplitude der verdünnten Lösungen gefunden wurde. Möglicherweise ist bei der großen zu sammelnden Substanzmenge in diesem Fall in höherem Maße Isomerisation der sehr empfindlichen Verbindung eingetreten.
- [20] U. Wingen, L. Simon, M. Klein und V. Buss, *Angew. Chem.* **97**, 788 (1985); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **24**, 761 (1985).
- [21] P. Das und R. S. Becker, *J. Phys. Chem.* **82**, 2081 (1978).
- [22] B. Honig, U. Dinur, R. B. Birge und T. G. Ebrey, *J. Am. Chem. Soc.* **102**, 488 (1980).
- [23] Für die Geometrieoptimierungen verwendeten wir Allingers MMP2-Kraftfeld mit Parametern [15] entwickelt speziell für konjugierte Schiff-Basen. Die Methode liefert nach unseren bisherigen Erfahrungen (siehe z. B. V. Buss und M. Klein, *Chem. Ber.* **121**, 89 (1988); V. Buss und K. Kolster, *Z. Phys.*, im Druck) besonders für konjugierte Kohlenwasserstoffe hervorragende Geometrien.
- [24] Numerische Rechnungen wurden durchgeführt auf dem Zentralrechner des Rechenzentrums (Borroughs 6930) sowie auf Apollo workstations DN 3000 bzw. DN 4000.
- [25] M. Klein, Dissertation Duisburg (1987).
- [26] R. Gilardi, I. L. Karle, J. Karle und W. Sperling, *Nature (London)* **232**, 187 (1971); T. Hamanaka, T. Mitsui, T. Ashida und M. Kakudo, *Acta Crystallogr.* **B28**, 214 (1972).
- [27] B. Honig, B. Hudson, B. D. Sykes und M. Karplus, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **68**, 1289 (1971).
- [28] R. D. Gilardi, I. L. Karle und J. Karle, *Acta Crystallogr.* **B28**, 2605 (1972).
- [29] R. Rowan, W. Warshel, B. D. Sykes und M. Karplus, *Biochemistry* **13**, 970 (1974); B. Honig, A. Warshel und M. Karplus, *Acc. Chem. Res.* **8**, 92 (1974).
- [30] V. Buss und L. Simon, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1986**, 1932.
- [31] V. Haas, U. Wingen und V. Buss, *Chem. Commun.*, eingereicht.
- [32] L. Zechmeister, „*Cis-Trans* Isomeric Carotenoids, Vitamins A and Aryl Polyenes“, Academic Press, New York (1962).
- [33] E. Charney, „*The Molecular Basis of Optical Activity*“, Interscience, New York (1979).
- [34] Für die Rechnungen wurden Standard-Parameter verwendet [15]; für den CI-Teil wurden 200 einfach angeregte Zustände berücksichtigt. Doppelt angeregte Zustände, die für die Beschreibung von *g*- oder *quasi-g*-Zuständen wichtig sind, haben wir nicht eingeschlossen.
- [35] R. Pariser, *J. Chem. Phys.* **24**, 250 (1956).
- [36] R. A. S. Chandraratna, R. R. Birge und W. H. Okamura, *Tetrahedron Lett.* **25**, 1007 (1984).
- [37] R. S. Becker, G. Hug, P. K. Das, A. M. Schaffer, T. Takemura, N. Yamamoto und W. Waddell, *J. Phys. Chem.* **80**, 2265 (1976).
- [38] U. Wingen, Dissertation, Duisburg (1985).
- [39] Die Rotationsstärken wurden näherungsweise aus den Maximalamplituden durch Multiplikation mit dem Faktor $2.55 \cdot 10^{-40}$ ermittelt: P. H. Schippers und H. P. J. M. Dekkers, *J. Am. Chem. Soc.* **105**, 79 (1983).
- [40] V. Buss, L. Simon, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1986**, 1032.