# 3 Ergebnisse und Diskussion

## 3.1 Darstellung der Ausgangssubstanzen

Die erste Totalsynthese von Vitamin-A gelang 1937 *Kuhn et al.*[122]. Seitdem ist eine Vielzahl von Wegen beschritten worden, um Retinal und darüber hinaus retinalanaloge Verbindungen zu synthetisieren. Zum Aufbau des Moleküls wurde dabei eine große Anzahl von Reaktionen verwendet, von denen viele zu den klassischen Reaktionen in der organischen Chemie gehören. Zu nennen sind z. B. die Aldolkondensation, die Reformatskii-, Knoevenagel-Doebner-, Grignard-, Wurtz- und Michael-Reaktion sowie die Wittig- und Wittig-Horner-Reaktion[123-125]. In jüngerer Zeit wurden ebenfalls die Stille-[126,127] und Suzuki-Reaktion[128-131] sowie die Still-Gennari[103,132] Variante der Wittig-Horner-Reaktion angewandt. Ziel dieser Synthesemethoden ist vor allem die gezielte Darstellung von Isomeren des Retinals oder seiner Derivate.

Der Aufbau der Verbindungen kann unter retrosynthetischen Aspekten geplant werden. Für die Unterteilung bietet sich vor allem die beim nativen Retinal aus 9 Kohlenstoffatomen bestehende Polyenkette an, die an jeder Stelle in Synthone zerlegbar ist. Den Ausgangspunkt des Molekülaufbaus bildet dabei das Synthon, welches den Ring und eventuell bereits einen Teil der Polyenkette enthält. Die Vervollständigung der Kette kann dann mit einem oder mehreren Synthonen erfolgen. Die den Synthonen entsprechenden Syntheseäquivalente stehen zumeist sowohl mit Donor- als auch Akzeptor-Funktionalität zur Verfügung[123] (Abb. 3-1).

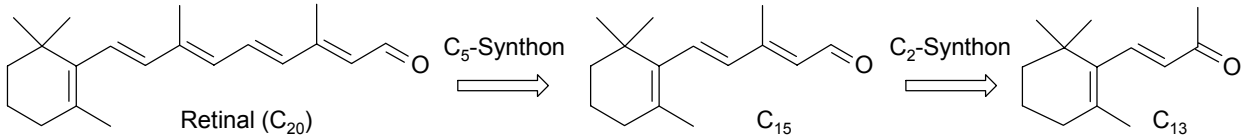
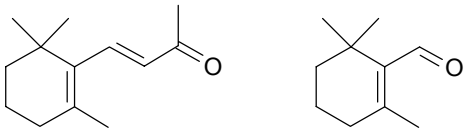



**Abb. 3-1** Beispiel für die retrosynthetische Planung einer Retinalsynthese

Für die im Rahmen dieser Arbeit zu synthetisierenden retinalanalogen Substanzen befinden sich die Modifikationen gegenüber der Stammverbindung an den Positionen 9 und 10 und in einem Falle zusätzlich an der Position 13. Zentraler Punkt der Synthesen war somit jeweils die Darstellung des ersten Bausteins, der die gewünschten Modifikationen enthält. Die bedeutendste Verbindung für die Totalsynthese von Retinal stellt

β–Ionon (**8**) dar (Abb. 3-2). In dessen Struktur ist zum einen der vollständige Cyclohexenring mit den drei Methylsubstituenten und zum anderen bereits der erste Teil der Polyenkette enthalten. Zusätzlich liegt mit dem Keton eine funktionelle Gruppe vor, die mit gängigen Verfahren der Carbonylolefinierung eine Verlängerung der Polyenkette zugänglich macht.




β-Ionon (**8**) β-Cyclocitral (**9**)

**Abb. 3-2** Wichtige Ausgangssubstanzen für die Synthese von Retinal und retinalanalogen Verbindungen

Als Grundbaustein bietet sich desweiteren die Verbindung β-Cyclocitral (**9**) an (s. Abb. 3-2). Diese besitzt ebenfalls den vollständigen Cyclohexenring mit den Substituenten und eine funktionelle Aldehydgruppe. Der gegenüber β-Ionon (**8**) fehlende Teil der Polyenkette ermöglicht die Einführung der geplanten Modifikationen im Aufbau des konjugierten Systems mit der Wahl entsprechender Synthone.

Aufgrund der vergleichbaren Polyenkette bei den zu synthetisierenden Verbindungen war für eine effiziente Darstellung die Verwendung weniger Synthone im Aufbau der jeweiligen Polyenkette anzustreben. Diese Voraussetzung wird durch die Anwendung der Wittig-Horner-Reaktion erfüllt. Die entsprechenden Phosphonate können selbst über zwei Stufen mit bewährten Vorschriften aus kommerziell erhältlichen Substanzen in guten Ausbeuten dargestellt werden. Orientiert man sich an dem retrosynthetischen Schema in Abb. 3-1, so sind z. B. für die Darstellung der an Position 9 modifizierten Zielverbindungen insgesamt nur zwei Phosphonate für die Wittig-Horner-Reaktionen vonnöten, wenn der Grundbaustein bereits die geplanten Modifikationen enthält: Ein $C_2$-Phosphonat für die erste Kettenverlängerung und ein $C_5$-Phosphonat für die Vervollständigung der Kette.

Von großer Bedeutung für die Verwendung der Retinalderivate ist die Konfiguration der Polyenkette. Die meisten der Aufbaureaktionen, so auch die Wittig-Horner-Reaktion, verlaufen nicht stereospezifisch und nur bedingt stereoselektiv. Aus diesem Grund liegen bei den Endprodukten der Synthesen Mischungen von Isomeren vor. Für die geplanten Untersuchungen der Substanzen als prosthetische Gruppen im Protein Bacteriorhodopsin wird der Chromophor in der all-*E*-Konfiguration benötigt, während die aktive Geometrie des Chromophors in Rhodopsin die 11*Z*-Form ist. Somit sind für die Untersuchungen bereits zwei unterschiedliche Isomere vonnöten, womit eine gezielte Synthese von reinen

Isomeren nicht sinnvoll war. Zudem sind Retinal und die Retinalderivate photolabil, so daß die präparative Darstellung von reinen Isomeren wenig praktikabel ist.

Entsteht ein notwendiges Isomer nicht als Folge der Synthese, so kann dieses auf photochemischem Wege dargestellt werden[124] (s. auch Punkt 3.1.2.1). Allerdings sind von den beim Retinal 16 möglichen Isomeren nur ein Teil über Belichtung erhältlich, die Restlichen sind nur über stereokontrollierte Synthesen zu erreichen[132-135].

Nach der Darstellung der Retinalderivate war eine erste, allerdings unvollständige Auftrennung der Isomere im Rahmen der chromatographischen Reinigung des Rohprodukts möglich. In der Regel konnte somit ein Teil des all-*E*-Isomers in reiner Form erhalten werden. Die komplette Auftrennung und Charakterisierung der entstandenen Isomere war nur mittels analytischer bzw. präparativer HPLC in Kopplung mit anderen spektroskopischen Methoden möglich. Aus diesem Grund werden die spektroskopischen Daten der Verbindungen bzw. der Isomere der Verbindungen zusammen mit den der photochemisch hergestellten Isomere unter Punkt 3.1.2 aufgeführt und diskutiert.

Für die Identifizierung der Zwischen- und Endprodukte sowie die Charakterisierung der jeweiligen Isomere wurde in erster Linie die $^{1}$H-NMR-Spektroskopie verwendet. Zusätzlich kamen die IR- und UV-Spektroskopie zum Einsatz. Von den Zwischenstufen wurden nur in Zweifelsfällen Massenspektren angefertigt, die molekularen Massen der Endprodukte der Synthesen, der Retinalderivate, wurden alle eindeutig mittels hochauflösender Massenspektren bestimmt.

### 3.1.1 Synthesen

#### *3.1.1.1 Darstellung der Phosphonate*

Die Wittig-Horner-Reaktion ist eine vielfach angewendete Methode zur Carbonylolefinierung, bei der eine Vielzahl von unterschiedlichen Phosphonaten eingesetzt worden sind[136,137]. In der Durchführung wird das Phosphonat in einer vorgelagerten Reaktion mit einer Base in $\alpha$-Position zum Phosphor deprotoniert, wobei die entstandene negative Ladung vom Phosphoratom bzw. Phosphonsäurerest stabilisiert wird. Dieses Nucleophil addiert sich dann an die Carbonylverbindung, die ein Aldehyd oder ein Keton sein kann. Die treibende Kraft zur weiteren Reaktion ist die hohe Sauerstoffaffinität des Phosphors, in dessen Folge es zu einer Bindungsverschiebung kommt, bei der die Kohlenstoff-Doppelbindung gebildet wird und der Phosphor den ehemaligen Carbonylsauerstoff übernimmt. Nebenprodukt dieser Reaktion ist somit ein entsprechender Phosphorsäureester. Der Vorteil der Wittig-Horner-Reaktion mit Phosphonsäurediestern gegenüber der Wittig-Reaktion mit Phosphoniumsalzen liegt in der höheren Nucleophilie der $\alpha$-anionisierten Phosphonate, womit sie in einem breiteren Anwendungsbereich einsetzbar sind[136]. Zusätzlich sind die Phosphorsäureester in der Aufarbeitung der Reaktionen leichter zu entfernen als die Phosphinoxide.

Der genaue Mechanismus der Wittig-Horner-Reaktion ist allerdings noch nicht geklärt[138]. Die Stereoselektivität der Reaktion ist von mehreren Faktoren abhängig. Von Bedeutung sind sowohl die sterischen Gegebenheiten bei der Carbonylkomponente und dem Phosphonat als auch die Reaktionsbedingungen, wie das Lösungsmittel, die Art der Base oder die Gegenwart von Salzen[136,138-140]. Insgesamt war bei den hier durchzuführenden Reaktionen aufgrund der Anwesenheit von konjugierten Gruppen eine Bevorzugung der *trans*-Verknüpfung zu erwarten[136].

Bei der Verwendung des $C_4$- und $C_5$-Phosphonats in der Wittig-Horner-Reaktion kann neben der Ausbildung der Doppelbindung auch der ungesättigte Charakter der Verbindungen zur Konfigurationsisomerie führen. Wie *Gedye et al.*[141] zeigen konnten, läßt sich dieses durch den Einsatz von isolierten Phosphonatisomeren nicht vermeiden: In der vorgelagerten Deprotonierung der Phosphorverbindungen tritt in jedem Fall eine Konfigurationsänderung auf, da die vorhandene negative Ladung über die Doppelbindung delokalisiert ist und somit eine Drehung der entsprechenden Bindung ermöglicht.

Die Phosphonate können mit verschiedensten Funktionalisierungen in einer Wittig-Horner-Reaktion eingesetzt werden[136]. Für die weitere Kettenverlängerung der Zwischenstufen und ebenfalls für die jeweilige Zielverbindung mußte sich die funktionelle Gruppe hier allerdings in ein Aldehyd überführen lassen. Dazu bieten sich zum einen Phosphonate mit einer Carbonsäureester-Gruppe oder zum anderen mit einer Nitril-Funktion an. Im Falle eines Esters ist die Überführung in die Carbonylgruppe über zwei Schritte vorzunehmen: Zuerst die Reduktion zum Alkohol (z. B. mit Lithiumaluminium-hydrid) und im Anschluß die Oxidation zum Aldehyd, die mit Mangandioxid durchgeführt werden kann. Die Nitrile lassen sich hingegen bei tiefen Temperaturen mit Diisobutyl-aluminiumhydrid (DIBAH) in einem Schritt zum Aldehyd reduzieren[142]. Zwar besteht diese Möglichkeit ebenfalls bei den Carbonsäureestern[143], bei $\alpha,\beta$-ungesättigten Verbindungen ist jedoch eine zweite Hydridübertragung durch das Reduktionsmittel nicht zu vermeiden[144], so daß beim Produkt eine Mischung des Aldehyds und des entsprechenden Alkohols vorliegt. Insgesamt ist die Reduktion von Nitrilen zu Aldehyden mit DIBAH eine gut durchzuführende und in guten bis sehr guten Ausbeuten verlaufende Reaktion, die bei der Synthese verschiedenster Verbindungen erfolgreich eingesetzt werden konnte[145-147]. Somit wurden die Phosphonate für die durchzuführenden Synthesen mit der funktionellen Nitril-Gruppe synthetisiert.

Die Substrate für die Synthese des $C_4$- und des $C_5$-Bausteins sind die Verbindungen 2-Butennitril (**10**) und 3-Methyl-2-butennitril (**13**), die in der Umsetzung mit N-Brom-succinimid (NBS) allylisch bromiert[148-150] und im Anschluß in einer Michaelis-Arbusov-Reaktion in die entsprechenden Phosphonate überführt werden können[151,152] (Abb. 3-3). Die Darstellung des $C_2$-Phosphonates **17** kann sofort aus der kommerziell erhältlichen Substanz Chloracetonitril (**16**) in der Umsetzung mit Triethylphospit vorgenommen werden (Abb. 3-3)[151].

Die Bromierung des Crotonitrils **10** konnte mit einer Ausbeute von 50 % an **11** durchgeführt werden (Literatur[149]: 40 %). Eine etwas geringere Ausbeute als in der Literatur[148] wurde bei der entsprechenden Umsetzung des 3-Methylcrotonitrils (**13**) zu **14** erreicht: 65 % gegenüber 73 % Ausbeute. Die unterschiedliche Reaktivität der beiden Nitrile war bereits bei den Umsetzungen zu beobachten: Während das $C_5$-Nitril **13** sichtlich exotherm reagierte, mußte die radikalische Bromierung beim $C_4$-Nitril **10** durch weitere Zugabe von Radikalstarter unterstützt werden. Interessanterweise setzte sich dieser Trend bei der weiteren Umsetzung mit Triethylphosphit fort. Während das $C_5$-Phosophonat **15**

mit 81 % Ausbeute aus **14** hergestellt werden konnte, ergab die Reaktion von **11** zum $C_4$-Phosphonat **12** nur 68 % Ausbeute. Möglicherweise ist der Polarisierbarkeitseffekt der zusätzlichen Methylgruppe bei den jeweiligen $C_5$- gegenüber den $C_4$-Verbindungen für dieses Verhalten verantwortlich.

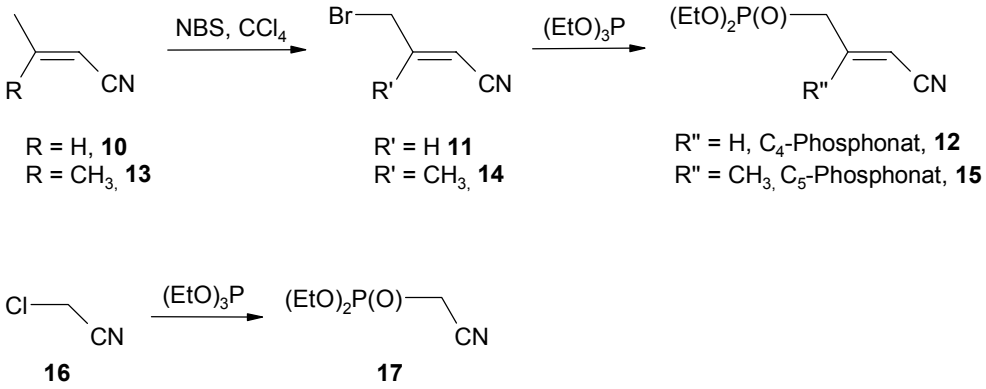



**Abb. 3-3** Syntheseschema der Phosphonate

Aus der Reaktion des Chloracetonitrils (**16**) mit Triethylphosphit wurde das $C_2$-Phosphonat **17** in einer Ausbeute von 87 % erhalten.

Die Identifizierung der Verbindungen ist eindeutig mittels der $^1$H-NMR-Spektroskopie möglich: Bei den halogenierten Substanzen gelingt dieses anhand der gegenüber den Eduktspektren auftretenden Signalen der Methylengruppen, die durch die Bindung zum Halogen bei ca. 4 ppm detektiert werden, während die Signale der entsprechenden Methylgruppe in den Edukten bei ca. 2 ppm vorzufinden sind. Durch die Monosubstitution des 3-Methylcrotonitrils (**13**) treten in dessen Spektrum sowohl die Signale der Methyl- als auch der Methylengruppe auf. In den Spektren der Phosphonate werden infolge der großen Kopplungskonstante zwischen Phosphor und benachbarten Protonen deutlich aufgespaltene Signale detektiert, und im Gegensatz zu den Edukten erscheinen die Signale der Ethylgruppen des Phosphonsäureesters.

Das *Z*/*E*-Verhältnis bei den ungesättigten Phosphonaten ließ sich aus den Spektren mit 1:1.4 bei der $C_4$-Verbindung **12** und mit 1:2 bei der $C_5$-Verbindung **15** ermitteln.

### *3.1.1.2 Darstellung von 9-Demethylretinal*

Die Synthese von 9-Demethylretinal (9-dm, **2**) ist in der Vergangenheit bereits mehrfach durchgeführt worden. Zum ersten Mal gelang es 1966 *v. d. Tempel et al.*[153] ausgehend von β-Ionon den Ethylester der Verbindung zu erhalten. Diesem Reaktionsschema folgend ist 9-dm (**2**) wiederholt synthetisiert worden[90,92,97,154,155]. Eine Variation in der Darstellung der ersten ringenthaltenden Komponente nach *Nicolaux et al.*[156] wurde von zwei weiteren Arbeitsgruppen verwendet[91,157]. Weitere Syntheseschemata haben die stereokontrollierte Darstellung zum Ziel. In der Arbeitsgruppe von *de Lera et al.*[128,130,131] wurde zu diesem Zweck die Suzuki-Kupplung und von *Corson et al.*[95] die Still-Gennari-Variante der Wittig-Horner-Reaktion verwendet. Bei zwei weiteren publizierten Synthesen des Retinalderivats kamen dazu Zinnverbindungen in der direkten Umsetzung zum Zielmolekül[127] in einer Stille-Reaktion oder in der Darstellung der Synthone für die Kettenverlängerung zum Einsatz[126].

Über die geringste Anzahl von Zwischenstufen ließe sich 9-dm (**2**) nach *Gärtner et al.*[31] ausgehend von β-Cyclocitral (**9**) darstellen. Diese Synthese ermöglicht die Einführung der Modifikation (9-nor) im ersten ringenthaltenden Teilstück in einem Schritt durch die Umsetzung mit dem $C_4$-Phosphonat **18**. Würden anstelle der Ester der Phosphonate die entsprechenden Nitrile eingesetzt, so könnte die Vorstufe **19** ohne die Reduktion und Oxidation des Wittig-Horner-Produkts über zwei Schritte erhalten werden. Unter Verwendung des $C_5$-Phosphonats **15** für die weitere Kettenverlängerung wäre die Zielverbindung dann insgesamt über vier Stufen darzustellen.

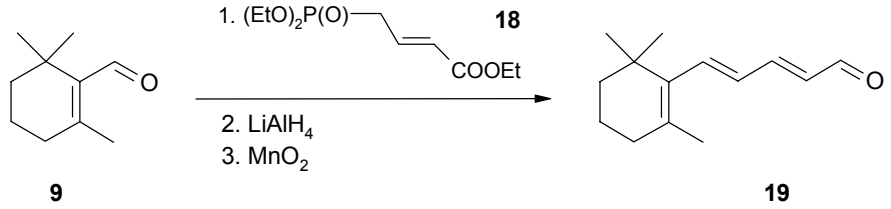



**Abb. 3-4** Darstellung des ersten ringenthaltenden Bausteins **19** aus β-Cyclocitral (**9**) zur Synthese von 9-Demethylretinal (**2**) nach *Gärtner et al.*[31]

Allerdings treten im Produkt der Wittig-Horner-Reaktion von β-Cyclocitral (**9**) mit dem $C_4$-Phosphonat **12** nicht nur die erwarteten Konfigurationsisomere der Polyenkette auf (9*Z*

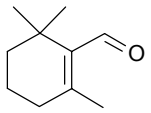
bzw. all-*E*), sondern zusätzlich findet sich das α-Konstitutionsisomer[d] des Substrats mit einem Anteil von ca. 40 %[158]. Dieses ist aufgrund eines geringen Polaritätsunterschieds chromatographisch nicht vom erwünschten β-Isomer abzutrennen. Variationen der Reaktionszeit und der Einsatz verschiedener Basen (DIBAH und Lithiumdiisopropylamid anstelle von Natriumhydrid) nehmen einen Einfluß auf den Anteil des α-Isomers im Kopplungsprodukt, das Auftreten des Konstitutionsisomers kann aber nicht vollständig ausgeschlossen werden[158]. In der Literatur finden sich darüber hinaus noch mehrere Berichte über Probleme bei der Verwendung von β-Cyclocitral in Wittig-Horner-Reaktionen[129,159,160].

Da die Doppelbindungsverschiebung im Cyclohexenring von β-Ionon (**8**) nicht auftritt, wurde diese Verbindung als Substrat für die hier durchzuführende Synthese von 9-Demethylretinal (**2**) verwendet. Zur Darstellung des 9-nor-Bausteins wurde dazu das von *v. d. Tempel et al.*[153] beschriebene Verfahren eingesetzt (Abb. 3-5). Dazu wird β-Ionon (**8**) in einer Haloformreaktion mit Natriumhypochlorit zu der um ein Kohlenstoffatom kürzeren Säure **20** umgesetzt. Nach der Reduktion zum Alkohol **21** und der partiellen Oxidation zum Aldehyd **22** kann die Polyenkette der Zielverbindung unter Verwendung des $C_2$- und $C_5$-Phosphonats (**17** bzw. **15**) aufgebaut werden.

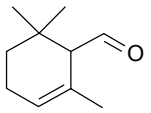
Im ersten Schritt konnte β-Ionon (**8**) mit einer Ausbeute von 27 % zu der Säure **20** umgesetzt werden. Die im Vergleich zur Literatur kleinere Ausbeute ist auf die geringere Konzentration der verwendeten Hypochloritlösung zurückzuführen. Während hier eine kommerzielle Lösung mit einer Konzentration von 13 % verwendet wurde, stellten *v. d. Tempel et al.*[153] und auch *Tribolet*[161] vor der Reaktion eine 18 %ige Lösung her und erhielten eine Ausbeute von 77 bzw. 80 %.

Die Reduktion der Säure **20** mit Lithiumaluminiumhydrid zum Alkohol **21** erbrachte eine Ausbeute von 55 %. Der Aldehyd **22** konnte dann aus der Reoxidation mit Mangandioxid in 82 % Ausbeute gewonnen werden. Damit lag die Schlüsselverbindung für die weitere Synthese des 9-Demethylretinals (**2**) vor. Die Identifizierung der Verbindung **22** ist

[d] Das β- und α-Konstitutionsisomer von Cyclocitral




β-Isomer




α-Isomer

eindeutig über die $^1$H-NMR-Spektroskopie möglich (Abb. 3-6): Das Aldehydproton findet sich infolge des Einflusses der Carbonylgruppe immer bei tiefstem Feld ($\delta$ = 9.51 ppm). Dieses Proton koppelt mit dem benachbarten Proton an Position 8, das infolge der weiteren Nachbarschaft zum Proton an Position 7 insgesamt zu einem Dublett-Dublett aufspaltet. Das verbleibende Dublett ist somit dem Proton an Position 7 zuzuordnen. Im Vergleich zum Spektrum des $\beta$-Ionons (**8**) fehlt das dort zu detektierende Signal der Methylgruppe an Position 9, so daß nur noch die Signale der Methyl- bzw. Methylengruppen des Cyclohexenrings im Spektrum erscheinen.

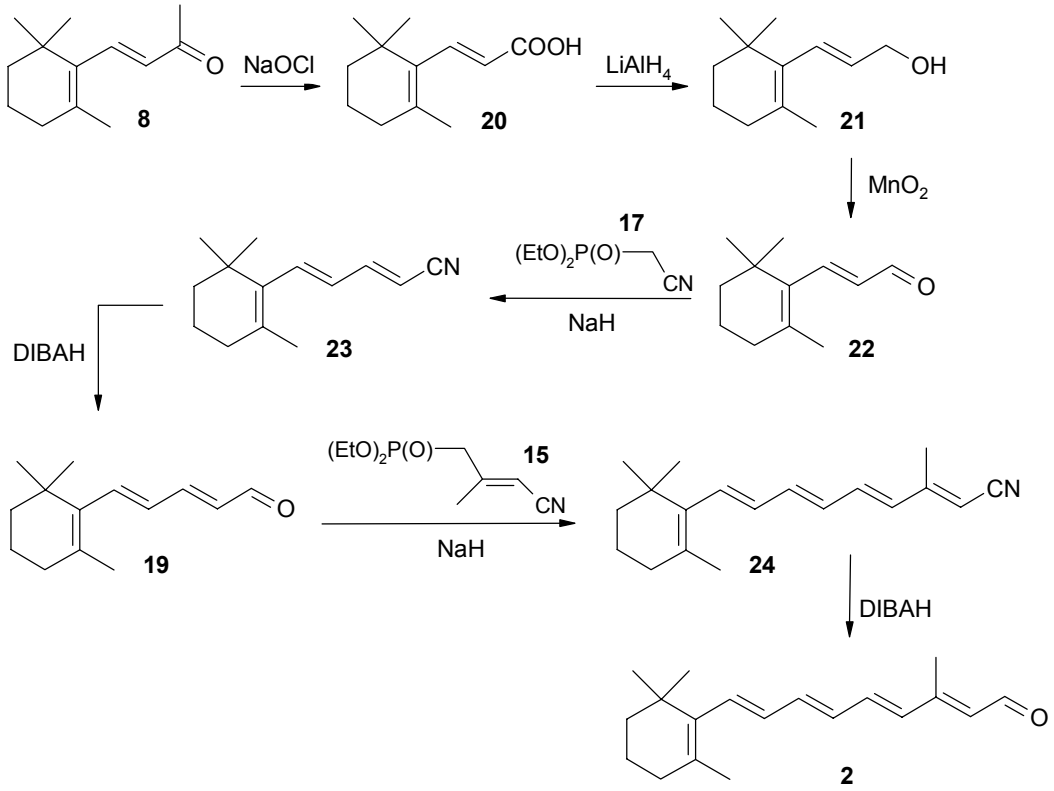



**Abb. 3-5** Gewählter Syntheseweg zur Darstellung von 9-Demethylretinal (**2**)

In der weiteren Synthese erfolgte die erste Verlängerung der Kohlenstoffkette der Verbindung **22** mit Diethylphosphonoacetonitril **17** zum Nitril **23** mit einer Ausbeute von 86 %. Aus dem $^1$H-NMR-Spektrum läßt sich ein 9*Z*/all-*E*-Verhältnis von ca. 1:2 ermitteln. Für die im weiteren folgende Wittig-Horner-Reaktion wurde das Nitril mit DIBAH in 83 % Ausbeute zum Aldehyd **19** reduziert.

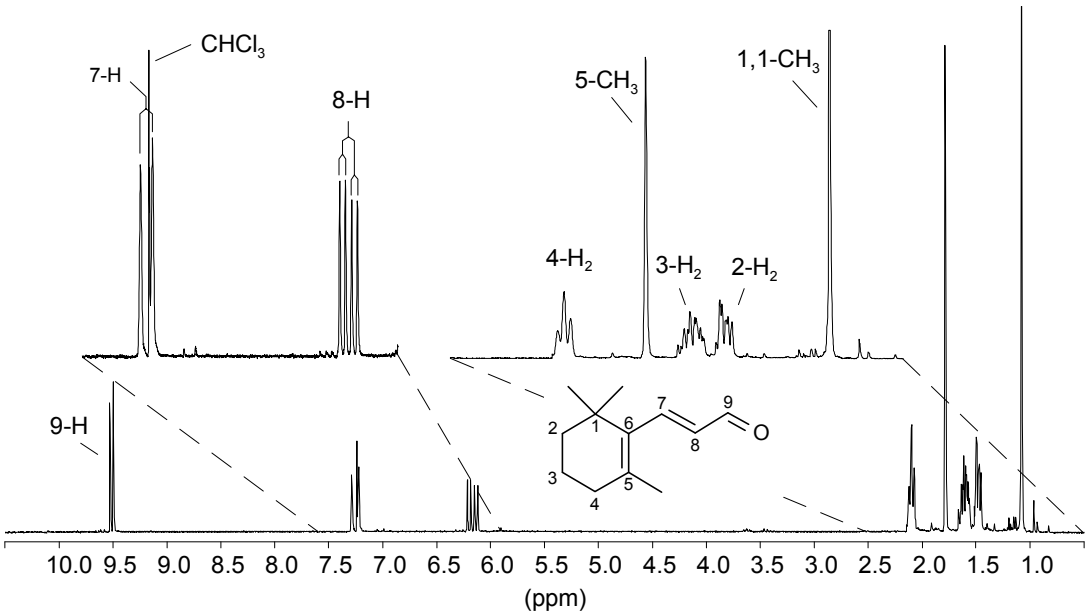



**Abb. 3-6** $^1$H-NMR-Spektrum der 9-Demethylretinal-Vorstufe **22** ($CDCl_3$, 250 MHz)

Die Erweiterung der Verbindung **19** um 5 Kohlenstoffatome zum Nitril **24** gelang mit 74 % und die anschließende Reduktion mit DIBAH zur Zielverbindung **2** mit 73 % Ausbeute. Bei der chromatographischen Reinigung konnte nur das all-*E*-Isomer in reiner Form isoliert werden. Die Protonenspektren der weiteren abgetrennten Fraktionen lassen auf das 9*Z*,13*Z*-, 13*Z*- sowie das 9*Z*-Isomer schließen. Die Abwesenheit eines Isomers mit *Z*-konfigurierter Doppelbindung an der Position 11 der Polyenkette zeigt dabei die hohe Stereoselektivität der Wittig-Horner-Reaktion mit dem $C_5$-Phosphonat **15**. Im Gegensatz zur Kettenverlängerung mit dem $C_2$-Phosphonat **17**, die im Produkt zu einem Gemisch aus *E*- und *Z*-Isomer führt (Nitril **23** bzw. Aldehyd **19**), erfolgt die Anknüpfung mit dem $C_5$-Phosphonat **15** nur *trans*-ständig. Die auftretende 13*Z*-Anordnung des 9-Demethylretinals (**2**) wird dabei, wie eingangs aufgeführt, durch den ungesättigten Charakter des $C_5$-Synthons **15** verursacht. Ein identisches Verhalten ist bei den entsprechenden Wittig-Horner-Reaktionen in der Synthese der anderen Retinalderivate zu beobachten (s. u.). Gleiches gilt auch für die Verwendung des $C_4$-Phosphonats **12** (s. Punkt 3.1.1.5).

Insgesamt wurde 9-Demethylretinal (**2**) über 7 Stufen mit einer Gesamtausbeute von 4.7 % erhalten. Nachteilig wirkten sich dabei die geringen Ausbeuten in den ersten beiden Schritten der Synthese aus.

### *3.1.1.3 Darstellung von 9-Ethylretinal*

Das Retinalderivat 9-Ethylretinal (9-Et, **3**) ist in der Literatur weit weniger bekannt als die 9-Demethyl-Verbindung **2**. Zum ersten Mal erwähnt wurde die 9-Ethylretinsäure im Rahmen einer $^{13}$C-NMR-spektroskopischen Untersuchung von Retinal und einer Reihe von analogen Verbindungen durch *Englert*[162]. Eine Angabe zum Syntheseweg ist allerdings nicht aufgeführt. In gleicher Weise bleibt die Synthese bei *Schenk et al.*[163] unerwähnt, der die Struktur des Esters via Röntgenstrukturanalyse bestimmte.

Die erste ausführliche Beschreibung wurde von *Ernst et al.*[164] gegeben (Abb. 3-7). Die Schlüsselverbindung zur Darstellung von 9-Ethylretinal (**3**) ist vergleichbar zu 9-Demethylretinal (**2**) der erste Baustein, der hier allerdings in Position 9 eine Ethylgruppe trägt. Zugang zu dieser Verbindung erhielt *Ernst et al.*[164] über die Ethinylverbindung **25**, die nach *Negishi et al.* aus β-Ionon (**8**) hergestellt werden kann. Im weiteren wurde diese mittels Butyllithium metalliert und in der Umsetzung mit Chlorameisensäuremethylester in den entsprechenden Ester **26** überführt. In der Reaktion mit Lithiumdiethylcuprat und anschließender Hydrolyse gelang die Einführung der Ethylgruppe in Position 9. Der so erhaltene Ester **27** wurde entsprechend in der hier durchgeführten Darstellung von 9-Demethylretinal mittels Reduktion/Reoxidation in den entsprechenden Aldehyd überführt, im Anschluß mit dem $C_5$-Phosphonat umgesetzt und mit DIBAH zu 9-Ethylretinal (**3**) reduziert.

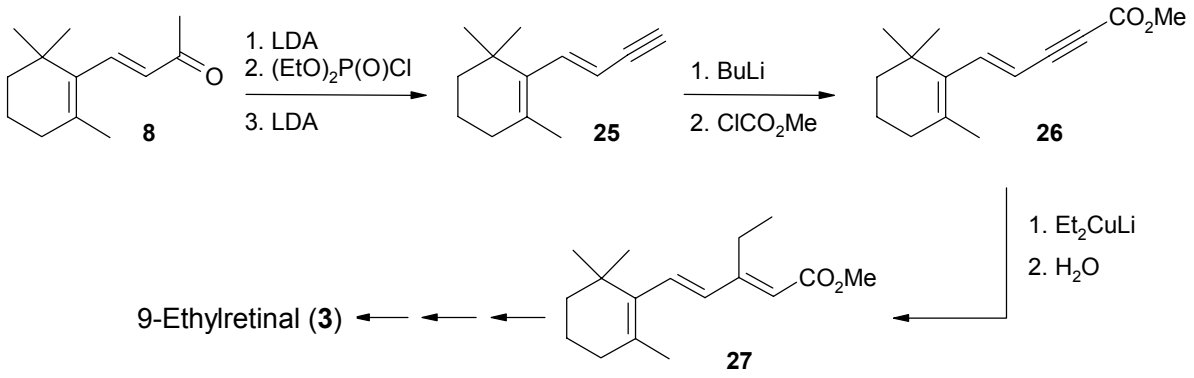



**Abb. 3-7** Synthese von 9-Ethylretinal (**3**) nach *Ernst et al.*

Neben diesem Verfahren zur Darstellung der Zielverbindung werden in der Literatur noch zwei weitere Syntheseschemata kurz aufgeführt: *Lewis et al.*[102] gelang die Einführung der gewünschten Modifikation durch die Methylierung der Methylgruppe an

Position 9 des β-Ionons (**8**) (Abb. 3-8), wobei das Keton **28** erhalten wird. Der weitere Aufbau zur 9-Ethylretinal (**3**) wurde wiederum (s. Abb. 3-5) mit Hilfe des $C_2$- und $C_5$-Phosphonats (**17** bzw. **15**) vorgenommen. In der gleichen Vorgehensweise stellten *Delaney et al.*[98] das Retinalderivat dar.

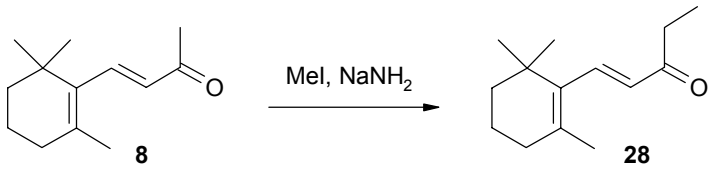



**Abb. 3-8** Erster Schritt in der Synthese von 9-Ethylretinal (**3**) nach *Lewis et al.*

Das zweite von *Han et al.*[100] publizierte Verfahren zur Darstellung der Schlüsselverbindung **28** zeigt die Abb. 3-9. Ausgangspunkt der Synthese ist die Verbindung **29**, die aus 3-(2,6,6-Trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-2-propensäure-ethylester (Ethylester von **20**, s. Abb. 3-5) und N,O-Dimethylhydroxylamin erhalten werden kann[165]. Die Ethylverbindung **28** konnte dann in einer nachfolgenden Grignard-Reaktion mit Ethylmagnesiumchlorid und anschließender Hydrolyse hergestellt werden.

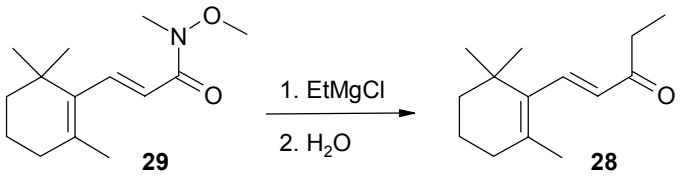



**Abb. 3-9** Darstellung des modifizierten ersten Teilstückes **28** zur Synthese von 9-Ethylretinal (**3**) nach *Han et al.*

Die hier durchzuführende Darstellung von 9-Ethylretinal (**3**) wurde in Anlehnung an das von *Lewis et al.*[102] beschriebene Syntheseschema durchgeführt. Im Unterschied dazu erfolgte die Methylierung des β-Ionons aber nach *Groesbeek et al.*[166], bei der für die Bildung des Enolats nicht Natriumamid, sondern Lithiumdiisopropylamid (LDA) zum Einsatz kommt. Für den in Abb. 3-10 zusammenfassend dargestellten Syntheseweg sprechen folgende Punkte: Das Syntheseäquivalent **28**, welches die Ethylgruppe trägt, ist in einem Schritt zu erhalten. Die weitere Synthese von 9-Et (**3**) kann in vier Schritten über Wittig-Horner-Reaktionen und jeweils anschließender Reduktion mit DIBAH zum Aldehyd in bereits erprobter Weise durchgeführt werden. Die zur Synthese notwendigen Phosphonate wurden bereits zur Synthese von 9-dm (**2**) hergestellt, so daß die eingangs

angestrebte effiziente Darstellung der Retinalderivate auch bei dieser Verbindung eingehalten werden kann.

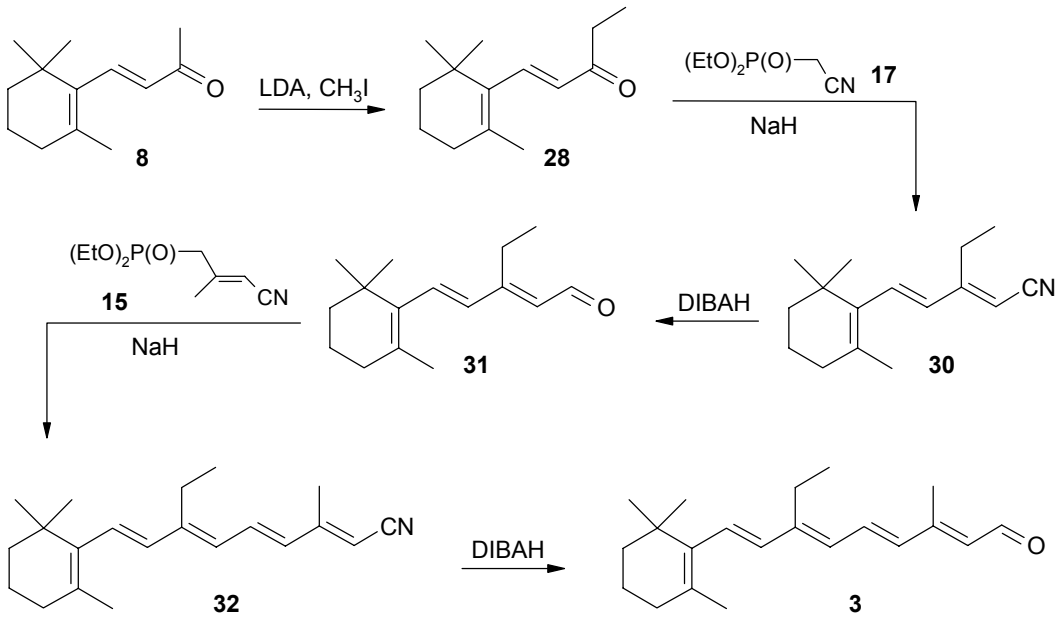



**Abb. 3-10** Geplanter Syntheseweg für die Darstellung von 9-Ethylretinal (**3**)

Allerdings gelang die Methylierung von β-Ionon (**8**) im Gegensatz zur der von *Groesbeek et al.*[166] angegebenen Ausbeute von 70 % nur mit 30 %. Im Produkt sind neben dem monoalkylierten Ionon **28** ein deutlicher Anteil (16 % der theoretischen Ausbeute) an zweifach alkyliertem Keton (**33**, s. Abb. 3-12) vorzufinden, obwohl entgegen der Literaturvorschrift bereits nur eine äquimolare Menge an Methyliodid eingesetzt wurde. Wird die Reaktion entsprechend der Literatur, gegenüber β-Ionon (**8**) mit einem Überschuß Base und Methylierungsreagenz durchgeführt, so erhält man neben einer geringeren Ausbeute zusätzlich mehr doppelt- als monoalkyliertes Produkt[158]. Mit der Vermeidung eines Überangebots an Methyliodid in der Reaktionsmischung sollte das Ausmaß der Zweitalkylierung zu verringern sein. Eine entsprechend durchgeführte Reaktion mit deutlicher Verlangsamung der Methyliodid-Zugabe zur Reaktionsmischung verändert das Ergebnis nicht, sondern bewirkt aufgrund verstärkt auftretender Aldolreaktion nur einen höheren Anteil an Nebenprodukten[158]. Allgemein sollte die Reaktion des β-Ionons (**8**) mit Methyliodid zum Ethylhomologen gegenüber der Zweitalkylierung aus sterischen Aspekten bevorzugt sein. Möglicherweise führt allerdings der Polarisierbarkeitseffekt der zuerst eingeführten Methylgruppe zu einer Stabilisierung der negativen Ladung, so daß die Zweitalkylierung erleichtert wird.

Somit war die *gezielte* Monoalkylierung des β-Ionons (**8**) über den gewählten Weg nach der Vorschrift von *Groesbeek et al.* nicht möglich. Von der praktischen Seite aus betrachtet, hatte die gleichzeitige Entstehung von mono- und dialkyliertem Produkt auch einen Vorteil: Für die geplante Darstellung des Retinalderivats 9-Isopropylretinal (**4**) ist als Ausgangspunkt für die weitere Synthese eben jenes doppelalkylierte Ionon **33** herzustellen. Da die beiden Methylierungsprodukte in einer zweifachen chromatographischen Reinigung vollständig voneinander zu trennen sind, werden entgegen der direkten Zielsetzung mit einer Reaktion zwei notwendige Substanzen erhalten, die ansonsten in zwei getrennten Umsetzungen hätten hergestellt werden müssen. Nach der ursprünglichen Planung sollte das doppelalkylierte Produkt in der gleichen Vorgehensweise wie die Ethylverbindung dargestellt werden, wobei zur Erzwingung einer zweiten Alkylierung des Ionons ein deutlicher Überschuß an Methyliodid hätte eingesetzt werden sollen.

Zur Unterscheidung der Ethyl- von der Isopropylvorstufe ist die $^1$H-NMR-Spektroskopie ein geeignetes Verfahren: Bei der Ethylkomponente (**28**) tritt die Methylengruppe zum Quartett aufgespalten bei ca. 2.6 ppm und die Methylgruppe bei ca. 1.1 ppm als Triplett auf (Abb. 3-11a). Im Falle der Isopropylverbindung (**33**) liegt eine Methingruppe vor, deren Signal aufgrund der Nachbarschaft von 6 Methylprotonen zu einem Septett aufgespalten wird, welches bei ca. 2.8 ppm erscheint. Die Signale der Methylgruppen finden sich bei ca. 1.1 ppm zum Dublett aufgespalten (Abb. 3-11b). Die Reinheit der Substanzen konnte mittels Massenspektrometrie nachgewiesen werden.

Die weitere Synthese von 9-Ethylretinal konnte problemlos durchgeführt werden. Mit 90 % Ausbeute wurde das Nitril **30** aus der Wittig-Horner-Reaktion des Ketons **28** mit dem $C_2$-Phosphonat **17** erhalten. Die Reduktion der Substanz zur Verbindung **31** mit DIBAH gelang mit einer Ausbeute von 76 %, wobei im Produkt das 9*Z*- und all-*E*-Isomer im Verhältnis von 2:3 vorzufinden waren. Die weitere Verlängerung der Polyenkette mit dem $C_5$-Phosponat **15** ließ das Nitril **32** zu 93 % entstehen. Der letzte Schritt der Synthese zu 9-Ethylretinal aus der Reduktion der Verbindung **32** konnte mit einer Ausbeute von 83 % durchgeführt werden. Bei der Reinigung des Rohprodukts konnte, wie zuvor bei 9-dm (**2**), ein Teil des all-*E* konfigurierten Isomers in reiner Form abgetrennt werden. Die anderen Isomere der Zielverbindung waren aus der Reinigung nur als Mischungen zu erhalten. Aus den Protonenspektren der einzelnen Fraktionen konnte auf die Anwesenheit von 9*Z*,13*Z*-, 13*Z*-, 9*Z*- und dem all-*E*-Isomer geschlossen werden.

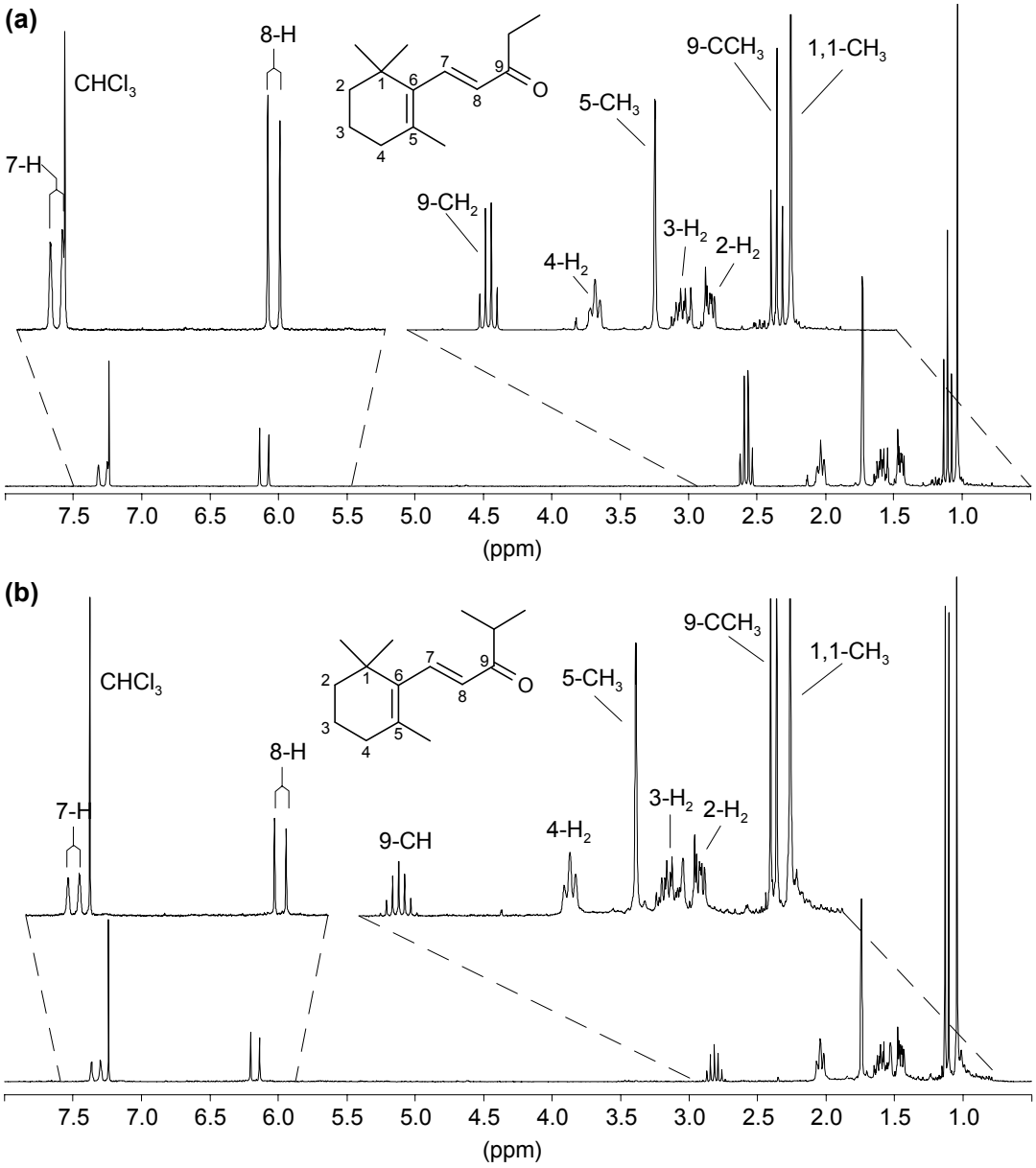



**Abb. 3-11** $^{1}$H-NMR-Spektrum der a) Ethylvorstufe **28** und b) der Isopropylverbindung **33** (250 MHZ, $CDCl_3$)

Insgesamt war es über den gewählten Syntheseweg möglich, die Verbindung 9-Ethylretinal (**3**) ausgehend von β-Ionon über 5 Stufen mit einer Gesamtausbeute von 16 % herzustellen. Trotz der geringen Ausbeute im ersten Schritt der Synthese wurde die von *Ernst et al.*[164] erreichte Gesamtausbeute von 10.7 % übertroffen.

### *3.1.1.4 Darstellung von 9-Isopropylretinal*

In der Literatur ist 9-Isopropylretinal (9-Is, **4**) nur zweimal erwähnt worden. Zum einen in einem Übersichtsartikel von *Liu* und *Asato* über analoge Chromophore des Rhodopsins[103], wobei weder Hinweise zur Synthese noch physikalische bzw. spektroskopische Daten der Verbindung aufgeführt sind. Zum anderen konnte 9-Isopropylretinal (**4**) von *Delaney et al.*[98] in eine Mutante des Proteins Bacteriorhodopsin eingebaut werden. Von der Darstellung des Retinalderivats wird nur die erste Umsetzung kurz erwähnt: Demnach wurde β-Ionon (**8**), analog zu der Vorgehensweise von *Lewis et al.*[102] bei der Synthese von 9-Ethylretinal (**3**, siehe Abb. 3-8), mit zwei Äquivalenten Methyliodid in Gegenwart von drei Äquivalenten Natriumamid umgesetzt. Spektroskopische Daten zu 9-Isopropylretinal werden ebenfalls nicht aufgeführt.

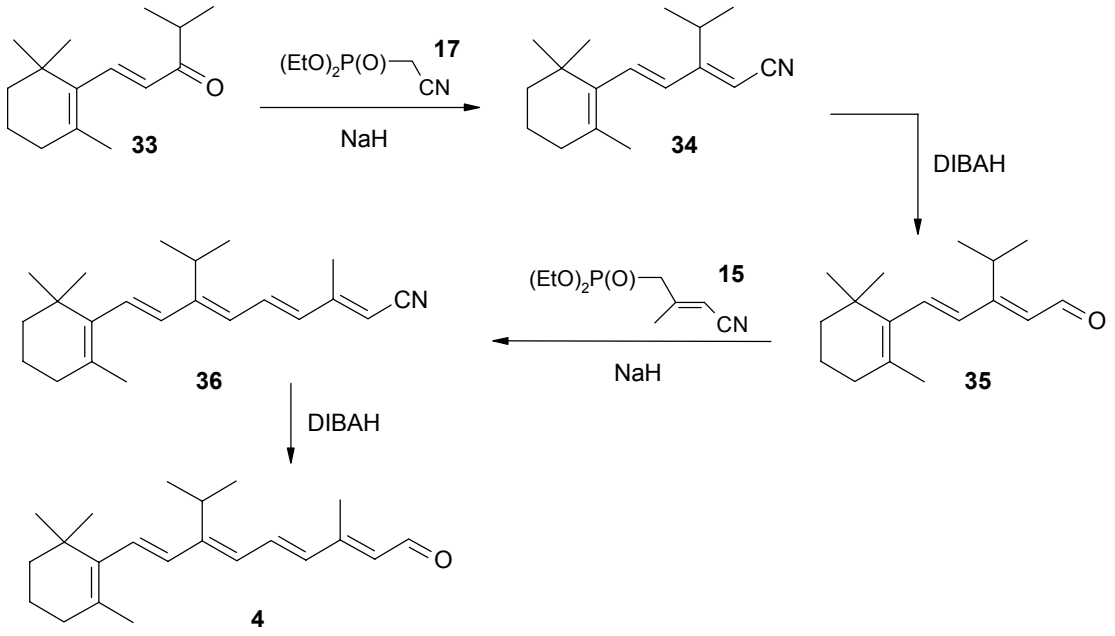



**Abb. 3-12** Schema der Synthese von 9-Isopropylretinal (**4**)

Mit der Entstehung des doppelalkylierten "Nebenprodukts" in der Darstellung des ersten ringenthaltenden Teilstücks bei der Synthese von 9-Ethylretinal (**3**, s. Punkt 3.1.1.3) lag die Schlüsselverbindung für die Darstellung von 9-Isopropylretinal (**4**) bereits vor. Insofern konnte die weitere Synthese der Zielverbindung in gleicher Weise wie zuvor bei 9-Et (**3**) durchgeführt werden (Abb. 3-12): Eine Verlängerung der Kohlenstoffkette mit dem $C_2$-Phosphonat **17** gefolgt von der Reduktion zum Aldehyd, woran sich die letzte Erweiterung

des konjugierten Systems mit dem $C_5$-Phosphonat **15** anschließt, aus dem in der letzten Reaktion mit dem Hydrid die Zielverbindung 9-Isopropylretinal (**4**) erhalten wird.

Die erste Umsetzung des Ketons **33** in der Wittig-Horner-Reaktion mit dem $C_2$-Baustein **17** gelang mit einer Ausbeute von 78 % an Nitril **34**. Aus dem Protonenspektrum des Gesamtprodukts konnte die Anwesenheit von zwei Isomeren festgestellt werden. Im nächsten Schritt wurde in der Reduktion der Verbindung **34** der entsprechende Aldehyd **35** mit einer Ausbeute von 63 % gewonnen. Das Produkt setzte sich erwartungsgemäß aus dem 9*Z*- und all-*E*-Isomer zusammen, wobei ersteres mit einem Anteil von ca. 60 % überwog. Die Darstellung des Nitrils **36** aus den Verbindungen **35** und **15** gelang nahezu quantitativ zu einer Mischung aus mindestens 3 Isomeren. Die Zielverbindung 9-Is (**4**) konnte dann in 93 % Ausbeute aus der letzten Umsetzung isoliert werden. Aus den Protonenspektren der aufgetrennten Fraktionen konnten vier Isomere mit den folgenden Anteilen identifiziert werden: 12 % 9*Z*,13*Z*, 6 % 13*Z*, 53 % 9*Z* und 29 % all-*E*. Der relativ hohe Anteil an 9*Z*-Isomer zeigt bereits den großen sterischen Einfluß der an Position 9 eingeführten Isopropylgruppe auf die Struktur des Retinalderivats.

Insgesamt konnte 9-Isopropylretinal (**4**) über vier Stufen in einer Gesamtausbeute von 45 % erhalten werden.

### *3.1.1.5 Darstellung von 10-Methyl-13-demethylretinal und 10-Methylretinal*

Die Synthese der Retinalderivate 10-Methyl-13-demethylretinal (MD, **6**) und 10-Methylretinal (10-Me, **7**) begann in der Darstellung einer gemeinsamen Vorstufe **33**, dem ringenthaltenden ersten Teilstück mit einer Methylgruppe an Position 10. Aus diesem Grund werden die in der Literatur publizierten und hier durchgeführten Synthesen der Vorstufe sowie der Zielverbindungen gemeinsam aufgeführt.

Insgesamt sind drei verschiedene Zugangswege zu der Schlüsselverbindung 2,3-Dimethyl-5-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-2,4-pentadienal (**38**) publiziert worden. Zum ersten Mal gelang *Tanis et al.*[167] die Darstellung der Verbindung über den in Abb. 3-13 dargestellten Weg.

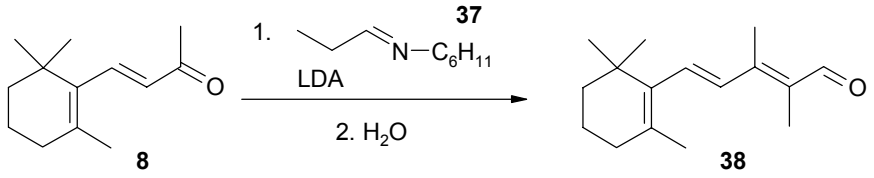



**Abb. 3-13** Darstellung der 10-Methyl-Vorstufe **38** nach *Tanis et al.*

Ausgangspunkt der Synthese ist wiederum β-Ionon (**8**), welches mit der Schiff-Base von Propanal **37** unter Mitwirkung von LDA zur Verbindung **38** umgesetzt wird. Dieses Syntheseschema ist von zwei weiteren Autoren zur Synthese von 10-Me (**7**) nachvollzogen worden[119,168]. *Asato et al.* berichteten allerdings, daß sie diese Reaktion nicht reproduzieren konnten und begannen ihre Darstellung von 10-Me (**7**) mittels einer Peterson-Olefinierung des β-Ionons (**8**) mit der Verbindung **39** (Abb. 3-14)[115]. Nach der Kupplung muß der erhaltene Ethylester, wie bereits bei der Synthese der anderen Retinalderivate beschrieben, über den Weg der Reduktion zum Alkohol und der sich anschließenden Reoxidation zum gewünschten Aldehyd umgesetzt werden.

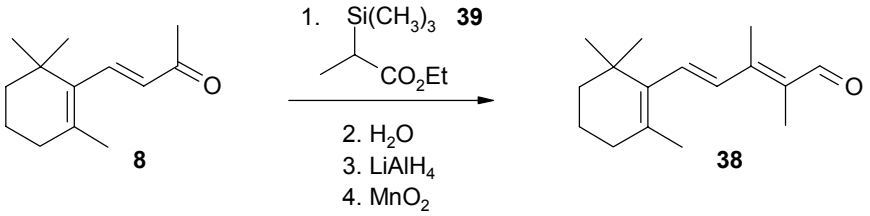



**Abb. 3-14** Darstellung der 10-Methyl-Vorstufe **38** nach *Asato et al.*

Auf dem von *Asato et al.* beschriebenen Weg führten *Crescitelli et al.*[169] und *Koch et al.*[117] die Synthese der Retinalderivate **7** bzw. **6** durch. Letzterer setzte nicht den Ethylester der Verbindung **39**, sondern das entsprechende Nitril ein und konnte somit den Aldehyd, im Anschluß an die Kupplung, in einem weiteren Schritt durch die Reduktion mit DIBAH erhalten.

Die dritte Variante in der Synthese der Komponente **38** beruht auf dem von *Jansen et al.*[170] angewendeten Verfahren (Abb. 3-15). Die erste Stufe dieser Umsetzung stellt eine Carbonylolefinierung nach Wittig und Horner dar. Dabei wird das Phosphonat aber nicht als Teil einer konvergenten Synthese produziert, sondern in einer vorgelagerten Reaktion einer Eintopf-Synthese dargestellt. Zu diesem Zweck wird zuerst Propionitril (**40**) mit der Base LDA in 2-Position deprotoniert und unter Zusatz von Diethylchlorphosphat in das entsprechende Phosphonat überführt. Der vorhandene Überschuß an Base läßt direkt das Ylid entstehen, welches in der Zugabe von β-Ionon (**8**) mit diesem zum kettenverlängerten Nitril **41** reagiert. Dieses wird im Anschluß in gewohnter Weise mit Hilfe von DIBAH zum Aldehyd **38** reduziert.

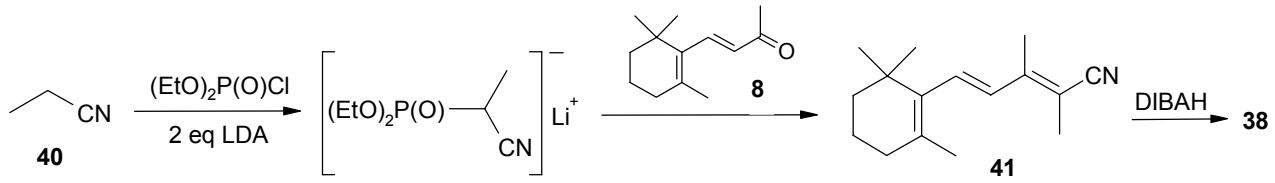



**Abb. 3-15** Darstellung der 10-Methyl-Vorstufe **38** nach *Jansen et al.*

Diese Synthese wurde sowohl von *de Lange et al.*[114] als auch von *Kochendoerfer et al.*[70] zur Synthese von 10-Me (**7**) bzw. MD (**6**) eingesetzt und soll auch für die hier vorzunehmende Darstellung der Retinalderivate verwendet werden. Die weitere notwendige Verlängerung der Polyenkette zu den entsprechenden Verbindungen kann, wie auch bei den zuvor beschriebenen Synthesen der an Position 9 modifizierten Retinalanaloga, mit Hilfe von Wittig-Horner-Reaktionen vorgenommen werden. Zur Darstellung von 10-Methyl-13-demethylretinal (**6**) muß dazu das entsprechende $C_4$-Phosphonat **12** und für 10-Methylretinal das $C_5$-Phosophonat **15** zur Reaktion gebracht werden. Zum Abschluß der Synthesen ist wiederum die Reduktion mit DIBAH vorzunehmen. In der Abb. 3-16 ist die vollständige Synthese der Verbindungen **6** und **7** nochmals zusammenfassend dargestellt.

Die Umsetzung von Propionitril (**40**) in der Einschritt-Wittig-Horner-Reaktion mit Diethylchlorphosphat und β-Ionon ließ sich mit einer Ausbeute von 78 % durchführen. Das Produkt **41** lag in einer Mischung von über 90 % all-*E*-Isomer vor. In der anschließenden Reduktion des Nitrils konnte der Aldehyd **38** in einer Ausbeute von 84 % erhalten werden. Mit der Reinigung des Rohproduktes konnten 10 % in 9*Z*- und 90 % in all-*E* Konfiguration isoliert werden. Das Massenspektrum in Verbindung mit den Kernresonanzdaten erbrachte den eindeutigen Nachweis des Aldehyds **38**. Im $^1$H-NMR-Spektrum tritt das Signal des Aldehydprotons aufgrund der benachbarten Methylgruppe (1.85 ppm) als Singulett (10.26 ppm) auf (Abb. 3-17).

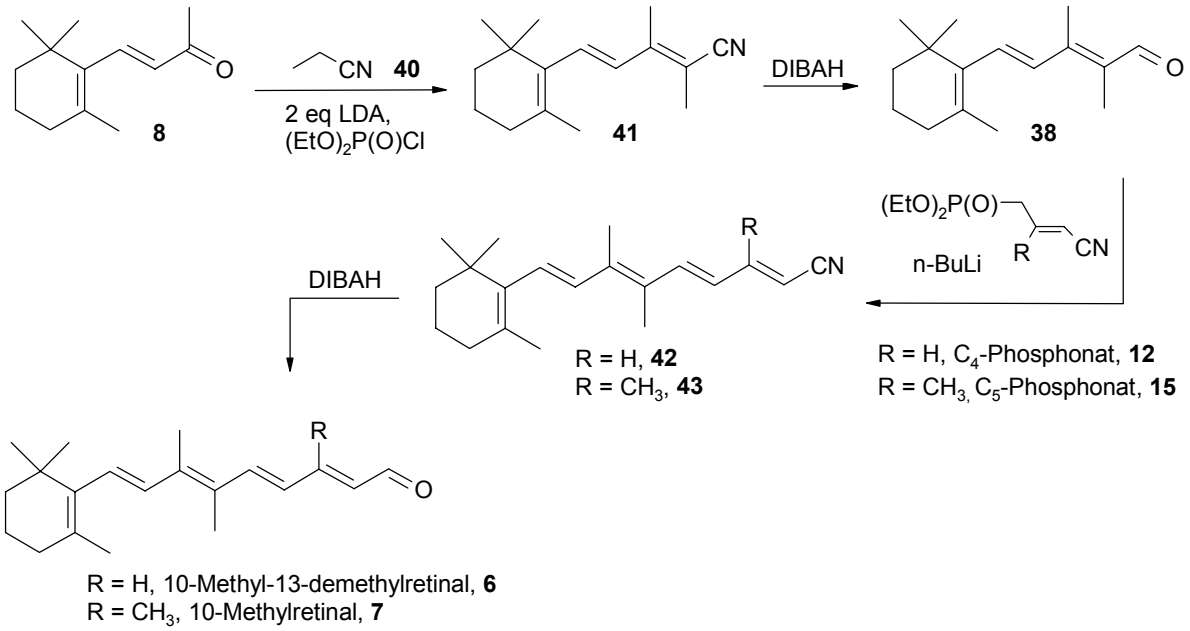



**Abb. 3-16** Gewählte Synthesewege für die Darstellung von 10-Methyl-13-demethylretinal (**6**) und 10-Methylretinal (**7**)

Bei den nachfolgenden Wittig-Horner-Reaktionen wurde im Gegensatz zu den zuvor durchgeführten Ansätzen nicht Natriumhydrid als Base eingesetzt, sondern Butyllithium. Die Ausbeuten liegen innerhalb der üblichen Schwankungsbreite für diese Reaktionen und die Isomerenverteilung in den Produkten zeigte nur eine leichte Veränderung. In der Umsetzung mit dem $C_5$-Phosphonat **15** unter Verwendung von Natriumhydrid wird das daraus folgende Nitril mit einem all-*E*-Anteil von ca. 80 % gewonnen, während bei Einsatz von n-BuLi ca. 90 % des Produkts (10-Methylretinnitril, **43**) in der all-*E*-Konfiguration vorlagen.

Die Umsetzung des Aldehyds **38** mit dem Phosphonat **15** erbrachte eine Ausbeute von 89 % an **43** und die Reduktion zur Zielverbindung 10-Me (**7**) gelang zu 72 %. Neben dem

oben bereits angeführten überwiegenden Anteil an all-*E*-Isomer konnten über die Protonenspektren der zwei aufgetrennten Fraktionen des Rohproduktes noch kleine Mengen von mindestens zwei weiteren Isomeren erkannt werden. Insgesamt wurde die Verbindung 10-Methylretinal (**7**) über vier Stufen mit einer Gesamtausbeute von 42 % erhalten.

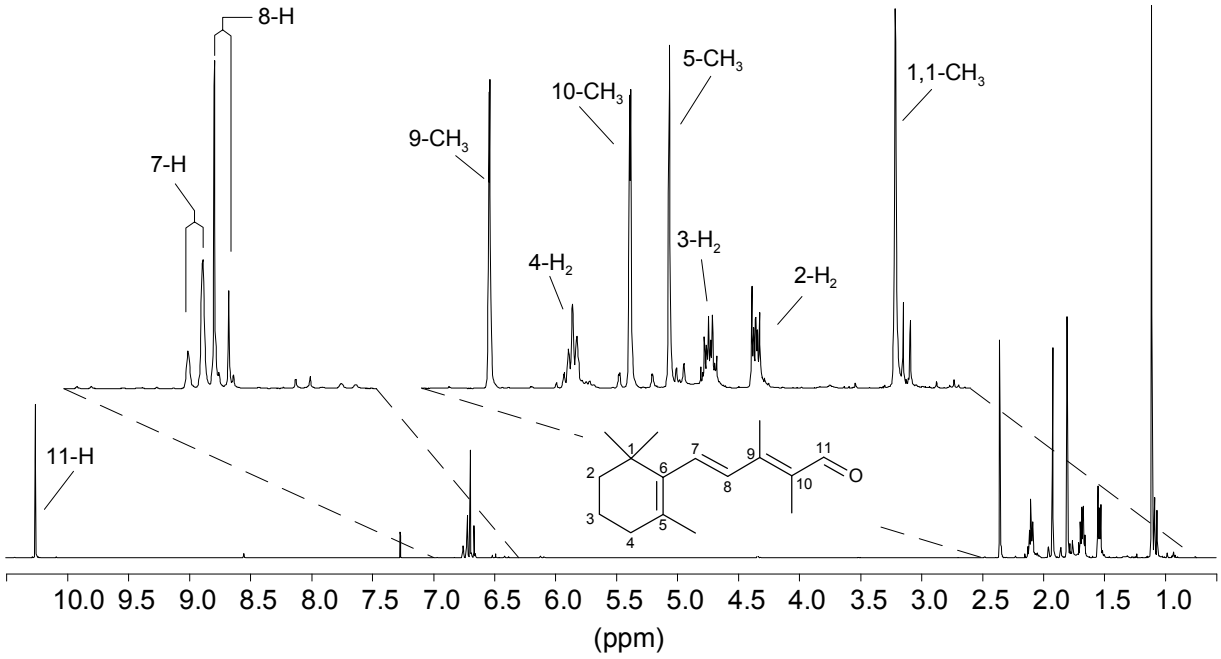



**Abb. 3-17** $^{1}$H-NMR-Spektrum der 10-Methylvorstufe **38** (500 MHz, $CDCl_3$)

Die entsprechenden Umsetzungen für die 13-nor Verbindung erbrachten das Nitril **42** mit einer Ausbeute von 49 % und die Reduktion zu MD (**6**) konnte zu 95 % durchgeführt werden. Bei dieser Substanz setzte sich das Produkt aus einer Mischung von vier Isomeren zusammen, wobei das all-*E*-Isomer den größten Anteil ausmachte (ca. 50 %). Die Gesamtausbeute für die Verbindung 10-Methyl-13-demethylretinal (**6**) über die vier Stufen betrug 30 %.

### *3.1.1.6 Darstellung von [14-$^{13}$C]- und [15-$^{13}$C]-Retinal sowie unmarkiertem Retinal*

#### *3.1.1.6.1 Synthese der Isotopomere*

Zur Darstellung von isotopenmarkierten Verbindungen wird die Wahl des Synthesewegs neben der Durchführbarkeit auch vom Preis der markierten Bausteine bestimmt. Je kleiner der Baustein, desto günstiger ist in der Regel sein Preis und je später er in die Synthese eingeführt wird, um so kleiner sind die Verluste an Isotopomeren durch Ausbeuteeinbußen bei den Vorstufen. Für die Synthese von [15-$^{13}$C]- und [14-$^{13}$C]-Retinal (**1b** bzw. **1c**) haben *Pardoen et al.*[171] beide Punkte im abgebildeten Syntheseschema berücksichtigt (Abb. 3-18). Demnach wird das Molekülgerüst über den erprobten Weg der Wittig-Horner-Reaktion und mittels einer Aldolkondensation soweit aufgebaut, daß die Isotope durch entsprechend markiertes Acetonitril für die letzte Verlängerung der Polyenkette in einer aldolartigen Reaktion eingebracht werden können. Nach zwei weiteren Schritten kann dann das konjugierte System erhalten und das Nitril in gewohnter Weise zur Zielverbindung reduziert werden. Dieser Weg wurde auch hier beschritten, wobei dessen Durchführbarkeit zuerst unter Verwendung von unmarkiertem Acetonitril überprüft wurde.

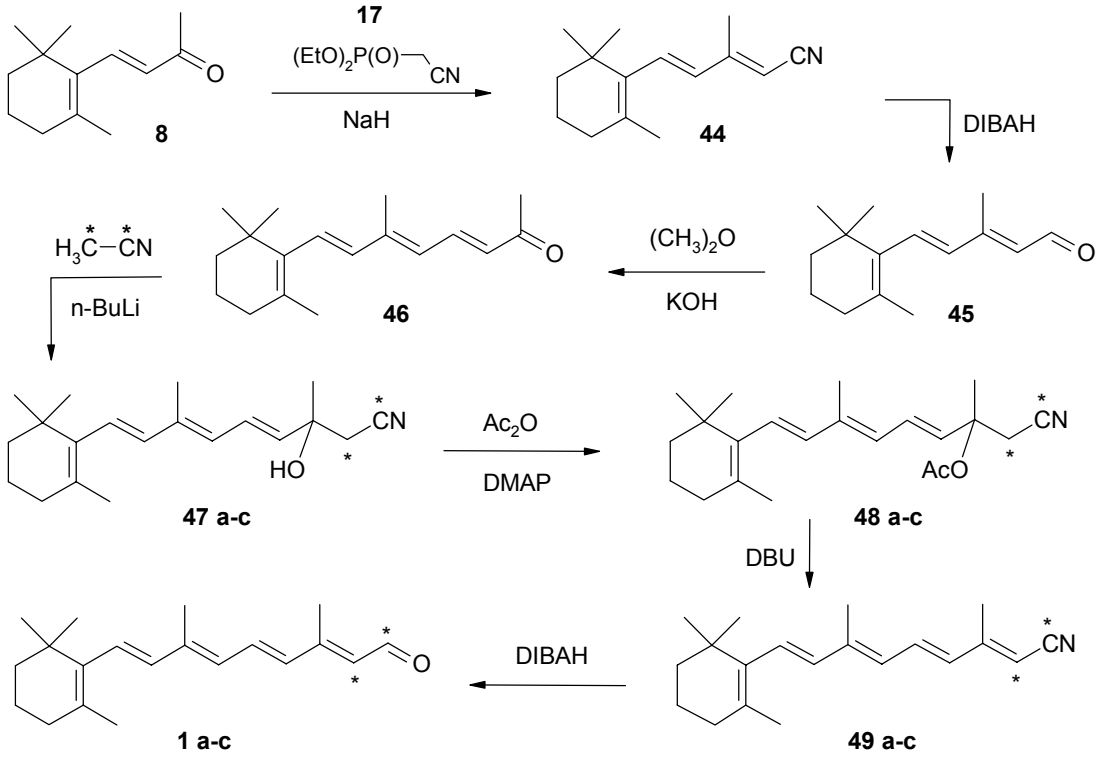



**Abb. 3-18** Darstellung von [15-$^{13}$C]- und [14-$^{13}$C]-Retinal (**1b** bzw. **1c**) nach *Pardoen et al.* Der Stern kennzeichnet die Positionen der Markierungen.

Die Wittig-Horner-Reaktion von β-Ionon (**8**) mit dem $C_2$-Phosphonat **17** verlief mit einer Ausbeute von 81 % und das Produkt **44** konnte dann mit DIBAH zu 70 % in den Aldehyd **45** überführt werden (Verhältnis 9*Z*- zu all-*E*-Isomer 1:3). Daran schloß sich die Aldolkondensation mit Aceton an, die zu 77 % das $C_{18}$-Keton **46** erbrachte. Bei der ersten Umsetzung des Ketons **46** mit unmarkiertem Acetonitril und einer äquimolaren Menge an n-Butyllithium (n-BuLi) zum Hydroxynitril **47a** wurde im Vergleich zur Vorschrift eine um ca. 20 % geringere Ausbeute erhalten. Der Literaturwert (80 %) konnte erst unter Verwendung eines 1.5fachen Überschusses an Base bei der Darstellung der Isotopomere **47b-c** erreicht werden. Dieses ist ungewöhnlich, da aufgrund der Stöchiometrie der Reaktion ein Äquivalent von n-BuLi für die vollständige Umsetzung hätte ausreichen müssen. Eine Verringerung der Menge aktiver Base durch die Anwesenheit von Wasser kann ausgeschlossen werden, da die Reaktion unter absoluten Bedingungen durchgeführt wurde.

Die erfolgreiche Einführung des [1-$^{13}$C]- und [2-$^{13}$C]-Acetonitrils zu den Isotopomeren **47b** bzw. **47c** kann mittels der auftretenden $^{13}$C-$^{1}$H-Kopplungen in den $^{1}$H-NMR-Spektren kontrolliert werden. Bei der an Position 15 markierten Verbindung **47b** ist dieses zusätzlich durch die zu kleineren Wellenzahlen verschobenen C≡N-Valenzschwingung im IR-Spektrum möglich.

Die Acylierungen der Hydroxynitrile **47a-c** verliefen quantitativ zu den Acetoxy-Verbindungen **48a-c**, die ohne weitere Reinigung eingesetzt wurden. Für die Darstellung von **48c** konnte die Reaktionszeit gegenüber der Vorschrift durch eine 25 %ige Erhöhung der Konzentration des Anhydrids und der Base 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) von 20 auf 4 h reduziert werden. Zur Abspaltung der Acetoxygruppe wurde im Gegensatz zum Syntheseweg von *Pardoen et al.* nicht DBN (1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-en), sondern das basischere DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en) verwendet. Vermutlich aus diesem Grund verlief die Umsetzung des unmarkierten Acetoxynitrils **48a** zum Nitril **49a** unter den Bedingungen der Vorschrift mit einer gegenüber der Literatur deutlich kleineren Ausbeute (44 anstelle von 93 %). Mit der Verringerung der Reaktionstemperatur konnte dann die Verbindung **49b** in 68 % und **49c** in 83 % Ausbeute gewonnen werden. Die anschließenden Reduktionen der jeweiligen Nitrile mit DIBAH ließen das unmarkierte Retinal (**1a**) zu 78 % und die Isotopomere **1b-c** mit einer Ausbeute von über 90 % entstehen.

Insgesamt konnte für den vollständigen Syntheseweg ausgehend von β-Ionon (**8**) über sieben Schritte eine maximale Ausbeute von 25 % erreicht werden. Die Isotope blieben über die vier Schritte zu mehr als 50 % erhalten.

Die Zielverbindungen wurden nicht via HPLC vollständig in die einzelnen Isomere aufgetrennt. Statt dessen wurden bei der präparativen Reinigung der Verbindungen zu unterschiedlichen Zeitpunkten Teile der eluierenden Fraktionen entnommen und getrennt untersucht. Somit konnte auch eine $^{1}$H-NMR-spektroskopische Charakterisierung der entstandenen Isomere vorgenommen werden. Zur Darstellung des $C_{18}$-Ketons **46** kam kein reines all-*E*-Isomer der Verbindung **45** zum Einsatz, sondern ein Gemisch mit einem Anteil von ca. 10 % 9*Z*-Isomer. Bei den folgenden Reaktionen konnten dann zwar die entsprechenden 9*Z* konfigurierten Zwischenstufen in den $^{1}$H-NMR-Spektren identifiziert werden, eine Signalzuordnung war aber aufgrund der geringen Konzentrationen erst durch die partielle Auftrennung der Fraktionen bei den Endprodukten möglich.

Insgesamt sind die $^{1}$H-NMR-Daten der Verbindungen **1a-c** in Übereinstimmung mit den Literaturdaten[124,172]. Die zusätzlich auftretenden $^{13}$C-$^{1}$H-Kopplungen bei den Isotopomeren entsprechen den bei *Pardoen et al.* aufgeführten Werten[171]. Der olefinische Bereich und das Signal der Aldehydfunktion aus den $^{1}$H-NMR-Spektren der all-*E* konfigurierten Verbindungen **1a-c** sind in der Abb. 3-19 dargestellt. Im Spektrum des [15-$^{13}$C]-Retinals (**1b**) zeigt sich die ausgeprägte ($^{13}$C-15,15-H)-Kopplung. Die Kopplungskonstante beträgt aufgrund der geringen Beeinflussung dieser Position des Moleküls durch die Geometrie bei den verschiedenen Konfigurationen sowohl beim 9*Z*-, 13*Z*- als auch beim all-*E*-Isomer 169.7 Hz. Darüber hinaus sind bei dieser Verbindung keine zusätzlichen Aufspaltungen durch die Anwesenheit des Isotops zu detektieren. Im Spektrum der an Position 14 markierten all-*E*-Verbindung **1c** sind neben der ($^{13}$C-14,15-H)-Kopplung von 24.51 Hz zusätzliche Aufspaltungen beim 14-H ($^{1}$J, 156.70 Hz), bei der 13-Methylgruppe ($^{3}$J, 4.07 Hz) sowie beim 12-H ($^{3}$J, 5.24 Hz) ablesbar. Die Peaks des 11-H sind im Vergleich mit den entsprechenden Signalen bei den anderen Verbindungen etwas breiter, so daß eine nicht aufgelöste $^{4}$J-Kopplung mit dem Kohlenstoffisotop vermutet werden kann. Im Gegensatz zu [15-$^{13}$C]-Retinal (**1b**) werden die $^{13}$C-$^{1}$H-Kopplungskonstanten bei [14-$^{13}$C]-Retinal (**1c**) durch die jeweilige Geometrie bei den verschiedenen Konfigurationsisomeren geringfügig beeinflußt (s. Punkt 4.1.8.1).

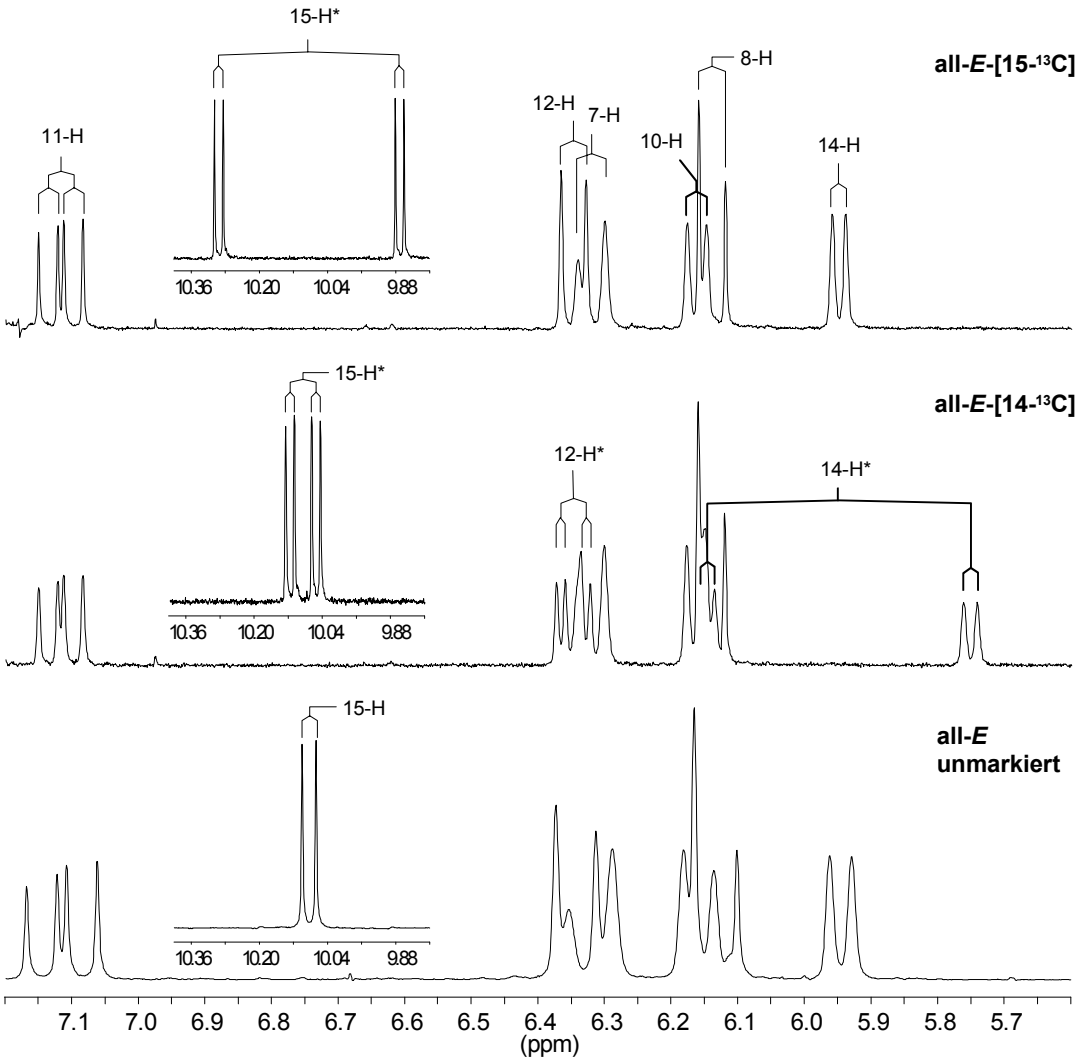



**Abb. 3-19** Der olefinische Bereich und das Signal des Aldehydprotons aus den $^{1}$H-NMR-Spektren von unmarkiertem all-*E*-Retinal (500 MHz, $CDl_3$) und der all-*E* konfigurierten Isotopomere [15-$^{13}$C]- bzw. [14-$^{13}$C]-Retinal (jeweils 400 MHz, $CDCl_3$). Die durch die Anwesenheit des $^{13}$C zusätzlich aufgespaltenen Signale sind durch einen Stern gekennzeichnet. Der olefinische Bereich des unmarkierten Retinals ist gegenüber den markierten Verbindungen aufgrund einer höheren Probenkonzentration geringer aufgelöst.

*3.1.1.6.2 Synthese von Retinal aus Retinol*

Für die vorzunehmenden Charakterisierungen der Retinalderivate hinsichtlich ihrer Eigenschaften in Lösung und als Chromophore in den Proteinen wurde Retinal (**1**) bzw. die entsprechenden Chromoproteine immer als Referenz mit untersucht. Zu diesem Zweck mußte eine präparative Menge der Verbindung synthetisiert werden.

In der Arbeitsgruppe lag eine ausreichende Menge an Vitamin-A (**50**) vor, so daß zur Darstellung von Retinal nur die Oxidation des Alkohols mit Mangandioxid vorgenommen werden mußte (Abb. 3-20).

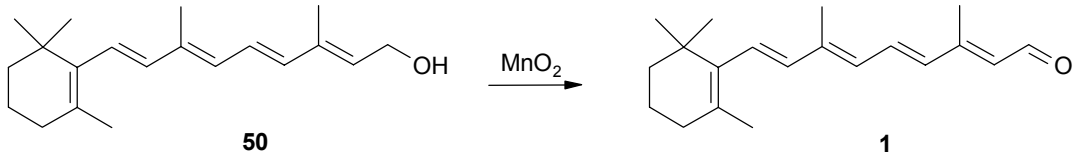



**Abb. 3-20** Synthese von Retinal (**1**) aus Vitamin A (**50**)

Die Umsetzung gelang mit einer Ausbeute von 55 %, wobei aus der Reinigung des Rohproduktes zum überwiegenden Teil reiner all-*E* konfigurierter Aldehyd **1** erhalten werden konnte.

### 3.1.2 Photochemische und spektroskopische Charakterisierung

#### *3.1.2.1 Photoisomerisierung*

Die Photoisomerisierung von Retinal und den analogen Verbindungen wurde einerseits zur Darstellung von Isomeren durchgeführt, die über den Weg der Synthese nicht zugänglich waren. Andererseits wird über die Verfolgung der Isomerisierungsreaktion und anhand der Zusammensetzung der Isomerenmischung im photostationären Gleichgewicht ein Hinweis auf die Auswirkungen der bei den Derivaten im Vergleich zu Retinal eingeführten Modifikationen möglich. Dabei üben insbesondere die sterischen Gegebenheiten bei den Verbindungen einen großen Einfluß auf die Form und Anzahl der entstehenden Isomere aus[124]. Allgemein wird der Verlauf der Isomerisierung vom Absorptionsverhalten und den Extinktionskoeffizienten der Isomere bestimmt. Darüber hinaus ist die Gegenwart von Sauerstoff ("quenchen" von Triplett-Zuständen) und vor allem die Art des Lösungsmittels von Bedeutung.[124,173,174]

Neben den synthetisierten Substanzen (**1**-**4**, **6** und **7**) wurde ebenfalls die Verbindung 13-Demethylretinal (13-dm, **5**) in die Untersuchungen miteinbezogen, wobei der Verlauf der Photoisomerisierung dieser Substanz nicht analysiert wurde. Zur Verfolgung der Isomerisierung wurde eine ethanolische Lösung des jeweiligen all-*E*-Isomers mit einer Konzentration von ca. 1 mg Substanz pro ml Lösungsmittel belichtet. Der Verlauf der Reaktion wurde dabei mit Hilfe der analytischen HPLC beobachtet. Bei Lösungen der Verbindungen in Acetonitril wurde nur der photostationäre Zustand detektiert. Die Belichtung wurde in Küvetten aus optischem Glas mit Weißlicht vorgenommen. Zur Vermeidung eines Anregungsgradienten wurden die Lösungen während der Belichtung gerührt. Eine Entgasung der Lösungsmittel wurde nicht vorgenommen. Die Photoisomerisierung im präparativen Maßstab erfolgte unter den vergleichbaren Bedingungen, wobei die Isomerenverteilung während der Belichtung in größeren Zeitabständen (ca. 15 Min) mit der HPLC überprüft wurde (s. Punkt 4.1.9).

Aufgrund der Vielzahl der entstehenden Isomere und des begrenzten Trennvermögens der analytischen HPLC trat in den Chromatogrammen der Verbindungen teilweise eine Überlagerung von Peaks verschiedener Isomere auf. Vor allem die zu einem späteren Zeitpunkt der Isomerisierung auftretenden kleinen Signale der di-*cis*-Isomere wurden häufig von den Peaks der mono-*cis* konfigurierten Verbindungen überdeckt. Bei der

präparativen Trennung konnten die mono-*cis*-Hauptisomere über eine entsprechende Fraktionierung von den di-*cis*-Isomeren getrennt werden. In der Darstellung der Konzentrationsverläufe während der Photoisomerisierung sind allerdings die Anteile der di-*cis*- und mono-*cis*-Isomere zusammengefaßt (Abb. 3-21).

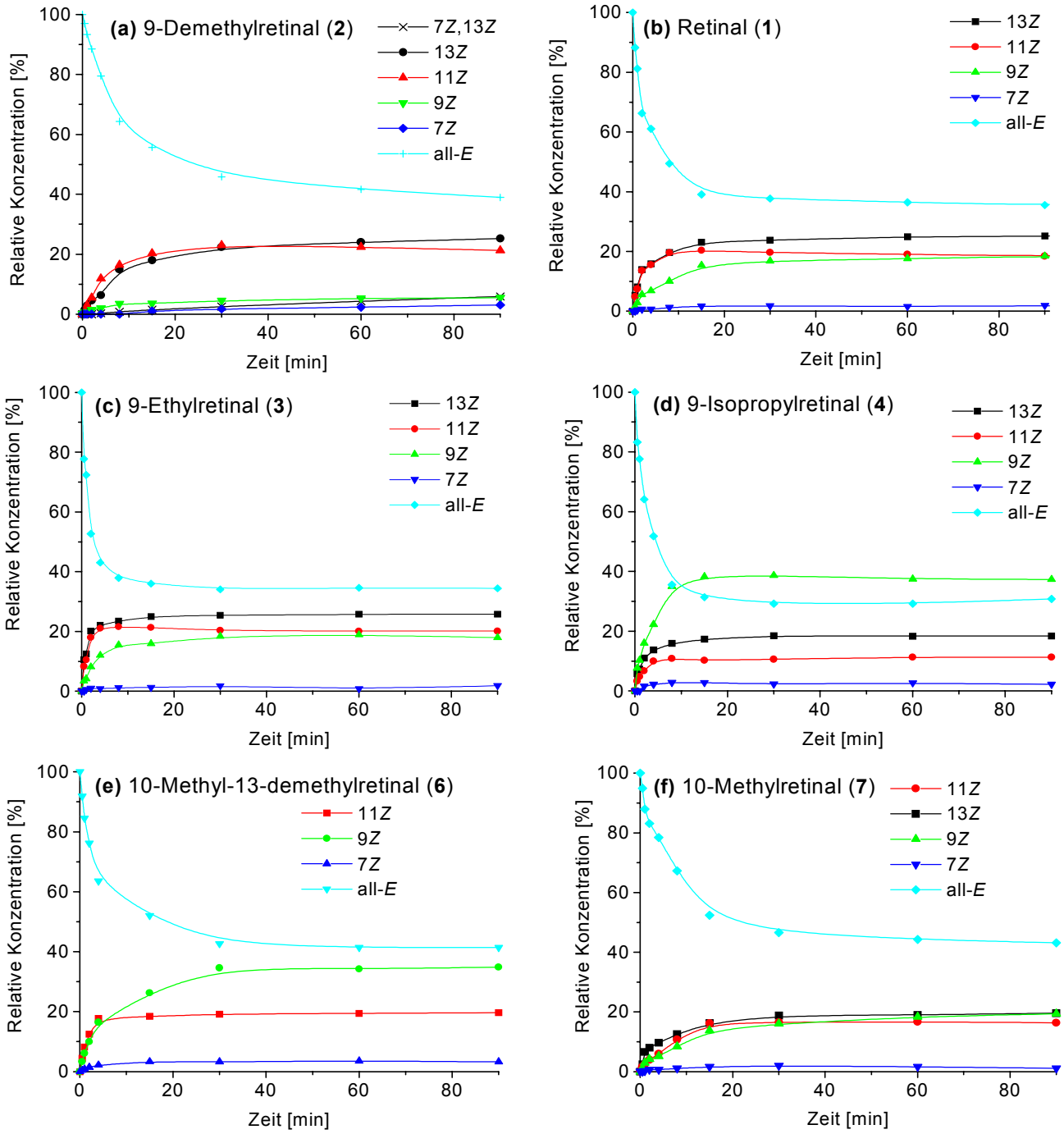



**Abb. 3-21** Zeitlicher Verlauf der relativen Isomeren-Konzentrationen der Verbindungen **1**-**4**, **6** und **7** infolge der Belichtung von ethanolischen Lösungen des jeweiligen all-*E*-Isomers mit Weißlicht. Die Reihenfolge der Isomerenbezeichnungen in den Legenden geben die Elutionsreihenfolge der Isomere unter den verwendeten Bedingungen wieder, wobei nur die Hauptisomere angegeben sind. Die relativen Konzentrationen beruhen auf den Flächen der einzelnen Isomeren-Peaks in den analytischen Chromatogrammen bei einer Detektionswellenlänge von 370 nm. Es wurde keine Korrektur bezüglich der unterschiedlichen Extinktionskoeffizienten vorgenommen.

Von der Überlagerung betroffen sind bei 9-Ethyl- (**3**), 9-Isopropyl- (**4**) und 10-Methylretinal (**7**) sowie Retinal (**1**) das 9*Z*,13*Z*- und 13*Z*-Isomer (Abb. 3-21b-d und f). Im Fall von 9-Is (**4**) gelang die Auftrennung der beiden Isomere, allerdings erst bei einem vergleichbaren Anteil zum Ende der Belichtung (Abb. 3-23d). Die Konzentration des 9*Z*,13*Z*- und 13*Z*-Isomers in den photostationären Mischungen der verschiedenen Verbindungen konnte jeweils aus den $^{1}$H-NMR-Daten der gemeinsamen Fraktion ermittelt werden (s. Tab. 3-1). Bei 9-Et (**3**) enthält die Fraktion des 13*Z*-Isomers zusätzlich die 11*Z*,13*Z*-konfigurierte Substanz. Darüber hinaus konnte bei der 9-Ethylverbindung **3** keine Unterscheidung zwischen dem 11*Z*- und 9*Z*,11*Z*-Isomer vorgenommen werden. Mit der präparativen HPLC gelang es jedoch, die Isomere mit einer 11*Z*-Anordnung aufzutrennen und via $^{1}$H-NMR-Spektroskopie zu charakterisieren.

Bei 9-Isopropylretinal (**4**) trat ebenfalls ein Isomer auf, dessen Retentionszeit mit der des 11*Z*-Isomers identisch war, dessen Konfiguration sich aber aus dem $^{1}$H-NMR-Spektrum der Mischung nicht bestimmen ließ. Die deutlich hypsochromen Lage des Absorptionsmaximums könnte von einer stark verdrillten Geometrie eines di-*cis*-Isomers verursacht werden, das im Verlauf der Belichtung aus einem mono-*cis*-Isomer entsteht (Abb. 3-22b). Die geringe Absorption des Isomers oberhalb von 350 nm führt allerdings durch die Aufzeichnung bei 370 nm nur zu einer geringfügigen Beeinflussung des in Abb. 3-21d dargestellten Konzentrationsverlaufs der 11*Z*-Konfiguration.

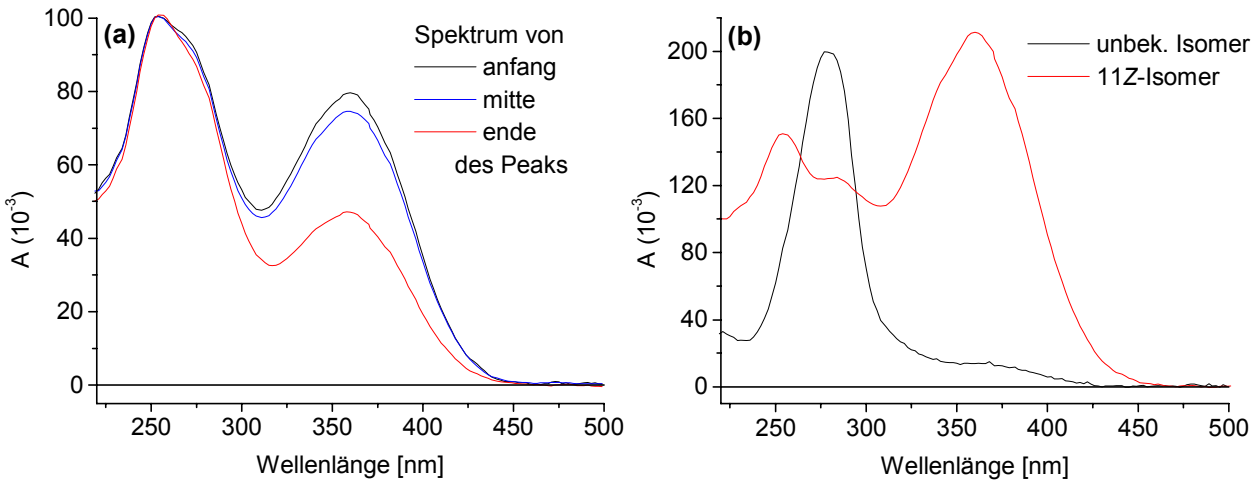



**Abb. 3-22** Absorptionsspektren des Peaks von a) 11*Z*-10-Methyl-13-demethylretinal (**6**) und b) 11*Z*-9-Isopropylretinal (**4**) in der jeweiligen photostationären Mischung in Ethanol (nach 90 min).

Da bei der Synthese nur eine relativ geringe Menge an all-*E*-9-Isopropylretinal (**4**) erhalten wurde, mußte zur präparativen Isolierung des 11*Z*-Isomers eine Mischung aus

dem all-*E*- und 9*Z*-Isomer belichtet werden. Aufgrund der ohnehin geringen Konzentration des 11*Z*-Isomers in der photostationären Mischung wurde zur Darstellung einer isolierbaren Menge eine relativ lange Belichtung notwendig, die somit auch zu einem deutlichen Anteil des unbekannten Isomers führte. Somit konnte trotz einer mehrfachen chromatographischen Trennung nur eine maximale Reinheit des 11*Z*-Isomers von ca. 80 % erreicht werden.

Eine größere Beeinflussung des Konzentrationsverlaufs ist bei 10-Methyl-13-demethylretinal (**6**) durch das 9*Z*,11*Z*-Isomer vorhanden (Abb. 3-21e), das im Verlauf der Belichtung nahezu die gleiche Konzentration wie das 11*Z*-Isomer erreicht. Beide Isomere besitzen eine identische Retentionszeit und darüber hinaus sind deren Absorptionsspektren nur geringfügig verschieden (s. Abb. 3-22a). Die Isolierung von reinem 11*Z*-MD (**6**) konnte durch eine sukzessive Belichtung der all-*E*-Isomeren-Lösung bis zu einem Zeitpunkt erreicht werden, an dem noch keine Absorption des di-*cis*-Isomers festzustellen war.

Allgemein ist bei den in Abb. 3-21 dargestellten relativen Konzentrationsverläufen der Photoisomerisierungen mit Ausnahme von 9-Demethyl- (**2**) und 10-Methylretinal (**7**) bei allen Verbindungen nach ungefähr einer Stunde eine nahezu konstante Zusammensetzung zu beobachten. Betrachtet man die Konzentrationsverläufe der all-*E*-Isomere der Derivate im Vergleich zu Retinal (**1**), so erreichen 9-Ethyl- (**3**) und 9-Isopropylretinal (**4**) das dynamische Gleichgewicht etwas schneller, während die Reaktion bei 9-Demethyl- (**2**), 10-Methyl-13-demethyl- (**6**) und 10-Methylretinal (**7**) geringfügig langsamer verläuft.

Die Auswirkungen der bei den analogen Verbindungen gegenüber Retinal vorgenommenen Modifikationen zeigen sich dabei deutlich an den Chromatogrammen der demethylierten Verbindungen im photostationären Gleichgewicht (Abb. 3-23 und Abb. 3-24). Eine Verringerung des sterischen Anspruchs an der Position 9 der Polyenkette führt bei 9-dm (**2**) nur zu einer kleinen Konzentration des 9*Z*-Isomers. Aus dem gleichen Grund läßt die Substitution der 13-Methylgruppe durch ein Wasserstoffatom bei 13-dm (**5**) und MD (**6**) kein 13*Z*-Isomer entstehen. Dieses Isomer kann z. B. bei 13-dm (**5**) durch die Verwendung von n-Hexan als Lösungsmittel für die Photoisomerisierung erzeugt werden, wobei der Anteil des 13*Z*-Isomers zusammen mit den anderen Isomeren im Vergleich zur Konzentration des all-*E*-Isomers insgesamt sehr niedrig bleibt (Abb. 3-24).

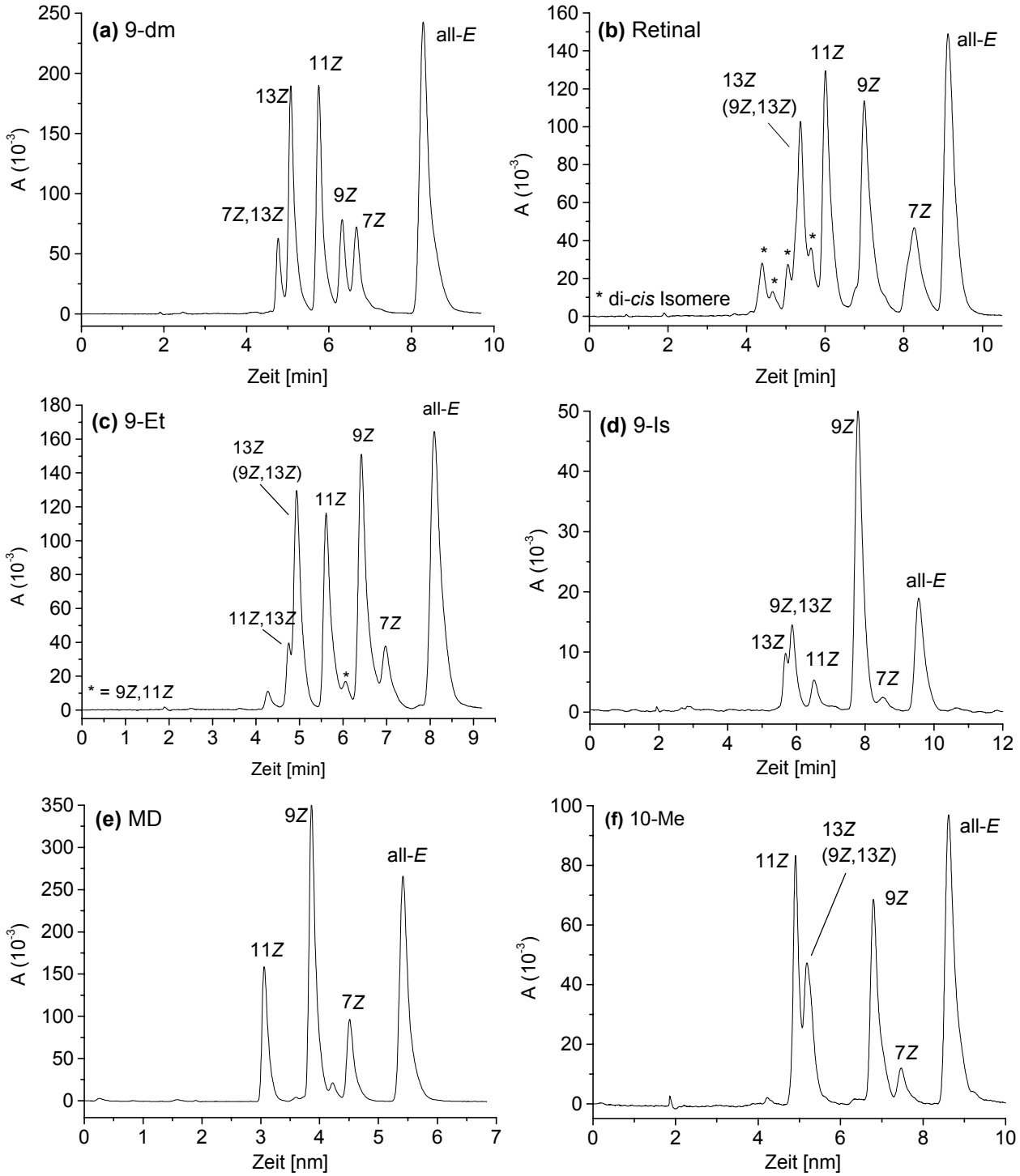



**Abb. 3-23** Analytische Chromatogramme der photostationären Isomerengemische aus der Belichtung von Lösungen des jeweiligen all-*E*-Isomers in Acetonitril: a) 9-Demethylretinal (**2**), b) Retinal (**1**), c) 9-Ethylretinal (**3**), e) 10-Methyl-13-demethylretinal (**6**) und f) 10-Methylretinal (**7**) sowie einer Lösung von all-*E*-9-Isopropylretinal (**4**) in Ethanol d) (Detektionswellenlänge 370 nm).
Die in Klammern stehende Isomerenbezeichnung weist auf einen geringen Anteils des Isomers innerhalb des nicht auftrennbaren Peaks zweier Isomere.

Während der gegenüber Retinal größere Substituent bei 9-Et (**3**) nur zu einer geringen Veränderung der Isomerenverteilung führt, bewirkt dieser bei 9-Is (**4**) einen deutlich

höheren Anteil des 9*Z*-Isomers. Dieses zeigt, daß die Ethylgruppe bei 9-Et (**3**) durch eine Drehung den sterischen Druck auf die Polyenkette verringern kann, während dieses durch die Isopropylgruppe bei 9-Is (**4**) nicht mehr gelingt. Interessant ist darüber hinaus die relative hohe Konzentration des 9*Z*,13*Z*-Isomers bei 9-Is (**4**), die nicht auf die Belichtung in Ethanol zurückzuführen ist. Eine Isomerisierung der Verbindung **4** in Acetonitril wurde ebenfalls versucht, allerdings nahm die Gesamtkonzentration an Aldehyd sehr schnell ab, was auf einen großen Anteil photochemischer "Nebenreaktionen" hindeutet. Möglicherweise stellt eben das mit hohem Anteil vorhandenen 9*Z*-Isomer eine dafür günstige Geometrie dar.

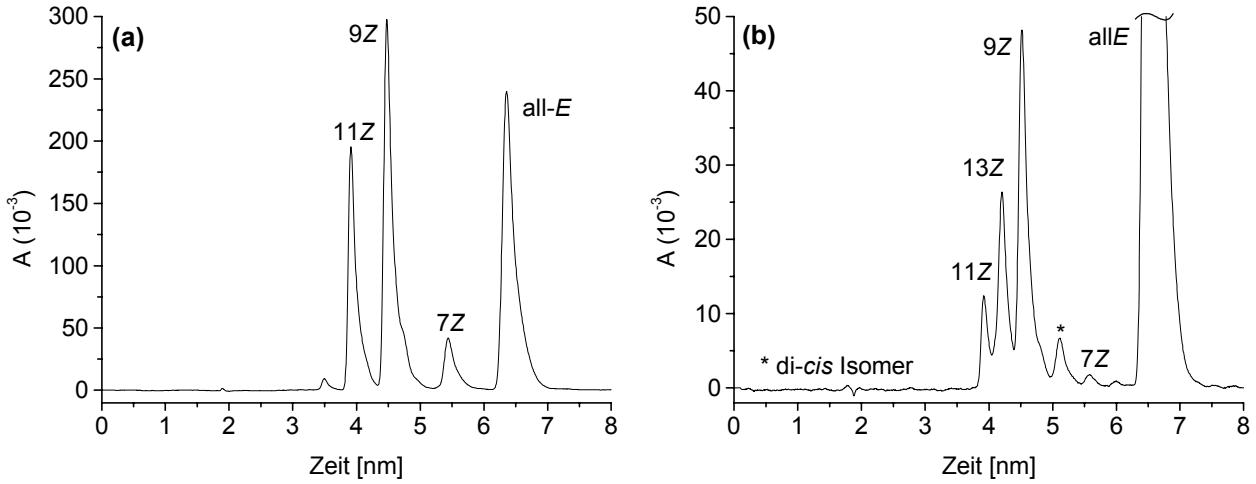



**Abb. 3-24** Analytische Chromatogramme der photostationären Mischung von 13-Demethylretinal (**5**) in a) Ethanol und b) n-Hexan (Detektionswellenlänge 370 nm, Belichtungszeit 2 h)

Die gegenüber Retinal identische Elutionsreihenfolge der Isomere von 9-dm (**2**), 9-Et (**3**) und 9-Is (**4**) zeigt eine vergleichbare Polarität der Verbindungen in den jeweiligen Geometrien. Das gleiche Verhalten zeigt sich auch bei den Isomeren von 10-Me (**7**) und 13-dm (**5**), wobei allerdings das entsprechende 11*Z*-Isomer dieser Derivate die geringste Polarität unter den verschiedenen Isomeren aufweist und vor dem 13*Z*-Isomer eluiert.

Im Fall von 10-Me (**7**) und trotz der Überlagerung mit dem 9*Z*,11*Z*-Isomer auch bei MD (**6**) ist die Konzentration des 11*Z*-Isomers deutlich größer als es die bei 370 nm aufgezeichneten Chromatogramme erscheinen lassen. Die Ursache liegt in der deutlich kurzwelligen Absorption des jeweiligen 11*Z*-Isomers und dem somit wesentlich geringeren Extinktionskoeffizienten bei der Detektionswellenlänge (s. Punkt 3.1.2.3). Der große Anteil des 11*Z*-Isomers in der Isomerenmischung deutet darauf hin, daß die gegenüber Retinal

(**1**) an Position 10 eingeführten Methylgruppe eine sterische Hinderung bei den Verbindungen verursacht.

**Tab. 3-1** Konzentrationen der Isomere in den photostationären Mischungen aus der Belichtung in verschiedenen Lösungsmitteln [%]. Detektionswellenlänge 370 nm. Keine Korrektur der Konzentrationen hinsichtlich der unterschiedlichen Extinktionskoeffizienten der jeweiligen Isomere.

| | 9-dm | | Retinal | | 9-Et | | 9-Is | 10-Me | | MD | | 13-dm | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | EtOH | $CH_3CN$ | EtOH | $CH_3CN$ | EtOH | $CH_3CN$ | EtOH | EtOH | $CH_3CN$ | EtOH | $CH_3CN$ | EtOH | n-Hex. |
| 13*Z* | 24.1 | 18.6 | 25.1* | 13.4* | 25.7[#] | 20.8[#] | 18.4[¶] | 19.6[$] | 17.5[$] | | | | 5.8 |
| 11*Z*,13*Z* | | | | | [†] | 1.4 | | | | | | | |
| 7*Z*,13*Z* | 8.5 | 5.0 | | | | | | | | | | | |
| 11*Z* | 20.0 | 19.0 | 18.8 | 18.1 | 20.1[§] | 16.21 | 11.3 | 16.4 | 18.2 | 19.7[‡] | 14.6[‡] | 20.4 | 2.2 |
| 9*Z*,11*Z* | | | | | [§] | 2.02 | | | | | | | |
| 9*Z* | 5.3 | 7.8 | 17.8 | 20.6 | 17.9 | 24.0 | 37.3 | 19.4 | 22.1 | 34.8 | 36.6 | 36.0 | 11.6 |
| 7*Z* | 3.6 | 9.4 | 1.6 | 10.7 | 1.8 | 6.3 | 2.2 | 1.1 | 4.6 | 3.3 | 11.0 | 5.8 | 0.2 |
| all-*E* | 38.5 | 39.3 | 36.2 | 25.8 | 34.4 | 32.7 | 30.8 | 43.1 | 37.7 | 41.4 | 35.7 | 37.8 | 80.2 |

* Keine Auftrennung von 9*Z*,13*Z*- und 13*Z*-Isomer, Anteil von di-*cis*-Isomer ca. 10 %, [#] Keine Auftrennung von 9*Z*,13*Z*- und 13*Z*-Isomer, Anteil von dicis-Isomer ca. 20 %, [†] Keine Auftrennung von 13*Z*-/9*Z*,13*Z*- und 11*Z*,13*Z*, [§] Keine Auftrennung des 11*Z*,13*Z*-Isomers vom 11*Z*-Isomer möglich, [¶] Keine Auftrennung von 9*Z*,13*Z*- und 13*Z*-Isomer, Anteil von dicis-Isomer ca. 50 %, [$] Keine Auftrennung von 9*Z*,13*Z*- und 13*Z*-Isomer, Anteil von dicis-Isomer ca. 40 %, [‡] Enthält bis zu 50 % das 9*Z*,11*Z*-Isomer

Aufgrund der vielen Faktoren, die die Isomerenverteilung bei der Belichtung beeinflussen, ist es nicht verwunderlich, daß die in verschiedenen Arbeitsgruppen erhaltenen Ergebnisse variieren. Eine gute Übersicht über die Resultate von Retinal und einigen Retinalderivaten unter Verwendung verschiedener Lösungsmittel wird in einem Übersichtsartikel von *Liu* und *Asato* gegeben[124]. Darin aufgeführt ist auch die Photoisomerisierung von 9-Demethylretinal (**2**) in n-Hexan und Acetonitril, die von *Broek et al.*[154] ausführlich beschrieben wurde. Die dort erhaltenen Ergebnisse in Acetonitril stimmen mit den hier gewonnen Daten in einer Abweichung von nur ca. 2 % überein, wenn der Anteil des hier zusätzlich gefundenen 7*Z*,13*Z*-Isomers unberücksichtigt bleibt. Die Photoisomerisierung von 13-Demethylretinal (**5**) ist in der Literatur ausführlicher unter Verwendung verschiedener Lösungsmittel untersucht worden[154,168,175-177]. Die publizierten Ergebnisse variieren innerhalb einer größeren Bandbreite, wobei in der Tendenz eine gute Übereinstimmung mit der hier weniger intensiv durchgeführten Isomerisierung der 13-demethyl-Verbindung **5** besteht.

Von den anderen Retinalderivaten sind keine Daten der Photoisomerisierung bekannt. Bei der Verbindung 10-Methylretinal (**7**) wurden die über die jeweilige Synthese nicht

zugänglichen Isomere zwar über Belichtung dargestellt, ein Verhältnis der erhaltenen Isomere wird allerdings nicht angegeben[115].

### *3.1.2.2 UV/Vis-Spektren*

Bei den Retinalderivaten ergeben sich im Vergleich zu Retinal einerseits signifikante Übereinstimmungen in den Absorptionsspektren der entsprechenden Isomere und andererseits, bei einem starken Einfluß der eingeführten sterischen Modifikation, definierte Unterschiede. Deutlich wird dieses anhand der Absorptionsspektren der 11*Z*-Isomere der synthetisierten Retinalderivate (Abb. 3-25).

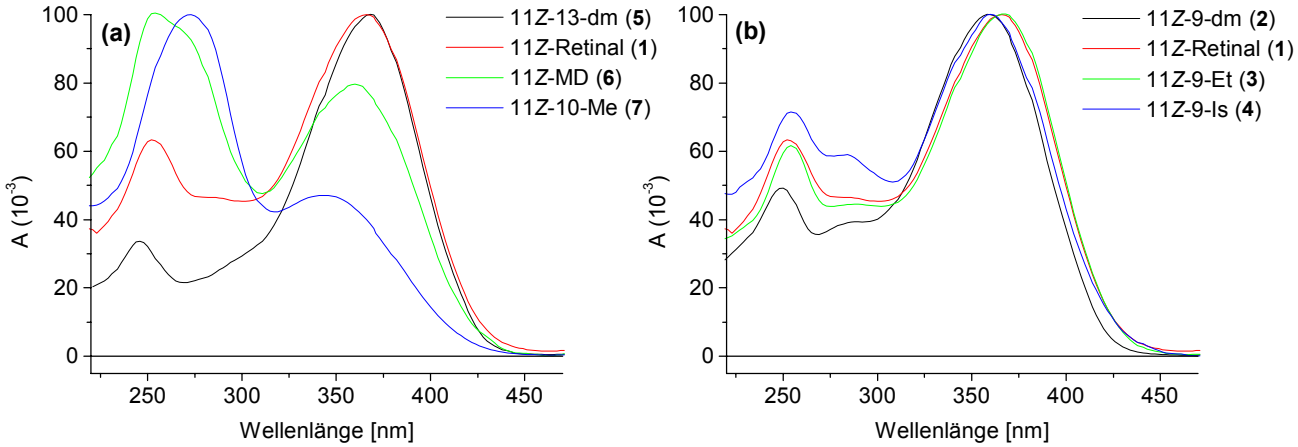



**Abb. 3-25** Absorptionsspektren der 11*Z*-Isomere der synthetisierten Retinalderivate a) mit Modifikationen an den Positionen 10 und/oder 13 (**5**-**7**) und b) mit Modifikationen an der Position 9 (**2**-**4**), jeweils im Vergleich zum 11*Z*-Retinal (**1**) (n-Hexan, 10 % Diethylether); Absorptionsspektren am jeweiligen Maximum normiert.

Wie in Abb. 3-26 dargestellt, besteht in der 11*Z*,12-*s*-*trans*-Konfiguration des Retinals (**1**) eine sterische Wechselwirkung zwischen dem Wasserstoffatom an Position 10 und der Methylgruppe an Position 13, während in der 11*Z*,12-s-*cis*-Anordnung zwei Wasserstoffatome zueinander liegen (10-H und 14-H). Da die *trans*-Geometrie energetisch nur geringfügig stabiler ist als die *cis*-Form (ca. 1 kcal/mol[178]), existiert in Lösung ein Gleichgewicht zwischen den beiden Konformationen. Die Anwesenheit der 12-s-*cis*-Geometrie wird dabei für das Auftreten des Nebenmaximums im Absorptionsspektrum bei ca. 250 nm verantwortlich gemacht (Abb. 3-25).[173,178,179]

Im Falle von 11*Z*-13-Demethylretinal (**5**) stehen sowohl in der 12-s-*cis* als auch 12-*s*-*trans*-Konformation zwei Protonen zueinander, wobei der Abstand zwischen den jeweiligen Wasserstoffatomen in der 12-s-*trans*-Anordnung größer ist (Abb. 3-26). Aus

diesem Grund tritt im Absorptionsspektrum dieses Derivats im Vergleich zum Spektrum von 11*Z*-Retinal (**1**) nur ein verhältnismäßig kleiner *cis*-Peak auf (Abb. 3-25a).

In der 12-s-*trans*-Konformation von 11*Z*-10-Methyl-13-demethylretinal (**6**) existieren durch die Interaktion der 10-Methylgruppe und dem 13-H zu Retinal (**1**) vergleichbare sterische Verhältnisse (Abb. 3-26). In der 12-s-*cis*-Anordnung besteht im Falle des Derivats aber weiterhin eine Wechselwirkung zwischen der 10-Methylgruppe und einem Wasserstoffatom. In erster Näherung sollte somit anzunehmen sein, daß 11*Z*-MD (**6**) bevorzugt die *trans*-Konformation einnimmt. Allerdings liegt das Absorptionsmaximum der Verbindung deutlich hypsochrom verschoben an der Stelle des *cis*-Peaks von Retinal. Dabei besitzt die Absorptionsbande eine unsymmetrische Form und scheint aus zwei überlagerten Banden zu bestehen (Abb. 3-25a). Damit zeigt sich, daß die bei MD (**6**) vorgenommenen Modifikationen nicht nur einer gegenüber Retinal einfachen Verschiebung des sterischen Anspruchs von Position 13 nach 10 entspricht, sondern daß die 10-Methylgruppe zu einer deutlichen Störung der geometrischen Verhältnisse innerhalb des Moleküls führt. Das Absorptionsspektrum von 11*Z*-MD (**6**) deutet dabei auf eine starke Verdrillung der Polyenkette. Möglicherweise wird durch die Methylgruppe eine weitere Drehung um eine Einfachbindung, wie z. B. der 10-s-Bindung verursacht, die für das Auftreten der zweiten Bande verantwortlich sein könnte.

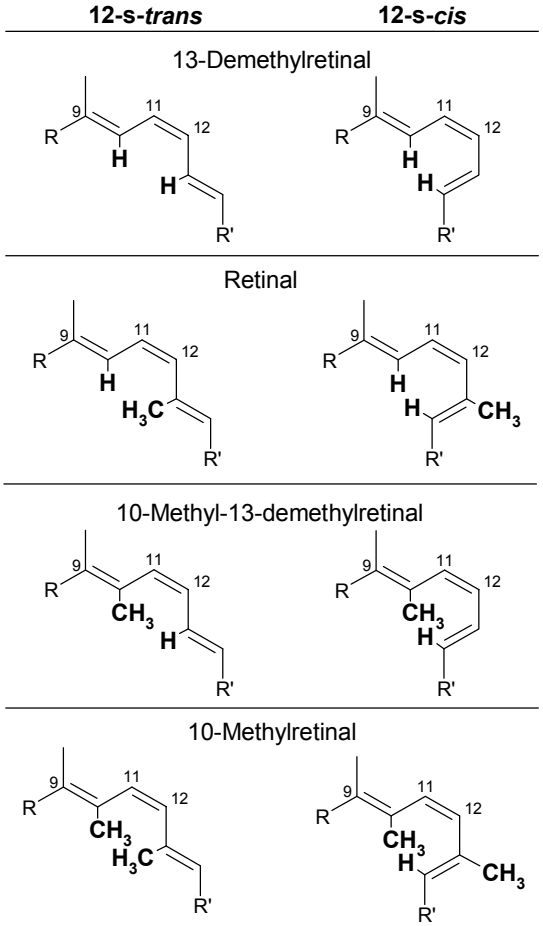



**Abb. 3-26**

Schematische Darstellung der intramolekularen Wechselwirkung in der 11*Z*-Konfiguration mit 12-s-*cis* und 12-*s*-*trans*-Geometrie bei den Verbindungen 13-Demethylretinal (**5**), Retinal (**1**), 10-Methyl-13-demethylretinal (**6**) und 10-Methylretinal (**7**). Die Bindungslängen zu den Substituenten an Position 10, 13 und 14 sind reduziert. R symbolisiert den ringenthaltenden Molekülrest und R' den Rest zur Aldehydgruppe.

In der 11*Z*-Konfiguration von 10-Methylretinal (**7**) liegen in der 12-s-*trans*-Anordnung die 10- und die 13-Methylgruppe zueinander, während in der 12-s-*cis*-Geometrie die 10-Methylgruppe

in Wechselwirkung mit dem 14-H steht. In beiden Konformationen liegt eine starke Wechselwirkungen vor, so daß auch bei dieser Verbindung wie zuvor bei MD (**6**) eine starke Verdrillung der Polyenkette anzunehmen ist. Dementsprechend ist das Erscheinungsbild des Absorptionsspektrums von 11*Z*-10-Me (**7**): Vergleichbar mit MD (**6**) liegt das Absorptionsmaximum unterhalb von 300 nm, während bei 344 nm ein Nebenmaximum zu detektieren ist (Abb. 3-25a). Im Gegensatz zu der an Position 13 demethylierten Verbindung **6** erscheint der *cis*-Peak aber symmetrisch und der Unterschied der Extinktionskoeffizienten der beiden Maxima ist ausgeprägter als im Falle von MD (**6**).

Interessant ist ein Vergleich der unsymmetrischen Bande des MD (**6**) mit dem *cis*-Peak von Retinal und der intensivsten Bande von 10-Me (**7**) (Abb. 3-25a). Das Absorptionsmaximum von MD (**6**) ist nahezu identisch mit der Lage des *cis*-Peaks von Retinal (**1**). Das an gleicher Stelle auftretende Nebenmaximum hingegen ist in Übereinstimmung mit der Absorption, die auch das Spektrum von 10-Me (**7**) dominiert.

Im Gegensatz dazu unterscheiden sich die Absorptionsspektren der an Position 9 modifizierten Retinalderivate (**2**-**4**) in der 11*Z*-Konfiguration wesentlich geringer (Abb. 3-25b): Das Absorptionsmaximum findet sich bei allen Derivaten vergleichbar zu Retinal (**1**) bei ca. 360 nm und zusätzlich erscheint ein Nebenmaximum bei ca. 250 nm. Die Größe des Nebenmaximums kann in der homologen Reihe mit dem Anwachsen des Substituenten an Position 9 korreliert werden: Bei 9-dm (**2**) ist das Nebenmaximum am geringsten ausgeprägt. Im Falle von Retinal (**1**) und 9-Et (**3**) ist das Verhältnis der Haupt- und Nebenbande sehr vergleichbar, während unter diesen Retinalderivaten das Nebenmaximum bei 9-Is (**4**) den größten Extinktionskoeffizienten im Verhältnis zum entsprechenden Wert am Absorptionsmaximum besitzt. Es kann vermutet werden, daß mit Zunahme des sterischen Anspruchs an Position 9 eine stärkere Wechselwirkung mit der Molekülumgebung und damit eine zunehmende Veränderung der Geometrie der Polyenkette entsteht. Dabei sollten vor allem die Konformation der 8-s- und 10-s-Einfachbindung betroffen sein, womit eine Veränderung des Nebenmaximums im Absorptionsspektrum erklärbar wäre.

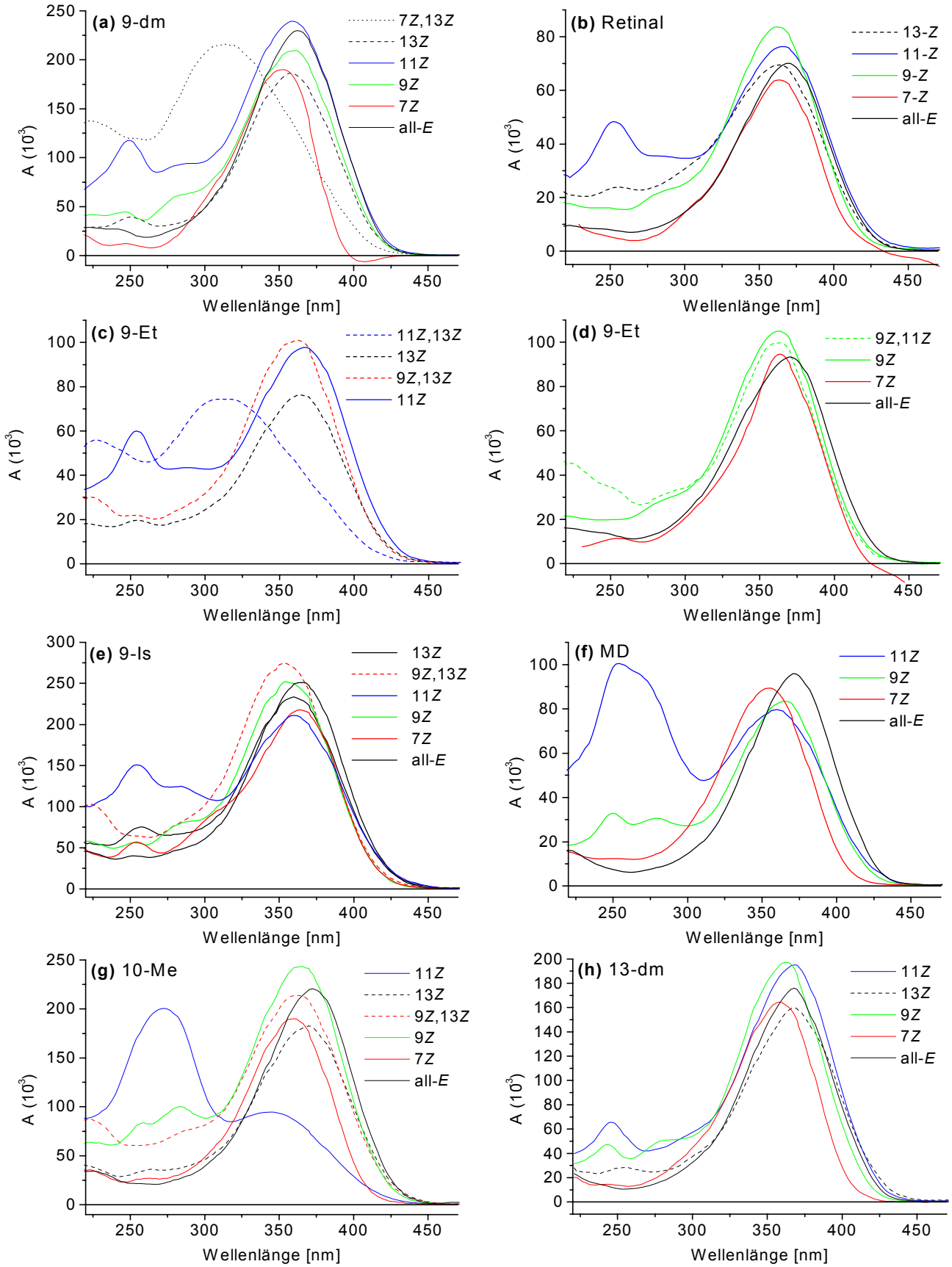



**Abb. 3-27** Absorptionspektren der detektierbaren Isomere der Retinalderivate: a) 9-Demethylretinal (**2**), b) Retinal (**1**), c) und d) 9-Ethylretinal (**3**), e) 9-Isopropylretinal (**4**), f) 10-Methyl-13-demethyl-retinal (**6**), g) 10-Methylretinal (**7**) und h) 13-Demethylretinal (**5**) (n-Hexan, 10 % Diethylether)

Die Absorptionsspektren der weiteren, jeweils entsprechenden Isomere der Retinalderivate zeigen insgesamt ein ähnliches Erscheinungsbild (Abb. 3-27). Das Spektrum des 9*Z*-Isomers weist ein für dieses Isomer signifikantes Nebenmaximum um ca. 280 nm auf. Bei den Verbindungen MD (**6**) und 10-Me (**7**) ist diese Bande etwas stärker ausgeprägt. Zusätzlich zeigt das Spektrum des 9*Z*-Isomers bei diesen beiden Verbindungen und bei 13-dm (**5**) eine weitere kleine Absorptionsbande bei ca. 250 nm.

Ebenfalls erscheint bei allen Verbindungen im Absorptionsspektrum des jeweiligen 13*Z*-Isomers eine für diese Geometrie signifikante kleine Absorptionsbande um die 250 nm. Im Spektrum des 7*Z*-Isomers von 9-Et (**3**) und vor allem 9-Is (**4**) tritt im Gegensatz zu Retinal (**1**) eine *cis*-Bande auf. Diese entsteht in Folge der eingeführten größeren Substituenten an Position 9 der Polyenkette: In der 7*Z*-Konfiguration besteht in der 8-*s-trans*-Konformation eine deutliche sterische Wechselwirkung mit der Methylgruppe an Position 5 des Rings. Zum Abbau der Spannung kann das Molekül die 8-s-*cis*-Geometrie einnehmen, wobei die weiterhin vorhandene Wechselwirkung zwischen der Methylgruppe des Ringes und dem Proton an Position 10 der Kette nur durch eine Drehung der 6-s-Bindung verringert werden kann.

In der Tab. 3-2 sind die Absorptionsmaxima der Isomere von Retinal und der Retinalderivate aufgelistet. Die bei den Substanzen eingeführten Modifikationen bewirken bis auf Ausnahmen bei einzelnen Konfigurationen, einen generellen Trend in der Lage der Maxima. Auch die in 2-Propanol gemessenen Werte (siehe Punkt 3.1.2.3 und Tab. 3-3) folgen diesem Trend, aufgrund der Verwendung des polareren Lösungsmittels zeigen sich die Absorptionswerte dort allerdings generell bathochrom verschoben: Die Isomerenspektren von 9-dm (**2**) in n-Hexan zeigen sich im Vergleich zu Retinal (**1**) hypsochrom verschoben. Bei 9-Et (**3**) liegt bis auf den Wert des 9*Z*,11*Z*-Isomers eine Übereinstimmung mit den Absorptionswerten von Retinal vor. Die Isomere von 9-Is (**4**) zeigen gegenüber Retinal eine kurzwellige Absorption, wobei das 7*Z*-Isomer die Ausnahme bildet und entgegen dem Trend bathochrom absorbiert.

Die Absorptionswerte der Isomere von 13-dm (**5**) sind wiederum in Übereinstimmung zu den Konfigurationen von Retinal (**1**). Eine Ausnahme bildet auch hier das 7*Z*-Isomer mit einer um 6 nm kurzwelligeren Verschiebung des Maximums.

Etwas inhomogener stellen sich die Absorptionswerte der Isomere von MD (**6**) und 10-Me (**7**) dar. Neben den bereits angesprochenen Unterschieden bei den 11*Z*-Isomeren absorbieren die all-*E*- und insbesondere die 9*Z*-Isomere im Vergleich zu Retinal (**1**)

bathochrom. Gleiches gilt für das 13*Z*- und 9*Z*,13*Z*-Isomer bei 10-Me (**7**). Die Werte bei den entsprechenden 7*Z*-Isomeren sind hingegen hypsochrom verschoben.

**Tab. 3-2** Absorptionsmaxima [nm] der Isomere von Retinal und den Retinalderivaten (n-Hexan/ 10 % Diethylether). Die Hauptmaxima sind unterstrichen und die zweite Wellenlänge gibt die Lage des Nebenmaximums an (* Werte nach *Liu* und *Asato*[124])

| | 9-dm | Retinal | 9-Et | 9-Is | MD | 10-Me | 13-dm |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 7*Z*,13*Z* | 315 | 357* | | | | | |
| 7*Z* | 352 | 364 | 362 | 364 | 354 | 360 | 358 |
| 9*Z*,11*Z* | | 352* | 365 | | | | |
| 9*Z*,13*Z* | | 359* | 361 | 354 | | 362 | |
| 9*Z* | 360 | 362 | 361 | 354 | 366 | 366 | 362 |
| 11*Z*,13*Z* | | | 300 | | | | |
| 11*Z* | 250, <u>358</u> | 252, <u>366</u> | 254, <u>366</u> | 254, <u>360</u> | <u>254</u>, 358 | <u>273</u>, 344 | 246 ,<u>368</u> |
| 13*Z* | 250, <u>358</u> | 257, <u>364</u> | 254, <u>366</u> | 254, <u>360</u> | | 370 | 368 |
| all-*E* | 362 | 370 | 370 | 364 | 371 | 373 | 368 |

Der Vergleich der hier gemessenen Absorptionswerte der Isomere in n-Hexan bzw. 2-Propanol mit den Daten in der Literatur zeigt, soweit Werte publiziert wurden, eine relativ gute Übereinstimmung[e].

### *3.1.2.3 Extinktionskoeffizienten*

Die Bestimmung der Extinktionskoeffizienten der hier dargestellten Verbindungen und ihrer verschiedenen Isomere gelang nach Integration von $^1$H-NMR-Schlüsselresonanzen zur Konzentrationsbestimmung in Chromatographie-Eluaten gegen einen internen Standard (s. Punkt 4.1.10). Diese Vorgehensweise hatte den entscheidenden Vorteil, daß Isomere berücksichtigt werden konnten, die nur in kleinen Mengen zu isolieren waren und deren Menge nicht über den konventionellen Weg der Auswaage zu bestimmen war. Mit dieser Methode konnten darüber hinaus insbesondere empfindliche Isomere mit einer durchgängigen Kühlung besser vor thermischer Isomerisierung geschützt werden.

Der interne Standard 1,2-Dichlorethan wurde gewählt, da dessen Signal im $^1$H-NMR-Spektrum als Singulett an einer Stelle erscheint (3.9 ppm), an dem keine Signale der

[e] Von 9-Demethylretinal (**2**) finden sich Werte für das 9*Z*-, 11*Z*- und all-*E*-Isomer[90,92,154], von 9-Ethylretinal (**3**) für 9*Z* und all-*E*[164], 10-Methyl-13-demethylretinal für 11*Z* und all-*E*[117], 10-Methylretinal (**7**) für alle mono-*cis*-Konfigurationen sowie das all-*E*-Isomer[115] und von 13-Demethylretinal (**5**) bis auf das 13*Z*-Isomer ebenfalls von den mono-*cis*-Konfigurationen und dem all-*E*-Isomer[90,92,154,177,232,233]. Für Retinal (**1**) wurde eine Übersicht mit den Absorptionswerten von 14 Isomeren in n-Hexan und Ethanol publiziert[124]. Für 9-Isopropylretinal (**4**) existieren keine Referenzwerte.

Retinalderivate auftreten. Desweiteren besitzt die Verbindung neben dieser Eigenschaft eine relativ große molare Masse und ist als Flüssigkeit mit einem Siedepunkt von ca. 82 °C gut zu handhaben. Die Abmessungen der kleinen Flüssigkeitsmengen konnten mit Glasspritzen entsprechender Volumina reproduzierbar durchgeführt werden. Dieses zeigt sich auch an der Auftragung der gemessenen Absorptionswerte bei der sukzessiven Zugabe einer Isomeren-Lösung zu 2-Propanol in einer Küvette (Abb. 3-28). Die Reproduzierbarkeit der Extinktionskoeffizienten-Bestimmung kann aus Wiederholungsmessungen mit einem Fehler von ± 5 % angegeben werden.

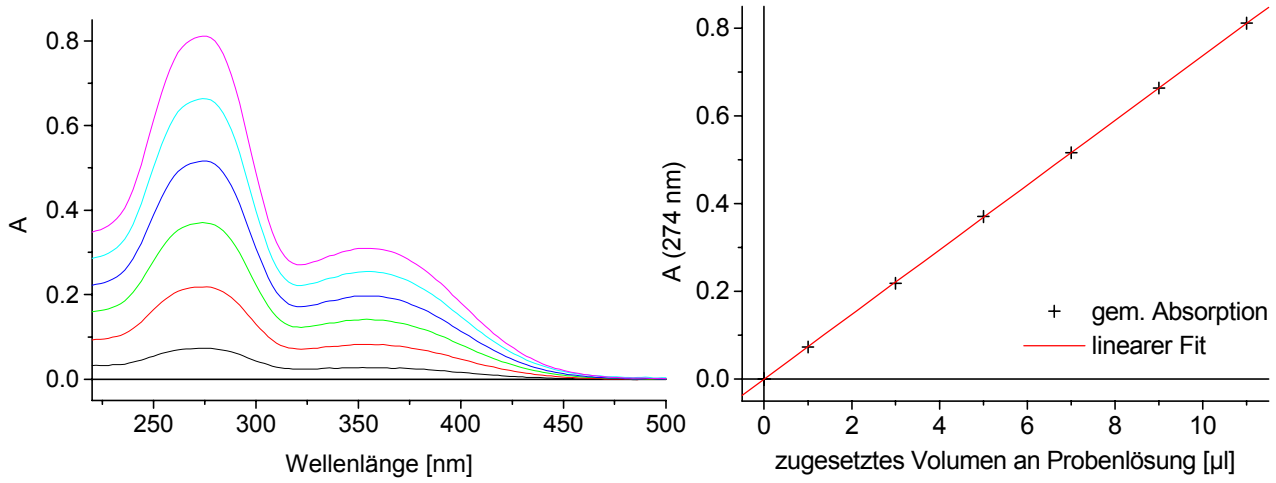



**Abb. 3-28** Absorptionsspektren einer sukzessiven Zugabe von 11*Z*-10-Methylretinal-Lösung definierter Konzentration (links), linearer Fit der Auftragung der Absorptionswerte gegen das zugesetzte Gesamtvolumen an Lösung (rechts)

Zur Überprüfung der Sicherheit der Methode wurde auch der Extinktionskoeffizient von all-*E*-Retinal (**1**) bestimmt. Der erhaltene Wert von 41640 l mol$^{-1}$cm$^{-1}$ ist in guter Übereinstimmung mit dem in der Literatur publizierten Wert von 42884 l mol$^{-1}$cm$^{-1}$ [124]. Desweiteren kann der publizierte Wert von all-*E*-9-Demethylretinal (**2**) zum Vergleich herangezogen werden (42700 l mol$^{-1}$cm$^{-1}$ [131]). Zu diesem liegt mit dem hier bestimmten Wert von 38980 l mol$^{-1}$cm$^{-1}$ eine etwas größere Abweichung vor. Wenige weitere in der Literatur publizierte Extinktionskoeffizienten von Isomeren der Verbindungen sind nicht in 2-Propanol, sondern in anderen Lösungsmitteln bestimmt worden. Diese Werte sind aus zwei Gründen nicht mit den hier gemessenen zu vergleichen: Zum einen sind die Wechselwirkungen zwischen der Polyenkette und dem umgebenden Medium bei verschiedenen Lösungsmitteln sehr unterschiedlich[180]. Zum anderen ändert sich die Konformation des Moleküls in Abhängigkeit vom Lösungsmittel[179]. Diese beiden Faktoren

führen neben einer Verschiebung des Absorptionsmaximums zu einer deutlichen Veränderung des Extinktionskoeffizienten.

*Ernst et al.*[164] bestimmten die Werte von all-*E*- und 9*Z*-9-Ethylretinal (**3**) in Dichlormethan zu 38200 bzw. 33900 l $mol^{-1}cm^{-1}$. Beide Ergebnisse weichen deutlich von den hier in 2-Propanol gemessenen Werten ab (Tab. 3-3). Zusätzlich ist das Verhältnis der beiden Werte zueinander unterschiedlich, was mit der Geometrieänderung des Moleküls in Abhängigkeit des umgebenden Mediums erklärbar ist. Das gleiche Bild ergibt sich bei den publizierten Werten von Isomeren des 13-Demethylretinals (**5**) in n-Hexan[177]: 7*Z*, 25600 l $mol^{-1}cm^{-1}$; 9*Z*, 30000 l $mol^{-1}cm^{-1}$; 11*Z*, 27000 l $mol^{-1}cm^{-1}$ und all-*E*, 43000 l $mol^{-1}cm^{-1}$.

Im Vergleich der Extinktionskoeffizienten der entsprechenden Isomere bei den Retinalderivaten (Tab. 3-3) zeigt sich, daß all-*E*-Retinal (**1**) von allen Verbindungen den höchsten Extinktionskoeffizienten besitzt. Annähernd wird dieser Wert noch von all-*E*-13-dm (**5**) erreicht. Am niedrigsten ist der Extinktionskoeffizient von all-*E*-9-Is (**4**) mit einem Wert von 30430 l $mol^{-1}cm^{-1}$.

**Tab. 3-3** Absorptionsmaxima und Extinktionskoeffizienten von Retinal und der Retinalderivate in 2-Propanol (Einheiten: [nm] bzw. [l $mol^{-1}$ $cm^{-1}$]); * Literaturwerte in Ethanol[124]

| | 9-dm | Retinal | 9-Et | 9-Is | MD | 10-Me | 13-dm |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 7*Z*,13*Z* | 308 (19440) | | | | | | |
| 7*Z* | 364 (44160) | 377 (38000)* | 374 (36390) | | 368 (37990) | 372 (33320) | 370 (37450) |
| 9*Z*,13*Z* | | 368 (32380)* | | | | 380 (35440) | |
| 9*Z* | 372 (28240) | 373 (36010)* | 374 (32320) | 370 (25740) | 376 (30170) | 378 (27930) | 372 (29620) |
| 11*Z* | 372 (25140) | 379.5 (24940)* | 378 (20470) | 370 (19420) | 256 (15980)<br>372 (13790) | 274 (22380)<br>356 (8580) | 376 (33110) |
| 13*Z* | 368 (31050) | 375 (35500)* | | 370 (28140) | | | |
| all-*E* | 376 (38980) | 382 (41640) | 380 (31490) | 376 (30430) | 384 (38130) | 386 (34200) | 378 (40450) |

In der homologen Reihe der an Position 9 modifizierten Verbindungen ist beim all-*E*-Isomer keine generelle Korrelation zwischen der Größe des Substituenten und dem Extinktionskoeffizienten vornehmbar. Der Wert sinkt zwar von Retinal (**1**) über die Ethylverbindung **3** hin zu 9-Is (**4**) ab, aber 9-dm (**2**) paßt nicht in dieses Bild. Allerdings kann die Korrelation zwischen Retinal (**1**), 9-Et (**3**) und 9-Is (**4**) auch bei den anderen Isomeren vorgenommen werden. Insofern scheint die bei der Diskussion der UV-Spektren vorgenommene Annahme zuzutreffen, daß mit dem Anwachsen der Größe des Substituenten an Position 9 ein größerer sterischer Druck auf die Polyenkette ausgeübt wird, die zum Abbau dieser Spannung eine entsprechende Verdrillung vornehmen muß.

Als Resultat dieser Verdrillung verändern sich die elektronischen Gegebenheiten der Kette derart, daß der Extinktionskoeffizient absinkt.

Bei 10-Methyl-13-demethylretinal (**6**) und 13-Demethylretinal (**5**) sind die Extinktionskoeffizienten der Isomere bis auf die Werte der 11*Z*-Konfigurationen vergleichbar groß. Die Extinktionskoeffizienten von 10-Methylretinal (**7**) liegen, wiederum mit Ausnahme des 11*Z*-Isomers, alle unterhalb der Werte dieser beiden Verbindungen. Interessant ist die Tatsache, daß der Extinktionskoeffizient von 11*Z*-MD kleiner ist als der von 11*Z*-10-Me (**7**). Somit zwingt die sterische Spannung bei 10-Me (**7**) das Molekül in eine Geometrie, die hinsichtlich des Extinktionskoeffizienten einen höheren Wert ergibt. Dieses im Gegensatz zu der Konformation von MD (**6**), die, allgemein betrachtet, in der 11*Z*-Konfiguration eine geringere sterische Spannung besitzt. Der unter allen Retinalderivaten größte Wert eines 11*Z*-Isomers von 13-dm (**5**) ist mit der Möglichkeit der Einnahme der 11*Z*,12-s-*trans*-Konfiguration erklärbar. In dieser Geometrie ist eine bessere Konjugation der Doppelbindungen und somit ein höherer Extinktionskoeffizient denkbar. Bei den anderen Retinalderivaten besitzt die 11*Z*-Konfiguration den kleinsten Extinktionskoeffizienten von allen Isomeren, deren Wert hier bestimmt wurde.

Auffallend ist der große Extinktionskoeffizient insbesondere von 7*Z*-9-dm (**2**) und 7*Z*-9-Et (**3**), der in beiden Fällen größer ist als der Wert der all-*E* Geometrie. Anscheinend liegen die beiden Verbindungen in einer für einen hohen Extinktionskoeffizienten günstigen Konformation vor.

#### *3.1.2.4 Schiff-Basen*

Für die Berechnung des Opsin-shifts mußten die Absorptionsmaxima der all-*E* konfigurierten Retinalderivate in Form ihrer protonierten Schiff-Basen (PSB) mit n-Butylamin in methanolischer Lösung bestimmt werden. Dieses gelingt in einfacher Weise durch den Zusatz des Amins zu einer Lösung des jeweiligen Chromophors. Nach ca. 2 h ist die Reaktion abgeschlossen und die Schiff-Base (SB) kann unter Zusatz von verd. Salzsäure in die protonierte Form überführt werden.

Der Opsin-shift (Gl. 1) wird in der Einheit Wellenzahlen ($cm^{-1}$) angegeben, so daß mit steigender Differenz zwischen dem Wert des Absorptionsmaximums des Pigments und der protonierten Schiff-Base ebenfalls ein größerer Wert erhalten wird.

$$\text{Opsin - shift [cm}^{-1}] = \frac{1}{\lambda_{max,PSB}[cm]} - \frac{1}{\lambda_{max,Chromoprotein}[cm]} \qquad \textbf{Gl. 1}$$

Wie in Abb. 3-29 exemplarisch für all-*E*-Retinal und all-*E*-9-Ethylretinal dargestellt, führt die Ausbildung der Schiff-Base zu einer hypsochromen Verschiebung des Absorptionsmaximums unter Anstieg des Extinktionskoeffizienten. Die Protonierung der Schiff-Base verschiebt die Absorption deutlich bathochrom, wobei der Extinktionskoeffizient geringfügig abnimmt.

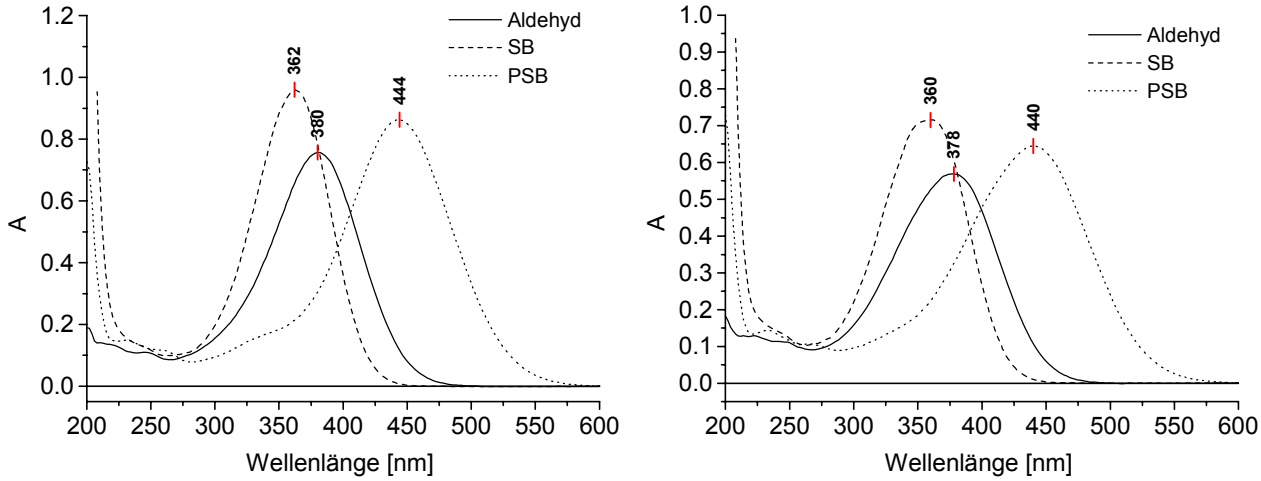



**Abb. 3-29** Absorptionsspektrum von all-*E*-Retinal (**1**, links) und all-*E*-9-Ethylretinal (**3**, rechts) in Methanol sowie die Spektren der Imine mit n-Butylamin (SB) und der entsprechenden protonierten Formen (PSB)

Insgesamt weisen die Absorptionsmaxima der verschiedenen PSB der Retinalderivate zueinander nur geringe Unterschiede auf und sie lassen sich in erster Näherung mit der Absorption des entsprechenden freien Chromophors in methanolischer Lösung korrelieren (Tab. 3-4).

**Tab. 3-4** Absorptionsmaxima der all-*E* konfigurierten Retinalderivate, den Iminen der Verbindungen mit n-Butylamin (Schiff-Base, SB) und deren protonierte Form (PSB) in Methanol [nm]

| | Aldehyd | SB | PSB |
|---|---|---|---|
| 9-dm | 374 | 358 | 436 |
| Retinal | 380 | 362 | 444 |
| 9-Et | 378 | 360 | 440 |
| 9-Is | 376 | 358 | 438 |
| 13-dm | 378 | 362 | 440 |
| MD | 382 | 368 | 446 |
| 10-Me | 384 | 366 | 448 |

#### *3.1.2.5 Kernresonanzspektren*

Die $^{1}$H-NMR-Spektroskopie nimmt zur Charakterisierung der Retinalderivate unter den verschiedenen analytischen Methoden eine herausragende Stellung ein, da sie neben der Bestimmung der Konstitution die Ermittlung der Konfiguration und bei eindimensionalen Routinespektren bedingt der Konformation ermöglicht. Insgesamt führt die Konstitution der Verbindungen zu Spektren, die sich in drei Teilbereiche gliedern lassen: Im ersten Bereich des Spektrums zwischen ca. 1.0 und 2.5 ppm werden die Signale der Methylen- und Methylgruppen detektiert. Der zweite Bereich zwischen ca. 5.5 und 7.5 ppm zeigt die olefinischen Protonen, während das Signal der funktionellen Gruppe signifikant bei ca. 10 ppm auftritt.

Der Analyse der Signale des olefinischen Bereichs kommt dabei die größte Bedeutung zu: Die Ermittlung der Konstitution wird dadurch erleichtert, daß alle Protonen der Polyenkette magnetisch nicht äquivalent sind, so daß für jedes Wasserstoffatom ein Signal detektiert wird. Anhand des Kopplungsmusters ist die Anzahl der benachbarten Protonen zu erkennen und da zwei miteinander koppelnde Atome eine identische Kopplungskonstante aufweisen, können die entsprechenden Paare zugeordnet werden. Zusätzlich unterstützt wird dieses durch das Auftreten des "Dacheffekts". Darüber hinaus ist die $^{3}$J-Kopplungskonstante bei einer Spin-Spin-Wechselwirkung über eine Einfachbindung kleiner als über eine Doppelbindung, so daß die Position der jeweiligen Protonen an der Polyenkette erhalten wird. Werden die Kopplungen der Protonen durch Methylgruppen unterbrochen, so muß die Zuordnung teilweise mit Hilfe von $^{1}$H/$^{13}$C-Korrelationsspektren vorgenommen werden.

Die Bestimmung der Konfiguration bei Retinal und den Derivaten wird durch den Einfluß der Geometrie auf die Verschiebungswerte der Protonen möglich. Mit der Änderung der Konfiguration (*E*,*Z*-Isomerisierung) wird die räumliche Anordnung und damit die magnetische Umgebung der Protonen verändert. Nähern sich zwei Atome, so findet durch die Wechselwirkung der Elektronenhüllen eine gegenseitige Entschirmung statt und es ist eine Verschiebung der Signale zu tieferem Feld (größerer ppm-Wert) zu beobachten. Im umgekehrten Fall wird durch die Vergrößerung der Distanz zwischen zwei Atomen die Entschirmung verringert und die Signale werden zu höherem Feld (kleinerer ppm-Wert) verschoben. In Relation zu den Signallagen der Protonen in der all-*E*-Konfiguration der

Polyenkette folgen die Veränderungen der Verschiebungswerte einem bestimmten Trend (Abb. 3-30), der wie folgt zusammengefaßt werden kann:

- Das Signal des Protons, das die gleiche Bezifferung trägt wie die Bezeichnung der Z-Position und ebenso das Signal des nächsthöher bezifferten Protons, erscheinen bei einem kleineren ppm-Wert (z. B. in der 11*Z*-Konfiguration das 11-H bzw. das 12-H).
- Das mit einer Nummer niedriger und das um zwei Stellen höher bezeichnete Proton erscheint bei einem größeren ppm-Wert (z. B. das 8-H bzw. 11-H beim 9*Z*-Isomer).

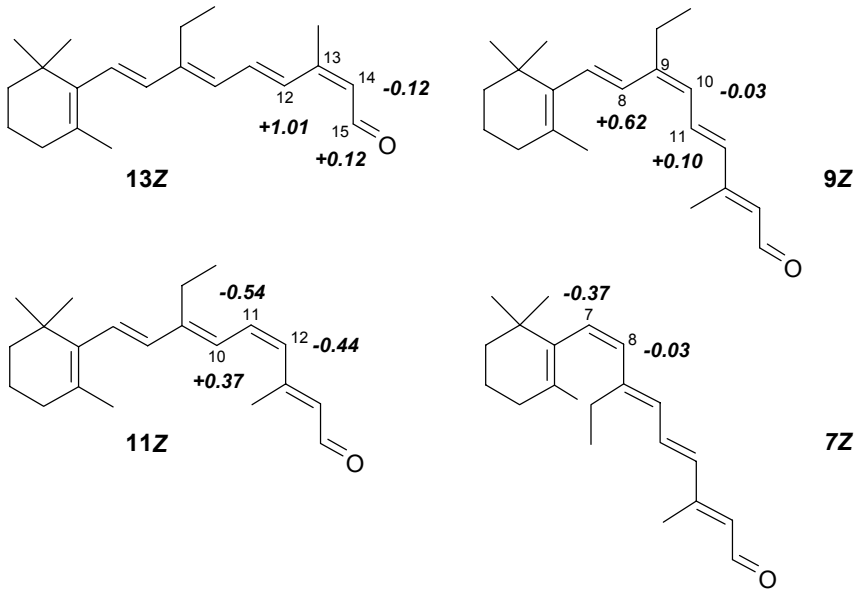



**Abb. 3-30** Strukturen von vier mono-*cis*-Isomeren des 9-Ethylretinals (**3**). Die fett gedruckten Zahlen geben die Differenz des relativen Verschiebungswerts eines Protons im Isomer zum entsprechenden Wert bei der all-*E* konfigurierten Verbindung an. (Beim 7*Z*-Isomer ist die Bindung der 5-$CH_3$-Gruppe des Rings verkürzt dargestellt.)

Die weiteren Protonensignale werden durch eine Konfigurationsänderung teilweise ebenfalls verschoben, allerdings nimmt der Einfluß der Geometrieänderung mit zunehmendem Abstand zur Position des Protons ab. Insgesamt ist eine der Regel entsprechende Verschiebung der Signale im $^1$H-NMR-Spektrum auch bei den di-*cis*-Isomeren vorzufinden.

Zusätzlich wird die Ermittlung der Konfiguration durch die Kopplungskonstanten der Protonen unterstützt, deren Größe beim Übergang von der E- in die Z-Anordnung signifikant abnimmt: Für *trans*-ständige Protonen einer Doppelbindung liegt die Kopplungskonstante im Bereich von 15 bis 16 Hz und im Falle einer *cis*-Anordnung im Bereich von 10 bis 13 Hz.

Die neben den olefinischen Protonen erscheinenden Signale im $^1$H-NMR-Spektrum sind zur Ermittlung der Konstitution der Retinalderivate ebenfalls von Bedeutung, während sie zur Bestimmung der Konfiguration allerdings insgesamt eine untergeordnete Rolle einnehmen. So bleiben die Verschiebungswerte der Methylengruppen des Cyclohexenrings von der Geometrie der Polyenkette nahezu völlig unbeeinflußt. Die Signale erscheinen, mit Variationen in der zweiten Nachkommastelle, bei verschiedenen Isomeren immer an der gleichen Stelle in der Reihenfolge ihrer Bezifferung. Aufgrund der Konstitution sollten sie im Falle eines Spektrums erster Ordnung als Triplett (2-$CH_2$ und 4-$CH_2$) und als Doppeltriplett (3-$CH_2$) auftreten. Infolge von Kopplungen höherer Ordnung erscheint aber nur die 4-$CH_2$-Gruppe als breites Triplett mit einer Kopplungskonstante von ca. 6.0 Hz, während die beiden anderen Methylengruppen ein komplexeres Aufspaltungsmuster aufweisen.

In der Regel findet eine Verschiebung der Signale der Methylgruppen nur dann statt, wenn in der Nähe der Gruppe eine Veränderung der magnetischen Umgebung stattfindet. Im Vergleich zur all-*E*-Konfiguration stellt diese Verschiebung meist einen signifikanten Hinweis auf eine in der Nähe vorliegende Z-Geometrie dar. So verschiebt sich das Signal der an Position 5 des Cyclohexenrings gebundenen Methylgruppe im Falle der 7*Z*-Konfiguration um durchschnittlich 0.25 ppm zu höherem Feld.

Die Signallage der 13-Methylgruppe zeigt signifikant die Anwesenheit eines 13*Z*-Isomers, sowohl im Falle der mono-*cis*- als auch der di-*cis*-Verbindung. Bei den 13-Demethylderivaten des Retinals wird die Rolle der Methylgruppe von dem an gleicher Stelle befindlichen Proton übernommen. Dieses Verhalten zeigt sich auch bei den tri-*cis* Verbindungen des Retinals[124].

Bei den hier untersuchten Retinalderivaten läßt sich von dem jeweils an Position 9 gebundenen Substituenten bei der 9*Z*-Geometrie kein stringentes Bild zeichnen. Ursache für dieses Verhalten ist die zentrale Lage der Position 9 im Gesamtmolekül im Gegensatz zu der relativ terminalen Position der 13-Methylgruppe. So kann von beiden Seiten der Kette infolge von Isomerisierungen eine Veränderung der magnetischen Umgebung verursacht werden: Bei 9-Demethylretinal (**2**) zeigt sich das Signal des 9-H unter allen Isomeren am stärksten zu höherem Feld verschoben. Bei 9-Ethyl- (**3**) und 9-Isopropylretinal (**4**) erscheint das Signal der Methylgruppe bzw. des Methinprotons in gleicher Weise signifikant bei höherem Feld, während sich die Signale der jeweils angebundenen Methylgruppen relativ inert gegenüber den Konfigurationsänderungen

verhalten. Im Falle der Verbindungen 13-Demethylretinal (**5**) und 10-Methyl-13-demethylretinal (**6**) verändert sich der relative Resonanzwert der 9-Methylgruppe nur deutlich beim 7*Z*-Isomer. Die Position des entsprechenden Signals bei 10-Methylretinal (**7**) ist nicht durchgehend mit der Struktur der Polyenkette zu korrelieren. Ein ähnliches Verhalten ist auch beim Signal der 9-Methylgruppe des Retinals (**1**) zu beobachten[124].

Die Methylgruppen an Position 1 des Rings erscheinen immer als Singulett. Die Signale der anderen Methylgruppen werden bei Routinespektren mit guter Auflösung durch long-range-Kopplungen zu Dubletts mit einer Kopplungskonstanten von ca. 1 Hz aufgespalten. Bei der 9- und 13-Methylgruppe resultiert die Aufspaltung in der Hauptsache aus $^{4}$J-Kopplungen mit dem 10- bzw. 14-H[178]. Da die Aufspaltung der 9-Methylprotonen aber auch bei den an Position 10 mit einer Methylgruppe substituierten Verbindungen zu beobachten ist (**6** und **7**), kommen ebenfalls andere Protonen als Kopplungspartner in Frage. Dieses könnte das 8-H für die 9-Methyl- und das 12-H für die 13-Methylgruppe sein. Die 10-Methylgruppe wird dementsprechend durch die Kopplung mit dem 11-H zu einem Dublett aufgespalten. Die teilweise zu beobachtende Aufspaltung der 5-Methylgruppe zu einem Dublett wird durch die $^{5}$J-Kopplung mit dem 7-H hervorgerufen. Das olefinische Proton zeigt selbst keine Aufspaltung des Signals mit einer entsprechenden Kopplungskonstante, sondern erscheint meist nur in signifikanter Weise als verbreitertes Signal.

Das Signal des Protons der funktionellen Gruppe wird von der Konfiguration der Polyenkette in einem geringen Ausmaß beeinflußt. Mit der Anwesenheit einer 13*Z*-Konfiguration wird die Resonanz in Abhängigkeit von der weiteren Geometrie der Polyenkette, in Relation zur all-*E* konfigurierten Verbindung, teilweise deutlich verschoben. Aufgrund ihrer isolierten Stellung können die Aldehydsignale zur Bestimmung der Anzahl von Isomeren in einer Mischung verwendet werden[159,175]. Diese Vorgehensweise ist relativ sicher, da es nur wenige Isomere gibt, deren Signale mit identischem Verschiebungswert und zusätzlich identischer Kopplungskonstante vollständig überlagern. Ein Beispiel dafür ist das entsprechende Signal des 13*Z*- und 9*Z*,13*Z*-Isomers von 9-Ethylretinal (**3**, s. Tab. 3-11, Messungen in Aceton-$d_6$).

Zum besseren Vergleich zwischen den auf den nächsten Seiten aufgeführten Daten aus den $^{1}$H-NMR-Spektren der Retinalderivate und deren Isomere werden zuerst die Differenzen der jeweiligen Verschiebungswerte der all-*E* konfigurierten Derivate zu den entsprechenden Werten des all-*E*-Retinals (**1**) zusammenfassend dargestellt (Tab. 3-5).

Damit ist die Möglichkeit gegeben, die Auswirkungen der vorgenommenen Modifikationen auf die Struktur der Verbindungen im Vergleich zum Retinal zu ermitteln. Um bei einer isomeren Form aller Retinalderivate einen Vergleich bezüglich der Auswirkungen der vorgenommenen Modifikationen auf die Strukturen in den isomeren Formen zu erhalten, sind in den nachfolgenden Tabellen folgende Differenzen aufgeführt: Verschiebungswert eines Protons in der isomeren Form abzüglich des Verschiebungswerts des entsprechenden Protons in der all-*E*-Konfiguration (Tab. 3-6 bis Tab. 3-9).

Anhand der in Tab. 3-5 aufgeführten Differenzen sind deutlich die Veränderungen der magnetischen Umgebungen einzelner Protonen zu erkennen, die durch die vorgenommenen Substitutionsänderungen verursacht werden. Die Entfernung der Methylgruppe bei 9-dm (**2**) führt im Vergleich zu Retinal (**1**) zu einer geringeren Entschirmung des Protons an Position 11 und es resultiert eine Verschiebung des zugehörigen Signals zu höherem Feld. In gleicher Weise wird das 15-H bei den Verbindungen 13-dm (**5**) und MD (**6**) durch das Fehlen der 13-Methylgruppe beeinflußt. Ebenso wird das 8-H infolge der Einführung einer Methylgruppe an Position 10 der Polyenkette zu tieferem Feld verschoben.

**Tab. 3-5** Differenz der Verschiebungswerte der Protonen der all-*E* konfigurierten Retinalderivate zu den Verschiebungswerten der entsprechenden Protonen von all-*E* Retinal (Alle Messungen bis auf 13-dm in Aceton-$d_6$. Die Messung von 13-dm wurde in $CDCl_3$ durchgeführt und deshalb wurden die Differenzen ebenfalls zu den Daten einer Messung von Retinal in $CDCl_3$ berechnet.)

| | 7-H | 8-H | 10-H | 11-H | 12-H | 14-H | 15-H |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 9-dm | 0 | +0.04 | + 0.14 | -0.33 | - 0.03 | - 0.02 | 0 |
| 9-Et | + 0.03 | - 0.14 | - 0.07 | - 0.02 | + 0.01 | 0 | 0 |
| 9-Is | + 0.14 | - 0.14 | + 0.13 | + 0.03 | + 0.05 | + 0.02 | + 0.02 |
| 13-dm | + 0.04 | + 0.01 | + 0.02 | -0.09 | + 0.09 | + 0.18 | - 0.54 |
| MD | + 0.09 | + 0.51 | - | + 0.19 | + 0.23 | + 0.27 | - 0.55 |
| 10-Me | + 0.05 | + 0.51 | - | + 0.20 | + 0.12 | + 0.09 | + 0.03 |

Einen geringeren Einfluß hat die 10-Methylgruppe auf den relativen Verschiebungswert des Protons an Position 12. Vermutlich bewirkt die sterische Wechselwirkung der 9-Methylgruppe mit dem 11-H und der 10-Methylgruppe mit dem 12-H eine Drehung der $C_{10}$-$C_{11}$-Bindung, um den Kontakt zwischen den Methylgruppen und den Protonen zu verringern, woraus eine geringere Möglichkeit zur Entschirmung resultiert. Diese Annahme wird durch die ebenfalls auftretende Verschiebung des 11-H gestützt, das nicht im Einflußbereich der 10-$CH_3$-Gruppe liegt. Entsprechend kann nur eine Drehung um die Einfachbindung eine Veränderung der magnetischen Umgebung dieses Protons

verursachen. Vergleichbare Geometrieänderungen betroffener Einfachbindungen können dann auch für die Verschiebung des 14-H Signals bei 13-dm (**5**) und MD (**6**) verantwortlich gemacht werden.

Im Gegensatz dazu liegt im Falle von 9-dm (**2**) gegenüber Retinal (**1**) eine geringere sterische Wechselwirkung um die Position 9 vor. Die Drehung der $C_8$-$C_9$-Einfachbindung führt zu einer geringeren gegenseitigen Entschirmung des 10-H und 8-H, so daß die Signale der beiden Protonen bei tieferem Feld erscheinen.

Bei den Verbindungen 9-Et (**3**) und 9-Is (**4**) führt die Substitutionsänderung zu einem magnetischen Einfluß auf die umliegenden Protonen. Dementsprechend ist eine Verschiebung der Signale von 7- und 8-H sowie 10- und 11-H zu detektieren.

**Tab. 3-6** Differenzen der Verschiebungswerte der Protonen in der 13*Z*-Konfiguration zu den entsprechenden Verschiebungswerten des all-*E* Isomers derselben Verbindung (Von den Verbindungen 13-dm (**5**) und MD (**6**) wurde kein 13Z-Isomer isoliert)

| 13*Z*-Isomer | 7-H | 8-H | 9-H | 10-H | 11-H | 12-H | 14-H | 15-H |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 9-dm | 0 | 0 | 0 | + 0.04 | - 0.11 | + 1.01 | - 0.11 | + 0.11 |
| 9-Et | 0 | + 0.01 | - | + 0.05 | - 0.12 | + 1.01 | - 0.12 | + 0.12 |
| 9-Is | + 0.01 | 0 | - | + 0.05 | - 0.11 | + 1.02 | - 0.13 | + 0.13 |
| 10-Me | + 0.02 | + 0.03 | - | - | + 0.08 | + 0.82 | - 0.17 | + 0.16 |

Bei den in Tab. 3-6 aufgeführten Differenzen der Verschiebungswerte in der isomeren 13*Z*-Form zu den Werten der jeweils all-*E* konfigurierten Verbindung entsprechen die auftretenden Verschiebungen den oben aufgeführten Regeln. Auffällig ist allerdings die große Tieffeldverschiebung des Protons an der Position 12. Mit der Konfigurationsänderung nähern sich die Protonen 12- und 15-H, woraus eine gegenseitige Entschirmung resultiert. Die deutliche Verschiebung des 12-H ist damit allerdings nicht zu erklären. *Patel*[172] führt die tieffeldige Lage des 12-H darauf zurück, daß das Proton in den entschirmenden Einfluß der Aldehydgruppe gelangt, während *Zhu et al.*[181] sterische Wechselwirkungen verantwortlich machen. Da das 15-H aus der magnetischen Beeinflussung der 13-Methylgruppe in die des 12-H gelangt, ist eine geringere Verschiebung dieses Protons zu erwarten. Das 14-H gerät in eine exponiertere Position und das zugehörige Signal erscheint bei wenig höherem Feld. Anhand der ebenfalls zu beobachtenden Verschiebung des 11-H-Signals kann auf eine infolge der Konfigurationsänderung auftretende zusätzliche Drehung der 12-s-Bindung geschlossen werden, die eine Veränderung der Wechselwirkung zwischen dem Proton und der 13-Methylgruppe mit sich bringt. Diese Verschiebung der Position des 11-H ist bei den an

Position 9 modifizierten Derivaten mit negativem Vorzeichen und im Falle von 10-Me (**7**) durch die 10-Methylgruppe mit positivem Vorzeichen versehen.

Die in Tab. 3-7 zusammengestellten Differenzen der 11*Z* konfigurierten Derivate entsprechen den für diese isomere Form zu erwartenden Verschiebungen: Das Proton, welches die gleiche Bezifferung trägt wie die Beschreibung der Z-Position, ist infolge seiner exponierteren Stellung zu höherem Feld verschoben. In gleicher Weise erscheint das Signal von 12-H bei einem kleineren ppm-Wert. Das Proton an der Position 10 der Polyenkette gerät in den magnetischen Einflußbereich des Substituenten an Position 13 und wird zu tieferem Feld verschoben. Bei 13-Demethylretinal (**5**) zeigt sich diese Entschirmung ebenfalls anhand des vorhandenen 13-H, welches mit einem ähnlichen ppm-Wert wie das 10-H in dieser Verbindung zu tieferem Feld verschoben wird.

**Tab. 3-7** Differenzen der Verschiebungswerte der Protonen in der 11*Z*-Konfiguration zu den entsprechenden Verschiebungswerten des all-*E* Isomers derselben Verbindung (Messung von 13-dm in $CDCl_3$, alle anderen in Aceton-$d_6$)

| 11*Z*-Isomer | 7-H | 8-H | 9-H | 10-H | 11-H | 12-H | 13-H | 14-H | 15-H |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 9-dm | + 0.01 | + 0.05 | - 0.31 | + 0.44 | - 0.56 | - 0.36 | - | + 0.03 | - 0.03 |
| 9-Et | - 0.01 | + 0.01 | - | + 0.37 | - 0.54 | - 0.44 | - | + 0.03 | - 0.02 |
| 9-Is | - 0.05 | 0 | - | + 0.31 | - 0.54 | - 0.49 | - | + 0.05 | - 0.02 |
| 13-dm | + 0.02 | + 0.06 | - | + 0.45 | - 0.21 | - 0.22 | + 0.49 | + 0.02 | + 0.06 |
| MD | - 0.16 | - 0.10 | - | - | - 0.78 | - 0.32 | - 0.05 | - 0.02 | + 0.03 |
| 10-Me | - 0.19 | - 0.19 | - | - | - 1.01 | - 0.46 | - | - 0.12 | - 0.06 |

Die in Tab. 3-7 aufgeführten Differenzen des 11-H sind bei den Verbindungen 9-dm (**2**), 9-Et (**3**) und 9-Is (**4**) relativ ähnlich und steigen in der Reihenfolge 13-dm (**5**), MD (**6**) und 10-Me (**7**) an. Während der Substituent an der Position 9 eine untergeordnete Rolle in der 11*Z*-Konfiguration spielt, sind die Modifikationen an der Position 10 und/oder 13 von wesentlichem Einfluß. Der gegenüber Retinal verminderte Raumanspruch bei 13-dm (**5**) ermöglicht dem Molekül, wie bereits erwähnt, in der 11*Z*-Form die 12-s-*trans* Konformation einzunehmen, ohne daß eine große sterische Spannung auftritt. Dementsprechend muß keine deutliche Verdrillung der Einfachbindungen vorgenommen werden, in deren Folge das 11-H aus dem entschirmenden Einfluß der 9-Methylgruppe in eine exponierte Stellung geriete und das Signal stärker zu hohem Feld verschoben würde. Mit einer gegenüber 13-dm (**5**) eingeführten Methylgruppe an Position 10 der Polyenkette wächst die sterische Spannung in der 11*Z*-Konfiguration wieder an und MD (**6**) muß zum Ausgleich eine Verdrillung der vorhandenen Einfachbindungen, insbesondere der 12-s-Bindung,

vornehmen. Dieses hat zum einen die deutliche Verschiebung des 11-H-Signals und desweiteren auch eine Veränderung der magnetischen Umgebungen bei den Protonen 7- und 8-H zur Folge. Die Verdrillung der 12-s-Bindung ist derart, daß auf das 13-H kein zusätzlich entschirmender Einfluß der 10-$CH_3$-Gruppe zu beobachten ist und das Signal nahezu unverändert zum all-*E*-Isomer erscheint. In der Verbindung 10-Me (**7**) ist die sterische Spannung weiter vergrößert und das Molekül weicht der Wechselwirkung durch eine noch stärkere Verdrillung der Einfachbindungen aus. Dementsprechend sind die zu detektierenden Verschiebungen der Signale noch stärker ausgeprägt.

Beim Übergang von der all-*E*- in die 9*Z*-Konfiguration gerät das Proton an der Position 8 der Polyenkette in sterischen Kontakt mit dem 11-H und aufgrund der gegenseitigen Entschirmung werden die Signale der beiden Protonen zu höherem Feld verschoben (Tab. 3-8). Im Falle von 9-dm (**2**) erscheint die Differenz für das 11-H signifikant größer. Die Ursache für diesen relativ großen Unterschied liegt darin, daß das 11-H nicht wie bei den anderen Derivaten in der all-*E*-Konfiguration eine entschirmenden Wechselwirkung mit einem Substituenten an Position 9 besitzt. Somit geht das 11-H in der Isomerisierung nicht aus einer entschirmenden Wechselwirkung in eine andere über, sondern von einer Konfiguration ohne Wechselwirkung in eine mit entschirmenden Kontakt. Die somit zu den anderen Retinalderivaten größere Differenz kann als Anhaltspunkt für die Verschiebung eines Signals dienen, die infolge der Wechselwirkung 11-H/8-H auftritt.

**Tab. 3-8** Differenzen der Verschiebungswerte der Protonen in der 9*Z*-Konfiguration zu den entsprechenden Verschiebungswerten des all-*E* Isomers derselben Verbindung (Messung von 13-dm in $CDCl_3$, alle anderen in Aceton-$d_6$)

| 9Z-Isomer | 7-H | 8-H | 9-H | 10-H | 11-H | 12-H | | 14-H | 15-H |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 9-dm | - 0.01 | + 0.52 | - 0.31 | - 0.27 | + 0.44 | + 0.02 | - | + 0.03 | + 0.01 |
| 9-Et | - 0.01 | + 0.62 | - | - 0.03 | + 0.10 | - 0.04 | - | + 0.01 | 0 |
| 9-Is | - 0.12 | + 0.52 | - | - 0.18 | + 0.04 | - 0.03 | - | - 0.01 | - 0.01 |
| 13-dm | - 0.01 | + 0.51 | - | - 0.08 | + 0.10 | - 0.07 | 0 | - 0.01 | - 0.02 |
| MD | - 0.10 | + 0.18 | - | - | + 0.13 | - 0.04 | + 0.03 | 0 | 0 |
| 10-Me | - 0.08 | + 0.15 | - | - | + 0.08 | - 0.05 | - | 0 | 0 |

Abweichend erscheint darüber hinaus die jeweilige Differenz des 8-H bei den an Position 10 substituierten Verbindungen (**6** und **7**). Der Grund für die geringere Tieffeldverschiebung ist die bereits beim Vergleich der all-*E* konfigurierten Retinalderivate angeführte deutliche Wechselwirkung und gegenseitige Entschirmung der Methylgruppe an Position 10 und dem Proton an Position 8. Die Wechselwirkung mit dem 11-H in der

9*Z*-Konfiguration bewirkt nur noch eine geringfügig stärkere Entschirmung, so daß insgesamt eine geringe Differenz resultiert.

Bei den 9*Z*-Isomeren ist in der homologen Reihe der an Position 9 modifizierten Substanzen (**2**-**4**) keine Korrelation zwischen Substituentengröße und den berechneten Differenzen vornehmbar. Bei den entsprechenden Differenzen der 7*Z*-Isomere dieser Verbindungen ist hingegen eine geringe Abhängigkeit beim 10-H anhand einer ansteigenden Tieffeldverschiebung zu sehen (Tab. 3-9). Mit der Isomerisierung in die 7*Z*-Konfiguration liegt in der 7*Z*-8-s-Geometrie eine starke Wechselwirkung zwischen dem Substituenten an Position 9 und der 5-Methylgruppe des Cyclohexenrings vor. Der Abbau dieser sterischen Spannung kann nur über Drehung der 6-s- und 8-s-Bindung erfolgen. In der Reihe 9-dm (**2**), 9-Et (**3**) und 9-Is (**4**) erfährt das Signal des 10-H dabei ausgehend von einer Hochfeldverschiebung eine zunehmende Verschiebung zu tieferem Feld.

Bei 9-dm (**2**) weicht die Differenz des 8-H von den Werten der anderen Retinalderivate ab. Dieses Verhalten hat den gleichen Grund wie das Abweichen der Differenz des 11-H in der 9*Z*-Konfiguration (Tab. 3-8): Erst mit dem Übergang in die 7*Z*-Form gerät das 8-H in Kontakt zu einer entschirmenden Gruppe. In der all-*E*-Konfiguration liegt keine entsprechende Wechselwirkung vor, so daß im Vergleich in der 7*Z*-Form eine etwas größere Differenz resultiert.

**Tab. 3-9** Differenzen der Verschiebungswerte der Protonen in der 7*Z*-Konfiguration zu den entsprechenden Verschiebungswerten des all-*E* Isomers derselben Verbindung (Messung von 13-dm in $CDCl_3$, alle anderen in Aceton-$d_6$)

| 7*Z*-Isomer | 7-H | 8-H | 9-H | 10-H | 11-H | 12-H | 13-H | 14-H | 15-H |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 9-dm | - 0.29 | + 0.03 | - 0.14 | + 0.06 | 0 | + 0.03 | - | 0 | - 0.01 |
| 9-Et | - 0.37 | - 0.03 | - | + 0.20 | + 0.07 | - 0.03 | - | 0 | 0 |
| 9-Is | - 0.38 | - 0.01 | - | + 0.30 | + 0.01 | - 0.16 | - | - 0.01 | - 0.01 |
| 13-dm | - 0.36 | - 0.04 | - | + 0.08 | - 0.05 | - 0.04 | - 0.02 | 0 | - 0.01 |
| MD | - 0.34 | - 0.19 | - | - | - 0.11 | - 0.02 | - 0.03 | + 0.01 | 0 |
| 10-Me | - 0.31 | - 0.18 | - | - | - 0.09 | - 0.02 | - | 0 | + 0.01 |

Das geringfügig abweichende Verhalten der Differenz des 8-H bei Derivaten mit einer 10-Methylgruppe (**6** bzw. **7**) hat die Ursache in einem ebenfalls bereits bei den 9*Z*-Isomeren beschriebenen Sachverhalt: Die entschirmende Wechselwirkung der 10-Methylgruppe in der all-*E*-Konfiguration auf das 8-H ist bei den entsprechenden Verbindungen größer als im Falle der 7*Z*-Form die Interaktion mit der 5-$CH_3$-Gruppe.

Die im folgenden dargestellten Spektren der Retinalderivate wurden bis auf die von 13-dm (**5**) überwiegend mit Aceton-$d_6$ als Lösungsmittel gemessen. Aceton besitzt als Lösungsmittel den Vorteil, daß die Isomere der Verbindungen darin deutlich stabiler sind. Der geringe saure Charakter von Chloroform reicht bei vielen vor allem empfindlichen Isomeren bereits aus, um eine Isomerisierung zu katalysieren. Zusätzlich sind einige Daten aus den Messungen mit Chloroform als Lösungsmittel aufgeführt. Die in den beiden Lösungsmitteln erscheinenden unterschiedlichen Verschiebungswerte sind zum Teil sehr hilfreich bei der Interpretation der Spektren, da Peaks, die in einem Medium überlagert sind, mit der Verwendung eines anderen Lösungsmittels separiert auftreten können.

Das Spektrum des jeweils all-*E* konfigurierten Retinalderivats ist immer vollständig abgebildet. Von den isolierten Isomeren der Verbindungen ist nur jeweils der olefinische Bereich dargestellt, da dieser, wie oben beschrieben, die aussagekräftigsten Informationen über die Geometrien der Verbindungen enthält. Weil der jeweilige Kopplungspartner, der die teilweise auftretende Aufspaltung der Signale der Methylgruppen verursacht, nicht genau ermittelt wurde, ist dieser allgemein durch ein "X" symbolisiert.

In der Abb. 3-32 und Abb. 3-33 sind die entsprechenden $^1$H-NMR-Spektren von 9-Demethylretinal (**2**) dargestellt und in der Tab. 3-10 sind die Verschiebungswerte aus den Messungen zusammengefaßt. Die Interpretation der Spektren verschiedener Isomere dieser Verbindung wird durch das Proton an Position 9 erleichtert, das eine durchgängige $^3$J-Kopplung der Protonen an den Positionen 7 bis 12 ermöglicht.

Im Falle des 11*Z*,13*Z*-Isomers ist die Identifizierung der Konfiguration durch die Überlagerung der Signale des 9- und 10-H erschwert (Abb. 3-31). Die Protonen 7 und 8 besitzen die für eine *trans*-Konfiguration typisch große Kopplungskonstante von 15.62 Hz. Die Konstante aus der Kopplung von 11- und 12-H mit einem Wert von 13.86 Hz ist für eine bei den Retinalderivaten auftretende *cis*-Anordnung etwas zu hoch. Die Überlagerung der Signale des 12-H durch das 8-H und des 11-H durch die Signale eines anderen Isomers kann allerdings zu einer Verfälschung dieses Werts führen. Im Vergleich zu den Daten des all-*E* konfigurierten Isomers ist die Verschiebung des 11-H zu höherem Feld für die 11*Z*-Geometrie typisch. Das Signal des 12-H erscheint für eine 13*Z*-Geometrie bei einem relativ kleinen ppm-Wert. Die ebenfalls vorliegende 11*Z*-Bindung bringt das Proton allerdings in eine exponierte Stellung, so daß die Tieffeldverschiebung der 13*Z*-Konfiguration kompensiert wird. In den mono-*cis* Verbindungen erscheint das 12-H im

13*Z*-Isomer bei 7.5 ppm und im 11*Z*-Isomer bei 6.0 ppm. Unter Berücksichtigung veränderter magnetischer Verhältnisse durch Drehungen von Einfachbindungen in der 11*Z*,13*Z*-Form erscheint die Lage des 12-H bei ca. 6.5 ppm ungefähr als Mittelwert aus den Verschiebungen der mono-*cis*-Verbindungen.

Beim 7*Z*-Isomer ist die Zuordnung durch die Überlagerung der Signale von 9-, 10- und 12-H ebenfalls etwas schwieriger. Signifikant ist das Erscheinungsbild des 8-H als Pseudotriplett: Dieses entsteht aus dem Zusammenfallen des Doppel-Dublett-Musters, infolge der kleineren Kopplungskonstante $^{3}J_{7\text{-H},8\text{-H}}$ der *cis*-Anordnung und der vergleichbaren Konstante $^{3}J_{8\text{-H},9\text{-H}}$ aufgrund der Kopplung über die Einfachbindung. Der Wert der Kopplungskonstanten der Protonen 9 und 10 von 10.7 Hz ist für eine *trans*-ständige Doppelbindung zu klein, kann aber aufgrund der Signalüberlagerung nur sehr ungenau bestimmt werden.

Die weiteren isolierten Isomere von 9-dm (**2**) können anhand der für die verschiedenen Konfigurationen typischen Verschiebungen der Signale, in Verbindung mit den Kopplungskonstanten, identifiziert werden. Die Verschiebungswerte der einzelnen Isomere sind dabei in Übereinstimmung mit den zum Teil bereits in der Literatur publizierten Daten[154,157,182].

Bei 9-Ethylretinal (**3**) ist das Kopplungsmuster der Protonen der Polyenkette im Gegensatz zu 9-dm (**2**) aufgrund des an Position 9 vorhandenen Substituenten einfacher, da die Protonen an den Position 8 und 10 jeweils nur noch zum Dublett aufgespalten werden. In Abb. 3-33 und Abb. 3-34 sind die Ausschnitte der olefinischen Bereiche der Isomere des 9-Et (**3**) dargestellt. Die Abb. 3-35 zeigt das Gesamtspektrum von all-*E*-9-Et (**3**) und die Verschiebungswerte der Verbindung sind in Tab. 3-11 zusammengefaßt.

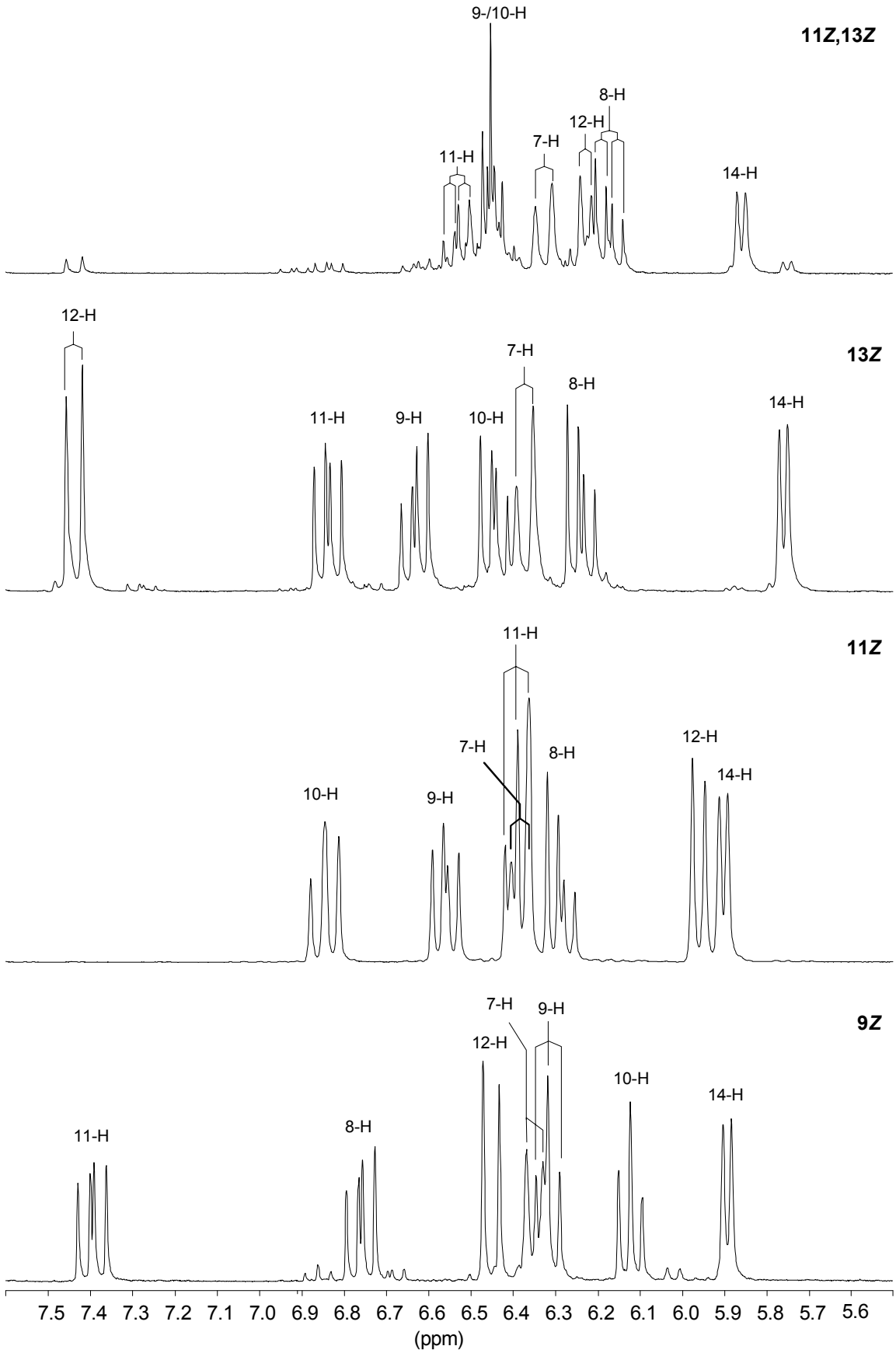



**Abb. 3-31** Ausschnitte aus den $^{1}$H-NMR-Spektren von Isomeren des 9-Demethylretinals (**2**) (Aceton-$d_6$, 400 MHz). Das Spektrum des 11*Z*,13*Z*-Isomers ist geringfügig durch das 13*Z*-Isomer verunreinigt.

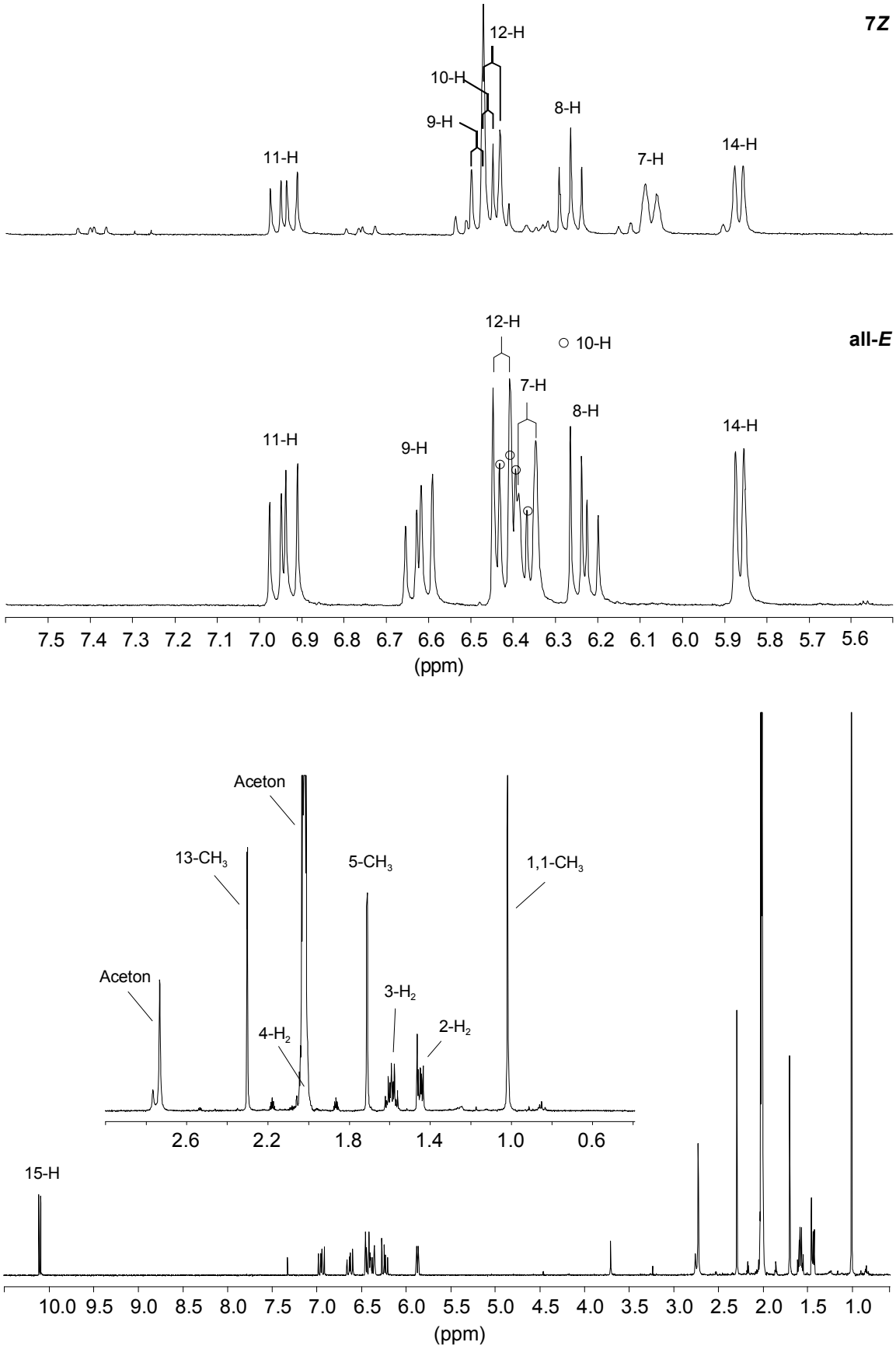



**Abb. 3-32** Ausschnitte aus den $^1$H-NMR-Spektren von Isomeren des 9-Demethylretinals (**2**) (oben) und das Spektrum des all-*E* Isomers mit einer vergrößerten Darstellung des aliphatischen Bereichs (unten, Aceton-$d_6$, 400 MHz).

**Tab. 3-10** $^1$H-NMR-Daten von Isomeren des 9-Demethylretinals (**2**) (grau unterlegte Werte aus Messungen in $CDCl_3$, alle anderen in Aceton-$d_6$)

| | 1,1-$CH_3$ | 2-$H_2$ | 3-$H_2$ | 4-$H_2$ | 5-$CH_3$ | 13-$CH_3$ | 7-H | 8-H | 9-H | 10-H | 11-H | 12-H | 14-H | 15-H |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 11*Z*,13*Z* | 1.00 s | 1.44 m | 1.59 m | * | 1.68 d | 2.08 d | 6.33 d | 6.18 dd | 6.48-6.43 | | 6.54 dd | 6.23 d | 5.87 d | 9.70 d |
| 11*Z*,13*Z* | 0.99 s | 1.43 m | 1.58 m | 2.00 t | 1.69 d | 2.06 d | 6.26 d | 6.08 dd | 6.29-6.46# | | | 6.08 d | 5.93 d | 9.72 d |
| 9*Z*,13*Z* | 1.02 s | 1.45 m | 1.60 m | * | 1.73 d | 2.13 d | ~6.37 d | 6.75 dd | 6.34 dd | 6.18 dd | 7.28 dd | 7.47 d | 5.78 d | 10.22 d |
| 13*Z* | 1.02 s | 1.45 m | 1.60 m | * | 1.71 d | 2.10 d | 6.37 d | 6.24 dd | 6.63 dd | 6.45 dd | 6.84 dd | 7.44 d | 5.76 d | 10.21 d |
| 13*Z* | 1.02 s | 1.45 m | 1.59 m | 2.02 t | 1.72 s | 2.09 d | 6.32 d | 6.18 dd | 6.52 dd | 6.32 dd | 6.69 dd | 7.22 d | 5.82 d | 10.16 d |
| 11*Z* | 1.02 s | 1.45 m | 1.59 m | * | 1.71 s | 2.38 s | 6.38 d | 6.29 dd | 6.56 dd | 6.85 t | 6.39 t | 5.96 d | 5.90 d | 10.07 d |
| 11*Z* | 1.02 s | 1.44 m | 1.59 m | 2.02 t | 1.72 d | 2.34 d | 6.33 d | 6.18 dd | 6.46 dd | 6.68 dd | 6.33 t | 5.85 d | 6.04 d | 10.06 d |
| 9*Z* | 1.02 s | 1.46 m | 1.61 m | * | 1.74 d | 2.34 d | 6.36 d | 6.76 dd | 6.32 t | 6.14 dd | 7.39 dd | 6.45 d | 5.90 d | 10.11 d |
| 9*Z* | 1.03 s | 1.46 m | 1.61 m | 2.04 t | 1.75 s | 2.30 s | 6.3 d | 6.58 dd | 6.27 t | 6.06 t | 7.17 dd | 6.33 d | 5.96 d | 10.09 d |
| 7*Z* | 0.96 s | 1.48 m | 1.64 m | * | 1.50 d | 2.28 d | 6.08 d | 6.47 d | 6.49 d | 6.27 t | 6.95 dd | 6.46 d | 5.87 d | 10.09 d |
| 7*Z* | 0.96 s | 1.48 m | 1.65 m | 2.01 t | 1.52 s | 2.28 s | 6.08 d | 6.20 t | ** | ** | 6.78 dd | ** | 5.94 d | 10.08 d |
| all-*E* | 1.02 s | 1.45 m | 1.59 m | * | 1.71 s | 2.30 d | 6.37 d | 6.24 dd | 6.63 dd | 6.41 dd | 6.95 dd | 6.43 d | 5.87 d | 10.10 d |
| all-*E* | 1.02 s | 1.45 m | 1.59 m | 2.02 t | 1.72 d | 2.27 d | 6.32 d | 6.17 dd | 6.52 dd | 6.29 dd | 6.79 dd | 6.32 d | 5.94 d | 10.08 d |

| | J(3,4) | J(5-$CH_3$,7) | J(13-$CH_3$,X) | J(7,8) | J(8,9) | J(9,10) | J(10,11) | J(11,12) | J(14,15) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 11*Z*,13*Z* | * | 0.72 | 0.64 | 15.62 | 10.14 | # | 10.52 | 13.86 | 7.95 |
| 11*Z*,13*Z* | ~ 6 | 0.48 | 0.68 | 15.69 | 10.24 | # | # | 11.12 | 8.16 |
| 9*Z*,13*Z* | * | 0.56 | 1.22 | 14.70 | 12.28 | 11.60 | 11.26 | 15.01 | 7.68 |
| 13*Z* | * | 0.78 | 1.14 | 15.72 | 10.58 | 15.02 | 10.92 | 15.36 | 7.84 |
| 13*Z* | 6.12 | - | 1.00 | 15.64 | 10.60 | 14.76 | 10.85 | 15.06 | 7.96 |
| 11*Z* | * | - | - | 15.60 | 10.36 | 14.48 | 13.30 | 11.76 | 7.88 |
| 11*Z* | 6.26 | 0.64 | 1.16 | 15.56 | 10.62 | 14.42 | 12.28 | 11.76 | 8.12 |
| 9*Z* | * | 0.67 | 1.05 | 15.18 | 12.14 | 11.05 | 11.60 | 15.20 | 7.96 |
| 9*Z* | 6.10 | - | - | 15.14 | 11.58 | 11.04 | 11.80 | 15.28 | 8.08 |
| 7*Z* | * | 0.76 | 1.08 | 10.36 | ~ 10 | ~ 10.7 | 9.94 | 15.34 | 8.00 |
| 7*Z* | 5.42 | - | - | 10.40 | 10.2 | # | 10.08 | 15.32 | 8.08 |
| all-*E* | * | - | 0.97 | 15.96 | 10.56 | 14.70 | 11.00 | 15.16 | 7.96 |
| all-*E* | 6.22 | 0.68 | 1.00 | 15.58 | 10.62 | 14.70 | 11.04 | 15.16 | 8.12 |

** Das Signal der Protonen an Position 4 ist vom Lösungsmittelsignal (Aceton) überlagert und der relative Verschiebungswert kann somit nur ungefähr mit 2.03 ppm angegeben werden. ** 6.31-6.38 ppm; Signale können nicht aufgelöst werden. # Eine Analyse der Signale ist nicht möglich.*

Wie bereits in Tab. 3-5 aufgeführt, zeigen sich beim Vergleich der Verschiebungswerte von all-*E*-9-Ethylretinal (**3**) und all-*E*-Retinal (**1**) nur geringe Unterschiede. In gleicher Weise sind die Spektren der jeweiligen Isomere der beiden Verbindungen vergleichbar, so daß die Identifizierung der Isomere mit Hilfe der von Retinal (**1**) vorliegenden Daten erfolgen kann. Signifikant für 9-Et (**3**) sind die Signale der Ethylgruppe. Bei ca. 2.6 ppm erscheinen die Signale der Methylenprotonen zum Quartett aufgespalten, während die Methylgruppe des Substituenten bei ca. 1.1 ppm in Form eines Tripletts detektiert werden. Die Kopplung dieser Protonen weist eine typische Konstante von ca. 7.5 Hz auf, die bei den verschiedenen Isomeren nahezu unverändert bleibt. Das 13*Z*- und das 9*Z*,13*Z*-Isomer ließen sich nicht als Reinsubstanzen, sondern nur als angereicherte Fraktionen isolieren. Dementsprechend sind in den Spektren noch die Signale des jeweils anderen Isomers vorzufinden.

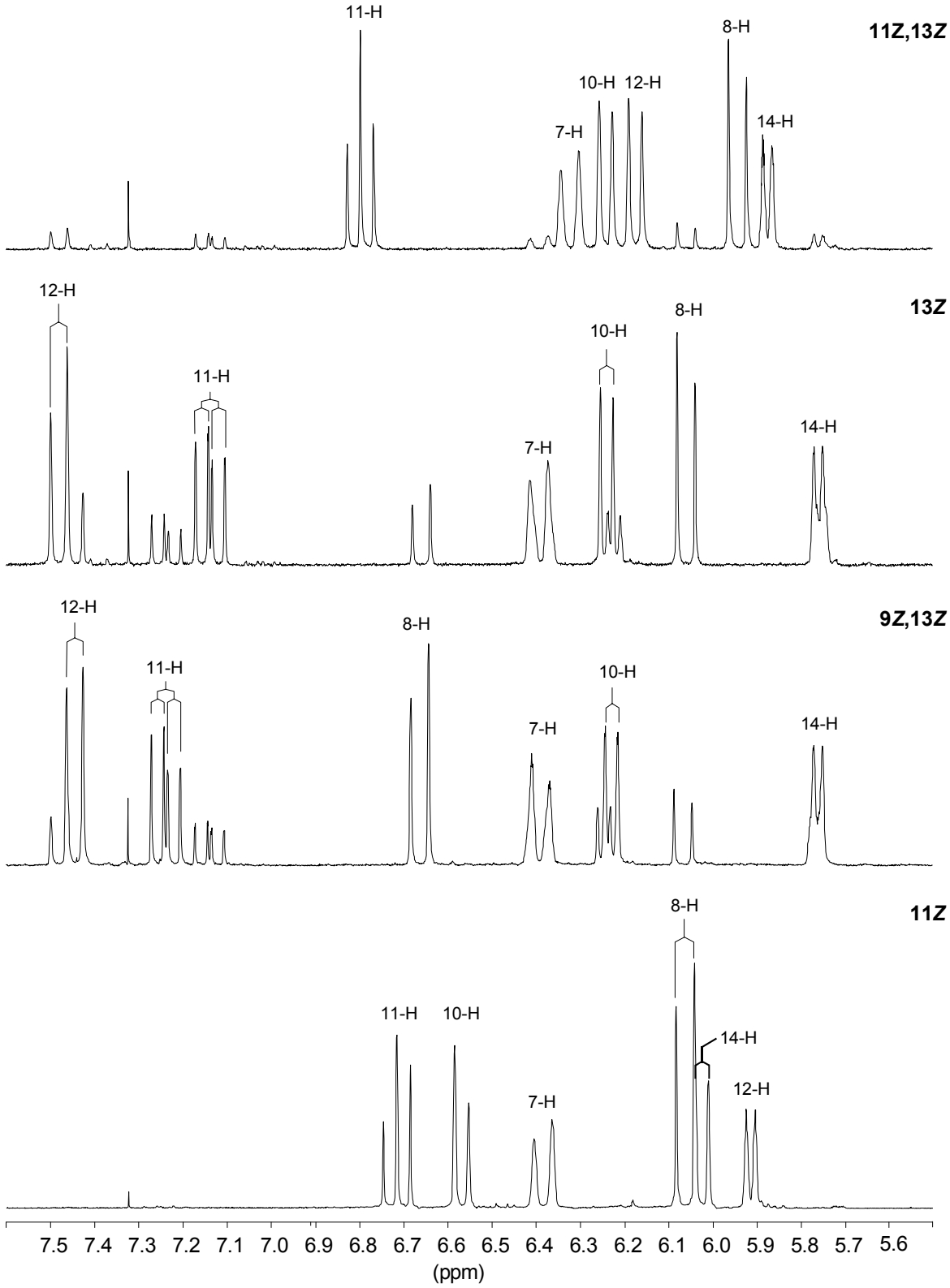



**Abb. 3-33** Ausschnitte aus den $^{1}$H-NMR-Spektren von Isomeren des 9-Ethylretinals (**3**) (Aceton-$d_6$, 400 MHz). Das 11*Z*,13*Z*-Isomer ist durch das 13*Z*-Isomer verunreinigt. Die Spektren des 13*Z*- und 9*Z*,13*Z*-Isomers entstammen einer gemeinsamen Fraktion und enthalten somit jeweils einen Anteil des anderen Isomers.

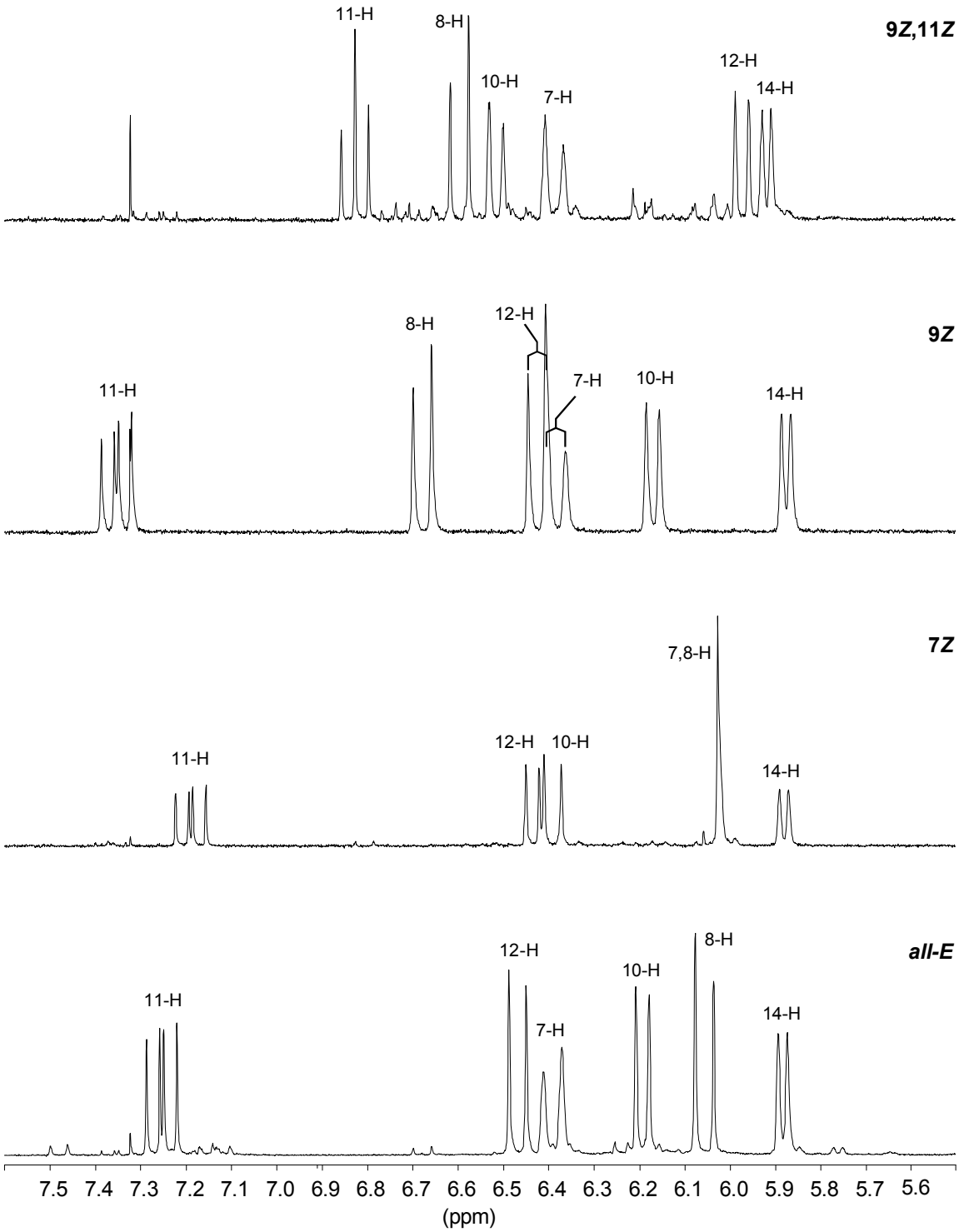



**Abb. 3-34** Ausschnitte aus den $^{1}$H-NMR-Spektren von Isomeren des 9-Ethylretinals (**3**) (Aceton-$d_6$, 400 MHz)

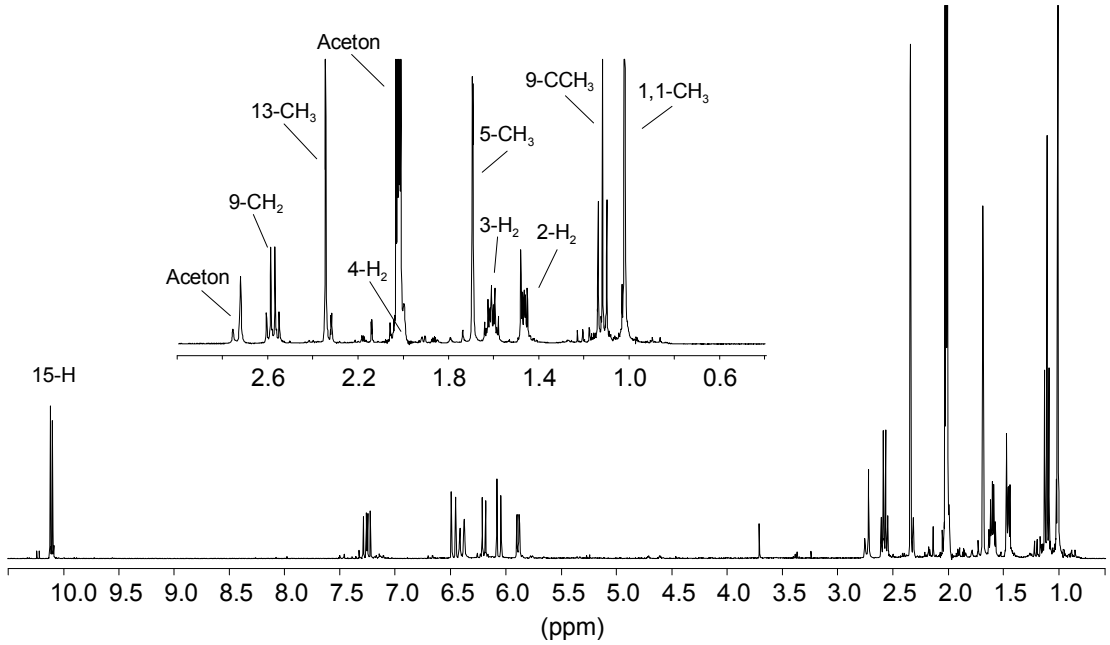



**Abb. 3-35** $^1$H-NMR-Spektrum von all-*E*-9-Ethylretinal (**3**) (Aceton-$d_6$, 400 MHz). Die Zuordnung der aliphatischen Signale zeigt die vergrößerte Darstellung dieses Bereichs.

**Tab. 3-11** $^1$H-NMR-Daten von 9-Ethylretinal (**3**) (Aceton-$d_6$, grau unterlegt: $CDCl_3$)

| | 1,1-$CH_3$ | 2-$H_2$ | 3-$H_2$ | 4-$H_2$ | 5-$CH_3$ | 9-$CH_2$ | 9-$CCH_3$ | 13-$CH_3$ | 7-H | 8-H | 10-H | 11-H | 12-H | 14-H | 15-H |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 11*Z*,13*Z* | 0.99 s | 1.44 m | 1.59 m | 1.99 t | 1.64 s | 2.50 q | 1.09 d | 2.07 d | 6.33 d | 5.95 d | 6.25 d | 6.80 t | 6.18 d | 5.88 d | 9.65 d |
| 13*Z* | 1.02 s | 1.47 m | 1.61 m | * | 1.70 d | 2.57 q | 1.12 d | 2.14 d | 6.40 d | 6.07 d | 6.25 d | 7.14 dd | 7.48 d | 5.77 d | 10.22 d |
| 13*Z* | 1.02 s | 1.46 m | 1.61 m | 2.01 t | 1.70 s | 2.50 q | 1.19 d | 2.12 d | 6.35 d | 6.02 d | 6.12 d | 6.98 dd | 7.26 d | 5.82 d | 10.18 d |
| 9*Z*,13*Z* | 1.03 s | 1.47 m | 1.61 m | * | 1.73 d | 2.42 q | 1.14 d | 2.11 d | 6.39 d | 6.66 d | 6.23 d | 7.24 dd | 7.45 d | 5.76 d | 10.22 d |
| 11*Z* | 1.01 s | 1.46 m | 1.60 m | 2.00 t | 1.68 d | 2.53 q | 1.10 d | 2.38 d | 6.39 d | 6.07 d | 6.57 d | 6.72 t | 6.03 d | 5.92 d | 10.08 d |
| 11*Z* | 1.00 s | 1.45 m | 1.60 m | 2.00 t | 1.69 s | 2.46 q | 1.10 d | 2.33 d | 6.33 d | 5.99 d | 6.44 d | 6.64 t | 5.90 d | 6.06 d | 10.06 d |
| 9*Z*,11*Z* | 1.03 s | 1.47 m | 1.61 m | * | 1.72 d | 2.41 q | 1.12 d | 2.37 d | 6.39 d | 6.60 d | 6.52 d | 6.83 t | 5.98 d | 5.93 d | 10.08 d |
| 9*Z* | 1.03 s | 1.48 m | 1.62 m | * | 1.74 d | 2.41 q | 1.14 d | 2.32 d | 6.39 d | 6.68 d | 6.17 d | 7.36 dd | 6.43 d | 5.88 d | 10.10 d |
| 9*Z* | 1.03 s | 1.48 m | 1.63 m | 2.04 t | 1.74 s | 2.37 q | 1.12 d | 2.29 d | 6.34 d | 6.52 d | 6.08 d | 7.21 dd | 6.31 d | 5.95 d | 10.08 d |
| 7*Z* | 1.05 s | 1.49 m | 1.63 m | 1.96 t | 1.51 s | 2.47 q | 1.01 d | 2.33 d | 6.03 s | 6.03 s | 6.40 d | 7.19 dd | 6.44 d | 5.89 d | 10.10 d |
| 7*Z* | ** | ** | ** | ** | 1.50 s | ** | | 2.29 s | 6.00 d | 6.00 d | 6.35 d | 7.03 dd | 6.23 d | 5.95 d | 10.08 d |
| all-*E* | 1.02 s | 1.46 m | 1.61 m | * | 1.69 d | 2.58 q | 1.11 d | 2.35 d | 6.40 d | 6.06 d | 6.20 d | 7.26 dd | 6.47 d | 5.89 d | 10.10 d |
| all-*E* | 1.01 s | 1.45 m | 1.60 m | 2.01 t | 1.70 s | 2.50 q | 1.13 d | 2.30 d | 6.35 d | 6.01 d | 6.09 d | 7.08 dd | 6.35 d | 5.95 d | 10.09 d |

| | J(3,4) | J(5-$CH_3$,7) | J(9-$CH_2$,9-$CCH_3$) | J(13-$CH_3$,X) | J(7,8) | J(10,11) | J(11,12) | J(14,15) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 11*Z*,13*Z* | 6.23 | - | 7.56 | 0.58 | 16.25 | 11.80 | 11.98 | 8.14 |
| 13*Z* | - | 0.57 | 7.56 | 1.12 | 16.17 | 11.50 | 14.86 | 7.84 |
| 13*Z* | 6.30 | - | 7.60 | 0.88 | 16.19 | 11.54 | 14.82 | 7.96 |
| 9*Z*,13*Z* | - | 0.84 | 7.45 | 1.18 | 16.21 | 11.31 | 14.79 | 7.84 |
| 11*Z* | 6.18 | 0.78 | 7.56 | 1.17 | 16.29 | 12.54 | 12.54 | 7.90 |
| 11*Z* | 5.86 | - | 7.6 | 0.56 | 16.21 | 12.60 | 11.76 | 8.18 |
| 9*Z*,11*Z* | - | 0.71 | 7.48 | 1.17 | 16.04 | 11.8 | 11.80 | 7.86 |
| 9*Z* | - | 0.77 | 7.48 | 1.01 | 16.17 | 11.47 | 15.17 | 7.98 |
| 9*Z* | 6.16 | - | 7.48 | 0.80 | 16.09 | 11.50 | 15.13 | 8.12 |
| 7*Z* | 6.26 | - | 7.46 | 0.92 | - | 11.54 | 15.12 | 7.96 |
| 7*Z* | ** | ** | ** | ** | ** | 11.73 | 15.12 | 8.08 |
| all-*E* | - | 0.80 | 7.56 | 1.00 | 16.23 | 11.50 | 15.08 | 8.02 |
| all-*E* | 6.18 | - | 7.60 | 0.64 | 16.25 | 11.53 | 15.02 | 8.16 |

** Das Signal der Protonen an Position 4 ist vom Lösungsmittelsignal (Aceton) überlagert. Der relative Verschiebungswert kann nur ungefähr mit 2.03 ppm angegeben werden. **Signale können nicht aufgelöst werden.*

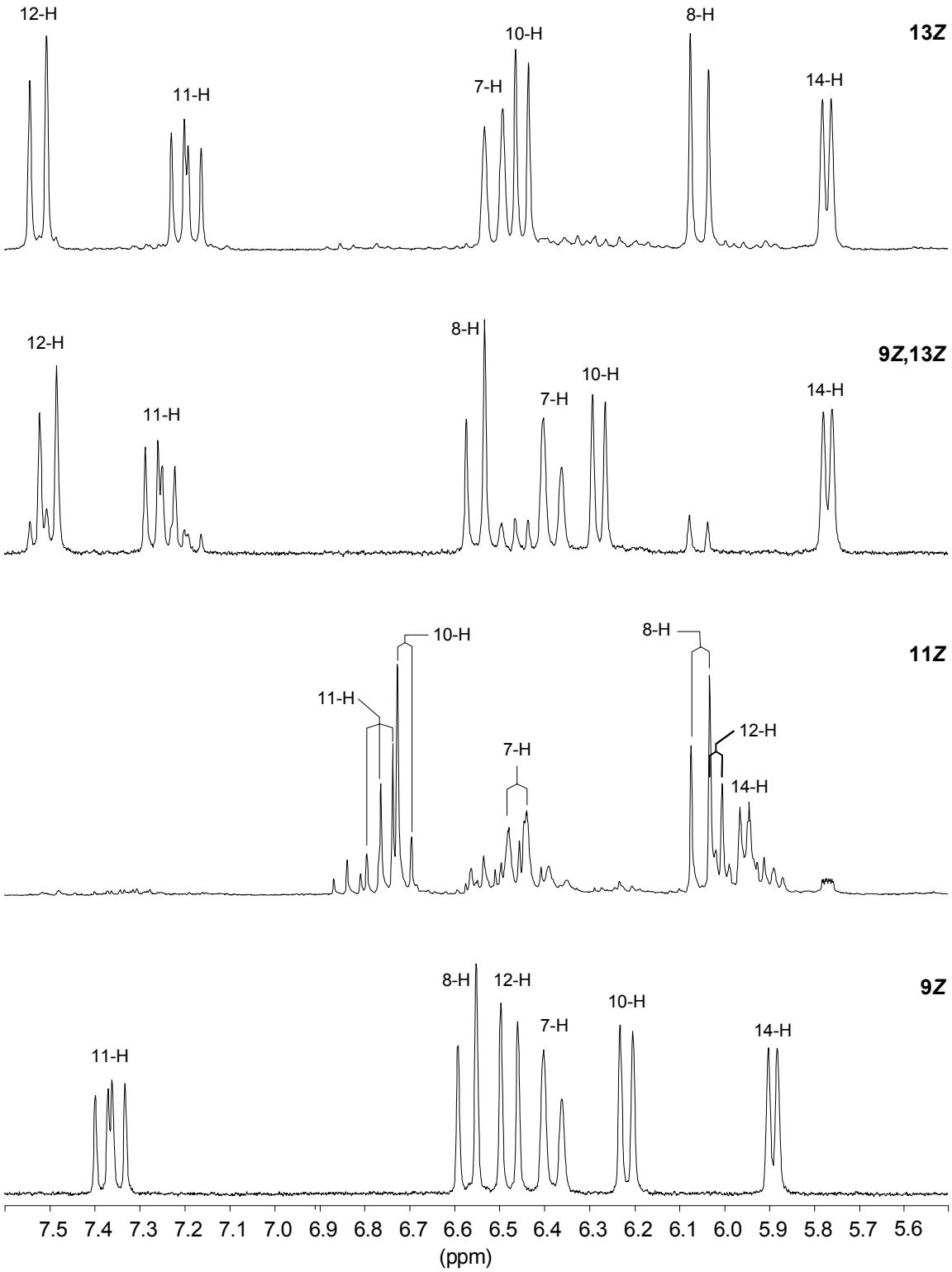



**Abb. 3-36** Ausschnitte aus den $^{1}$H-NMR-Spektren von Isomeren des 9-Isopropylretinals (**4**) (Aceton-$d_6$, 400 MHz). Das 9*Z*,13*Z*-Isomer ist geringfügig durch das 13*Z*-Isomer verunreinigt. Die 11*Z*-Konfiguration von 9-Is konnte nur mit einer Reinheit von maximal 80 % erhalten werden und ist durch ein weiteres, nicht identifizierbares Isomer verunreinigt.

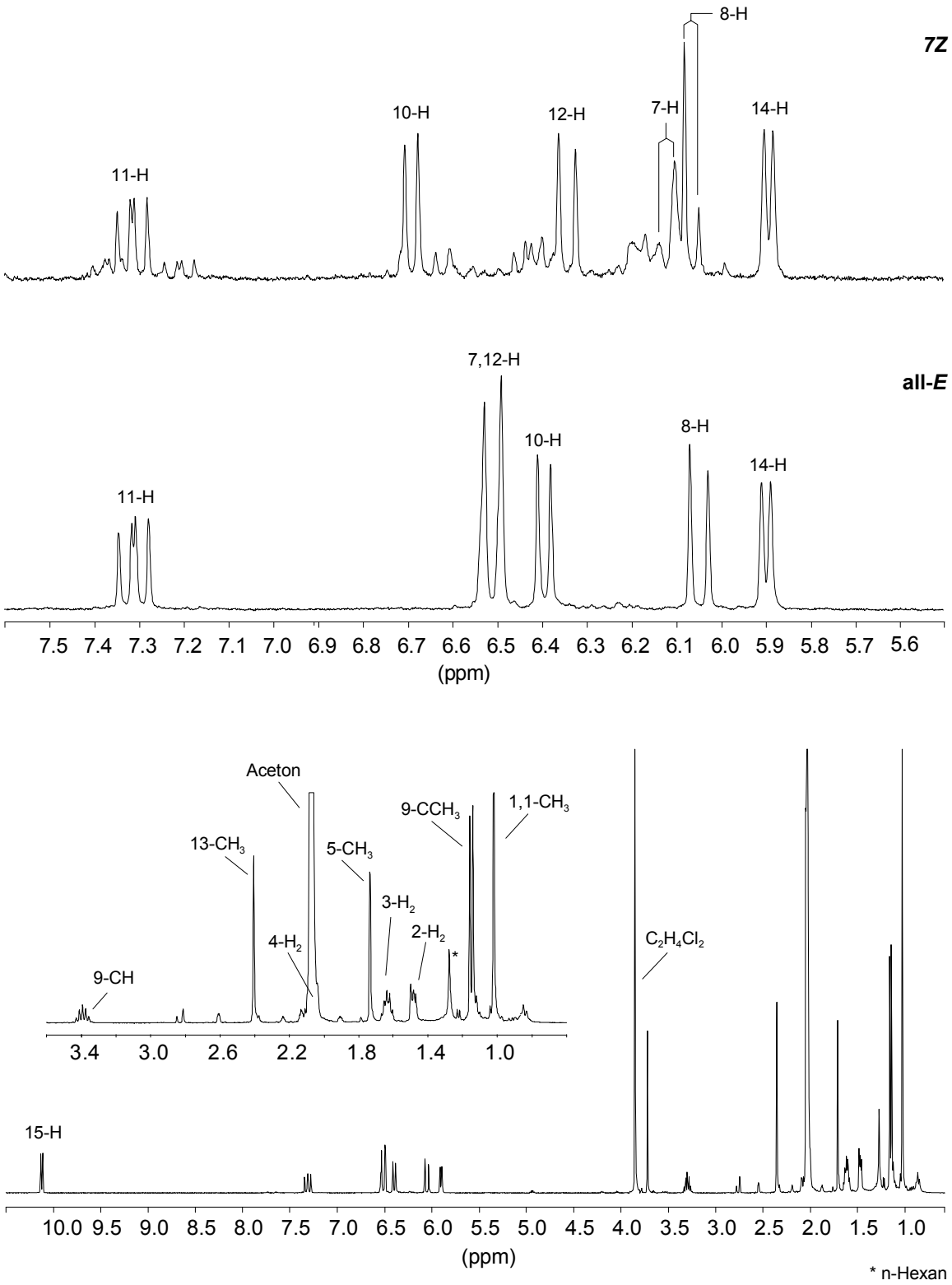



**Abb. 3-37** Ausschnitte aus den $^1$H-NMR-Spektren von Isomeren des 9-Isopropylretinals (**4**) (oben) und das Spektrum des all-*E*-Isomers mit einer vergrößerten Darstellung des aliphatischen Bereichs (unten, Aceton-$d_6$, 400 MHz)

**Tab. 3-12** $^1$H-NMR-Daten von Isomeren des 9-Isopropylretinals (**4**) (Aceton-$d_6$, grau unterlegt: $CDCl_3$)

| | 1,1-$CH_3$ | 2-$H_2$ | 3-$H_2$ | 4-$H_2$ | 5-$CH_3$ | 9-CH | 9-$CCH_3$ | 13-$CH_3$ | 7-H | 8-H | 10-H | 11-H | 12-H | 14-H | 15-H |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 13*Z* | 1.04 s | 1.48 m | 1.62 m | * | 1.72 s | 3.29 q | 1.16 d | 2.15 s | 6.52 d | 6.06 d | 6.45 d | 7.20 dd | 7.53 d | 5.78 d | 10.25 d |
| 9*Z*,13*Z* | 1.06 s | 1.49 m | 1.64 m | * | 1.77 s | 2.87 q | 1.16 d | 2.12 s | 6.39 d | 6.56 d | 6.28 d | 7.26 dd | 7.50 d | 5.78 d | 10.25 d |
| 11*Z* | 1.02 s | 1.47 m | 1.62 m | * | 1.71 d | 3.22 q | 1.14 d | 2.40 d | 6.46 d | 6.06 d | 6.71 d | 6.77 t | 6.02 d | 5.96 d | 10.10 d |
| 9*Z* | 1.05 s | 1.50 m | 1.63 m | * | 1.77 s | 2.87 q | 1.16 d | 2.33 s | 6.39 d | 6.58 d | 6.22 d | 7.35 dd | 6.48 d | 5.90 d | 10.11 d |
| 7*Z* | 1.07 s | 1.52 m | 1.65 m | 1.97 | 1.56 s | 3.27 q | 1.09 d | 2.34 s | 6.13 d | 6.07 d | 6.70 d | 7.32 dd | 6.35 d | 5.90 d | 10.11 d |
| all-*E* | 1.03 s | 1.48 m | 1.62 m | * | 1.72 s | 3.30 q | 1.16 d | 2.36 s | 6.51 d | 6.06 d | 6.40 d | 7.31 dd | 6.51 d | 5.91 d | 10.12 d |
| all-*E* | 1.01 | 1.45 m | 1.60 m | 2.00 | 1.70 s | 3.13 q | 1.15 d | 2.30 d | 6.45 d | 5.99 d | 6.26 d | 7.13 dd | 6.37 d | 5.96 d | 10.09 d |

| | J(3,4) | J(5-$CH_3$,7) | J(9-CH,9-$CCH_3$) | J(13-$CH_3$,X) | J(7,8) | J(10,11) | J(11,12) | J(14,15) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 13*Z* | * | - | 6.98 | - | 16.31 | 11.48 | 14.85 | 7.93 |
| 9*Z*,13*Z* | * | - | 6.82 | - | 16.27 | 11.20 | 15.00 | 7.82 |
| 11*Z* | * | 0.84 | 6.98 | 1.04 | 16.12 | 12.40 | ~12 | 7.92 |
| 9*Z* | * | - | 6.85 | - | 16.21 | 10.36 | 15.12 | 7.98 |
| 7*Z* | 6.56 | - | 6.94 | - | ~13 | 11.76 | 15.00 | 7.98 |
| all-*E* | * | - | 6.98 | - | 16.17 | 11.52 | 15.00 | 8.00 |
| all-*E* | 6.06 | - | 6.96 | 0.80 | 16.09 | 11.60 | 15.00 | 8.14 |

** Das Signal der Protonen an Position 4 ist vom Lösungsmittelsignal (Aceton) überlagert. Der relative Verschiebungswert kann nur ungefähr mit 2.03 ppm angegeben werden.*

Bei der Verbindung 9-Isopropylretinal (**4**) treten die Signale des Substituenten an der Position 9 ebenfalls mit einem signifikanten Aufspaltungsmuster auf. Das Methinproton wird infolge der benachbarten 6 Protonen der Methylgruppen zu einem Septett aufgespalten, während die Methylgruppen als Dublett erscheinen. Die Abb. 3-36 und Abb. 3-37 zeigen die Ausschnitte der $^1$H-NMR-Spektren der von 9-Is (**4**) isolierten Isomere bzw. das Gesamtspektrum der all-*E* konfigurierten Verbindung. Die Tab. 3-12 faßt die Verschiebungswerte zusammen.

Das 9*Z*,13*Z*-Isomer von 9-Is (**4**) konnte wie bei 9-Et (**3**) nur als angereicherte Fraktion mit einer Verunreinigung durch das 13*Z*-Isomers erhalten werden. Das 11*Z*-Isomer war auch nach mehreren Durchläufen der entsprechenden Fraktion in der präparativen HPLC nicht als reine Substanz zu isolieren. Das 7*Z*-Isomer entstand in der Photoisomerisierung nur in sehr kleiner Menge (s. Tab. 3-1, S. 61) und war ebenfalls nicht vollständig aufzureinigen. Bei diesen Isomeren ist eine Zuordnung der Signale zu den Protonen der Polyenkette allerdings trotz der Verunreinigungen gut vorzunehmen.

Bei 10-Methyl-13-demethylretinal (**6**) konnten nur vier Isomere isoliert und charakterisiert werden: Abb. 3-38 und Abb. 3-39 zeigen die Ausschnitte der olefinischen Bereiche der Isomere bzw. das Gesamtspektrum der Verbindung. In Tab. 3-13 sind die Verschiebungswerte der Signale aufgeführt.

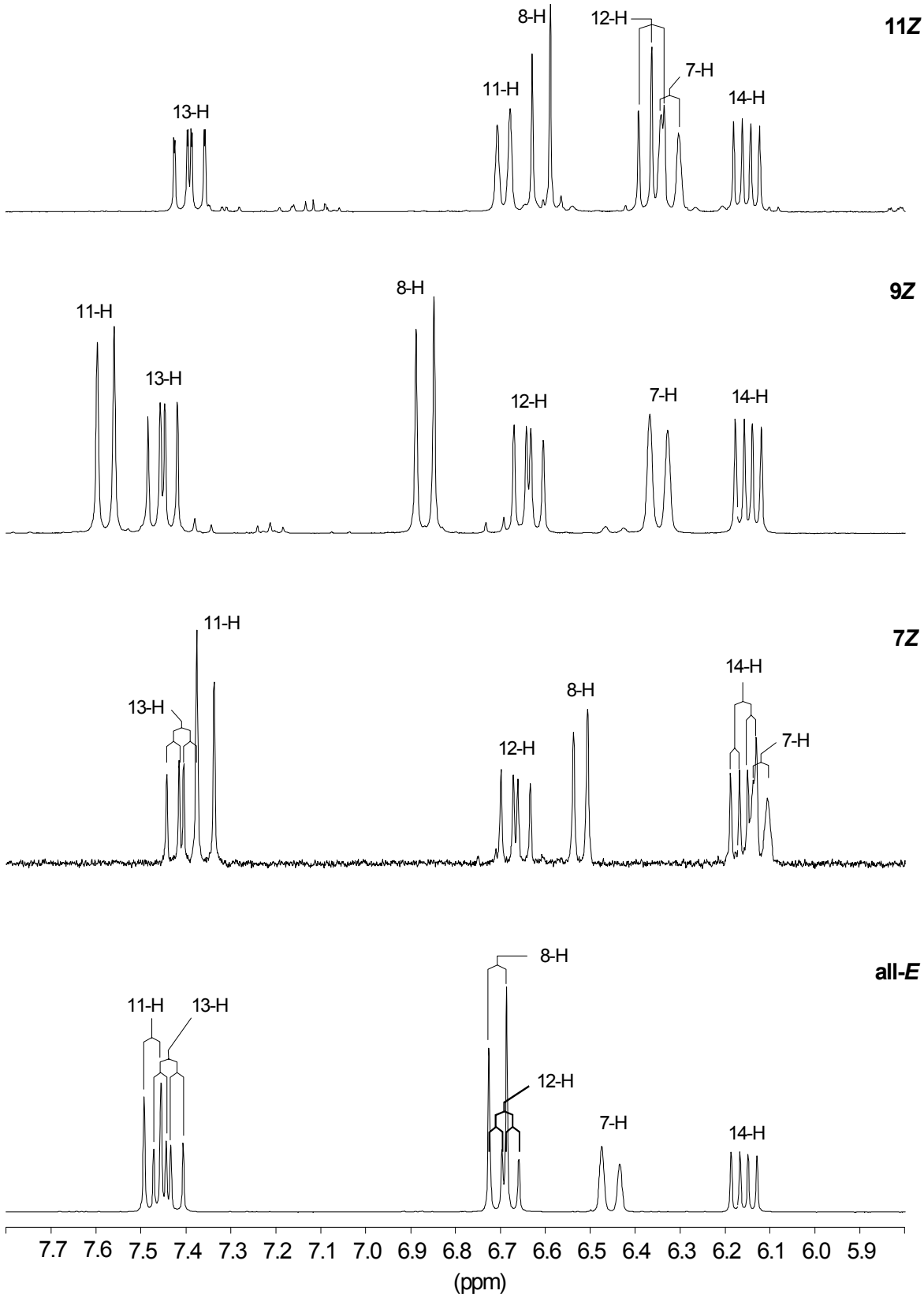



**Abb. 3-38** Ausschnitte aus den $^{1}$H-NMR-Spektren von Isomeren des 10-Methyl-13-demethylretinals (**6**) (Aceton-$d_6$, 400 MHz)

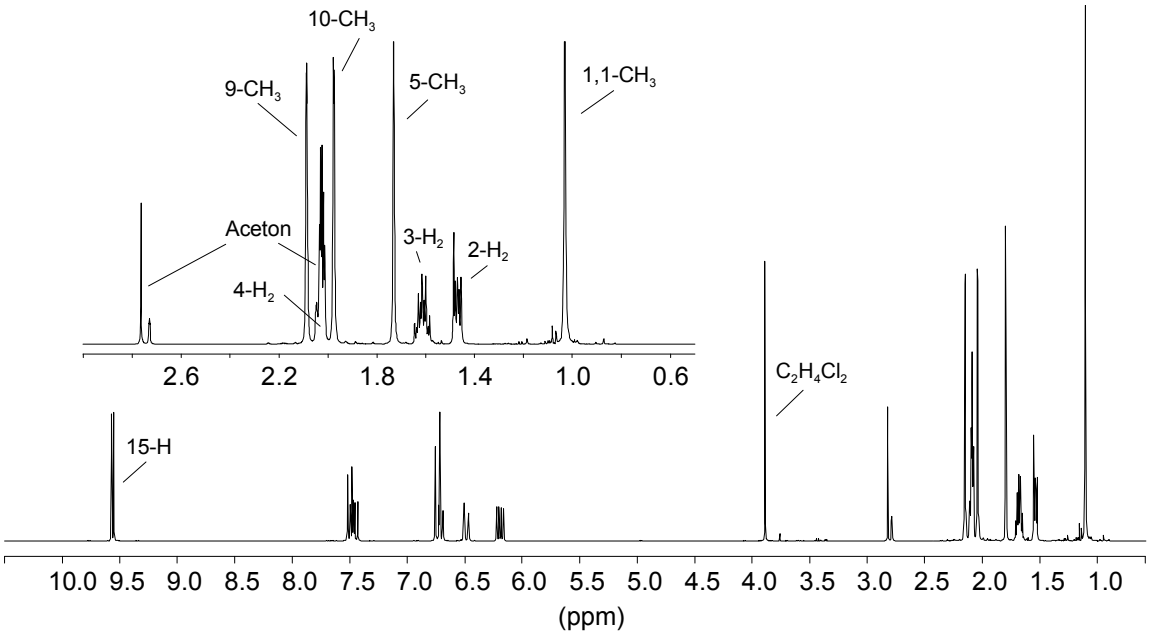



**Abb. 3-39** $^{1}$H-NMR-Spektrum von all-*E*-10-Methyl-13-demethylretinal (**6**). Der Bereich zwischen 0.5 und 3.0 ppm ist für die Zuordnung der Signale vergrößert dargestellt (Aceton-$d_6$, 400 MHz).

**Tab. 3-13** $^{1}$H-NMR-Daten von Isomeren des 10-Methyl-13-demethylretinals (**6**) (hellgrau unterlegt: $CDCl_3$, alle anderen in Aceton-$d_6$, 400 MHz)

| | 1,1-$CH_3$ | 2-$H_2$ | 3-$H_2$ | 4-$H_2$ | 5-$CH_3$ | 9-$CH_3$ | 10-$CH_3$ | 7-H | 8-H | 11-H | 12-H | 13-H | 14-H | 15-H |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 11*Z* | 1.04 s | 1.48 m | 1.62 m | * | 1.74 d | ~2.03 s | 1.88 d | 6.33 d | 6.61 d | 6.69 d | 6.37 t | 7.39 dq | 6.15 dd | 9.58 d |
| 9*Z* | 1.03 s | 1.49 m | 1.63 m | * | 1.74 d | 2.05 s | 1.99 s | 6.36 d | 6.89 d | 7.60 d | 6.65 dd | 7.47 dd | 6.16 dd | 9.55 d |
| 7*Z* | 1.07 s | 1.49 m | 1.63 m | 1.98 t | 1.39 d | 1.93 s | 1.91 s | 6.12 d | 6.52 d | 7.36 d | 6.67 dd | 7.41 dd | 6.17 dd | 9.55 d |
| all-*E* | 1.03 s | 1.47 m | 1.62 m | * | 1.73 d | 2.09 d | 1.98 d | 6.46 d | 6.71 d | 7.47 d | 6.69 dd | 7.44 dd | 6.16 dd | 9.55 d |
| all-*E* | 1.03 s | 1.48 m | 1.61 m | 2.03 t | 1.73 s | 2.06 d | 1.96 d | 6.41 d | 6.66 d | 7.30 d | 6.52 dd | 7.24 dd | 6.17 dd | 9.55 d |

| | J(3,4) | J(5-$CH_3$,7) | J(9-$CH_3$,X) | J(10-$CH_3$,X) | J(7,8) | J(11,12) | J(12,13) | J(13,14) | J(14,15) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 11*Z* | * | 0.80 | - | 1.04 | 16.05 | 11.24 | 11.68 | 15.20 | 7.90 |
| 9*Z* | * | 0.76 | - | - | 15.82 | 14.87 | 11.13 | 15.07 | 7.98 |
| 7*Z* | 6.44 | 0.92 | - | - | 12.52 | 14.98 | 11.04 | 15.16 | 7.98 |
| all-*E* | * | 0.84 | 1.16 | 1.16 | 15.90 | 15.00 | 11.00 | 15.08 | 7.96 |
| all-*E* | 6.44 | - | 0.92 | 0.76 | 16.01 | 14.88 | 11.12 | 15.06 | 8.01 |

* D*as Signal der Protonen an Position 4 ist vom Lösungsmittelsignal (Aceton) überlagert. Der relative Verschiebungswert kann nur ungefähr mit 2.03 ppm angegeben werden.*

Die Substitution der Methylgruppe an Position 13 durch ein Proton läßt bei MD (**6**) im Vergleich zu Retinal (**1**) eine durchgehende $^{3}$J-Kopplung der Polyenketten-Protonen von der Position 11 bis 15 zu. Dementsprechend erscheinen die Signale der Protonen 12, 13 und 14 jeweils zu einem Doppel-Dublett aufgespalten. Für die übrigen Signale kann die Zuordnung, vergleichbar zu 9-dm (**2**), über die Kopplungskonstanten vorgenommen werden. Diese lassen sich infolge der geringen Überlagerung der Signale sicher berechnen.

Im Hochfeldbereich der $^1$H-NMR-Spektren ist das Signal der 10-Methylgruppe zu detektieren. Bei Retinal erscheinen die Signale der Methylgruppen mit einem größeren ppm-Wert in der Reihenfolge ihrer Bezifferung (5- vor 9- $CH_3$ und letztere vor 13-$CH_3$). Die Methylgruppe an Position 10 hingegen liegt in Relation zur 9-$CH_3$-Gruppe bei höherem Feld. Die Unterscheidung der beiden Methylgruppen war anhand der eindimensionalen $^1$H-NMR-Spektren nicht möglich. Eine Zuordnung mit zweidimensionalen, heteronuklearen NMR-Spektren war ebenfalls nicht eindeutig. Die sichere Identifizierung der Signale der jeweiligen Methylgruppe konnte aber mit Hilfe von NOE-Spektren vorgenommen werden. Darin war die über den Raum stattfindende Wechselwirkung zwischen der 9-$CH_3$-Gruppe und dem 7- bzw. 11-H sowie die der 10-$CH_3$-Gruppe mit dem 8- bzw. 12-H deutlich festzustellen.

Insgesamt zeigen sich die ermittelten $^1$H-NMR-Daten von MD (**6**) in Übereinstimmung mit den von *Koch et al.*[117] publizierten.

Bei der Verbindung 10-Methylretinal (**7**) wurde die Identifizierung der Signale der Methylgruppen ebenfalls anhand von NOE-Spektren vorgenommen. Die Reihenfolge der 9- und 10-$CH_3$ Gruppe ist identisch zu MD (**6**) und die zusätzlich vorhandene 13-$CH_3$-Protonen finden sich bei tieferem Feld als die der beiden anderen Methylgruppen. Die Ausschnitte der Isomeren-Spektren und das Gesamtspektrum von all-*E*-10-Me (**7**) sind in Abb. 3-40 sowie Abb. 3-41 dargestellt. Eine Zusammenfassung der $^1$H-NMR-Daten befindet sich in der Tab. 3-14.

Infolge der an der Polyenkette vorhandenen Methylgruppen erscheinen alle Signale der olefinischen Protonen nur zu einem Dublett aufgespalten. Dieses führt insgesamt zu einem vereinfachten Erscheinungsbild, erschwert aber die Zuordnung der Signale aufgrund der wenigen Kopplungen und somit der wenigen Kopplungskonstanten. Die Unterscheidung zwischen den Paaren 11-H/12-H und 7-H/8-H kann teilweise über die typische Verbreiterung des 7-H-Signals erfolgen. Eine eindeutige Zuordnung wurde allerdings erst über Korrelationsspektren erreicht. Zusätzlich konnten Literaturwerte zum Vergleich verwendet werden[115].

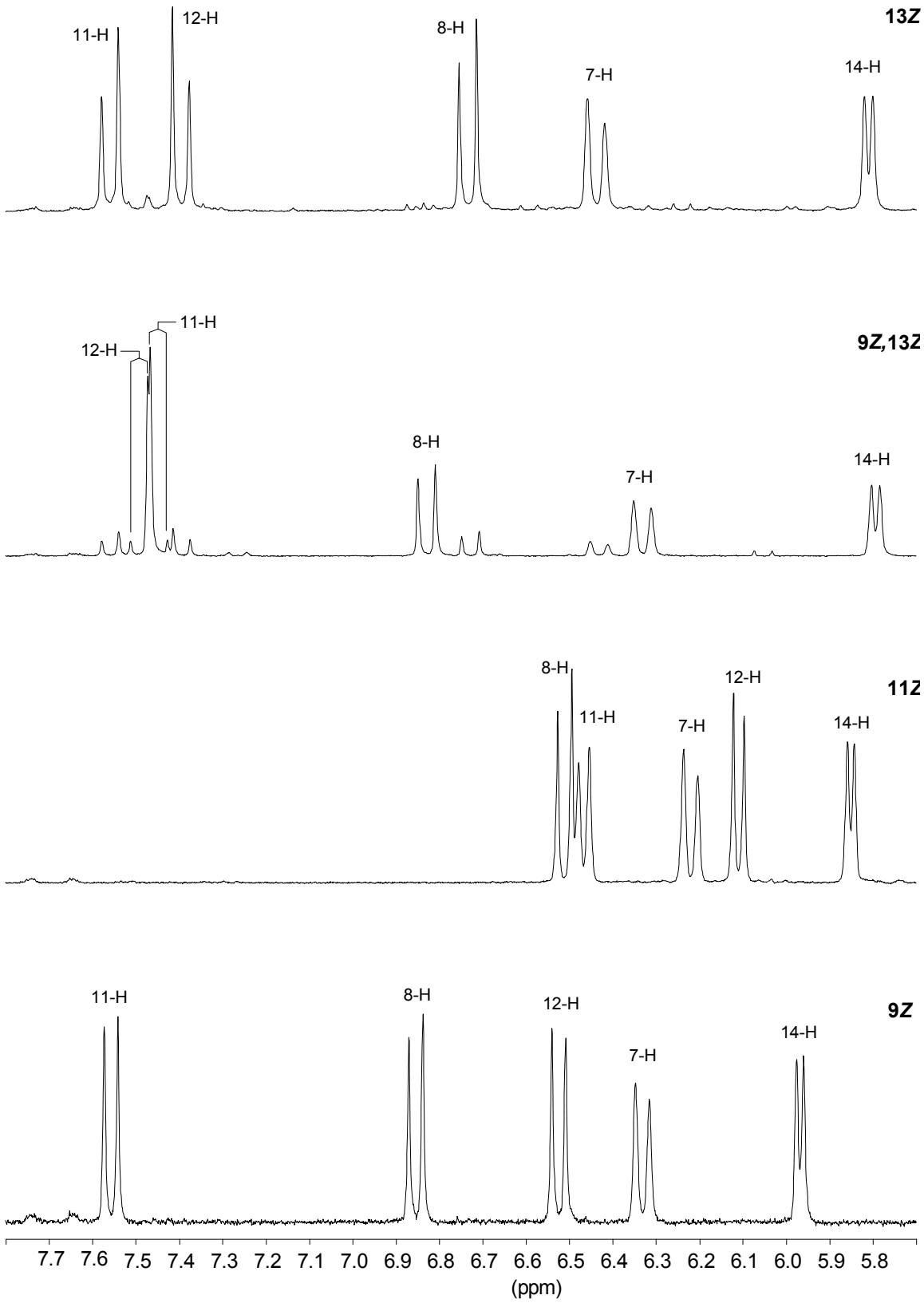
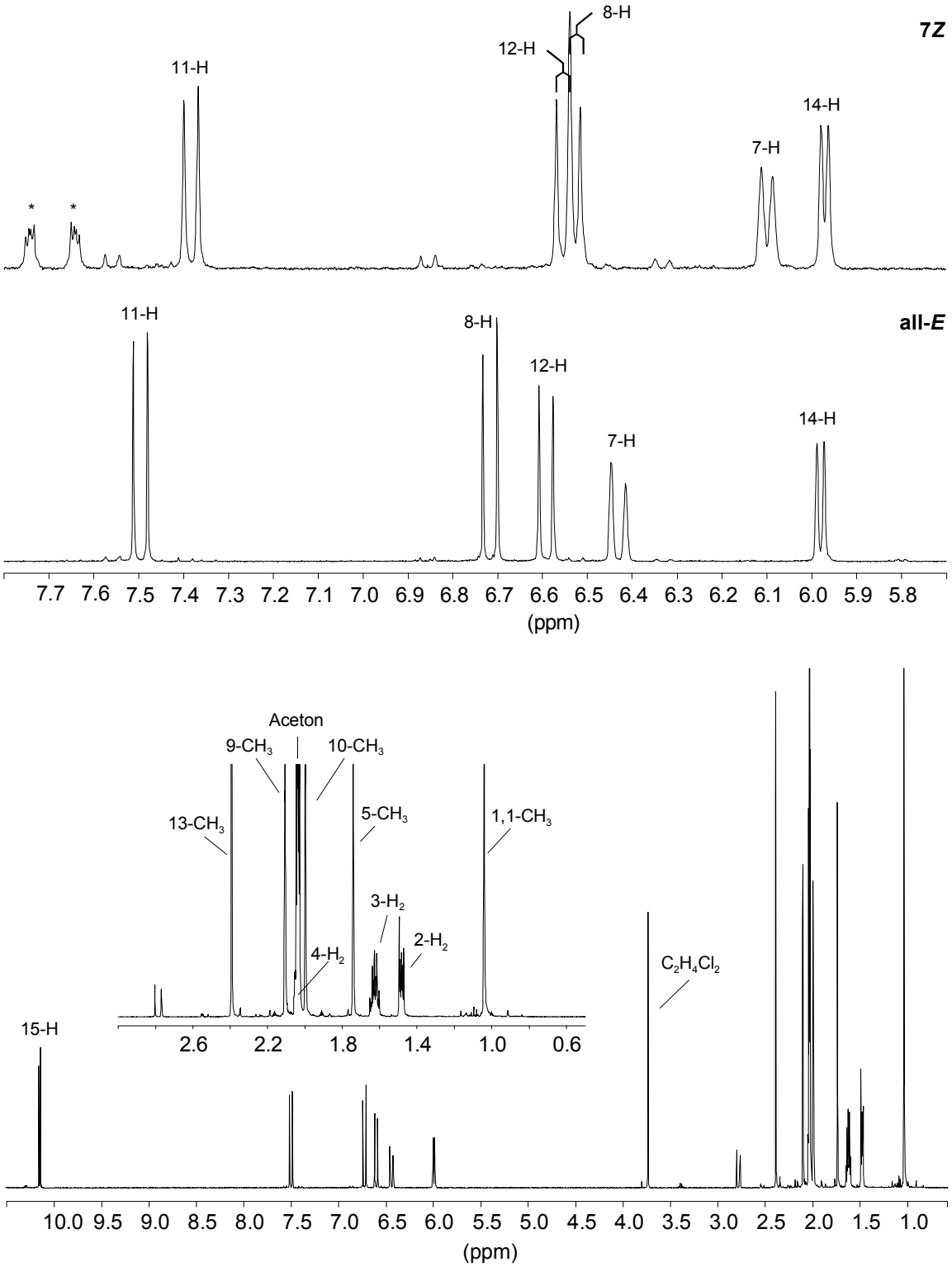



**Abb. 3-40** Ausschnitte aus den $^{1}$H-NMR-Spektren von Isomeren des 10-Methylretinals (**7**) (9*Z*-, 9*Z*,13*Z*- und 11*Z*-Isomer 400 MHz, 9*Z*-Isomer 500 MHz; Aceton-$d_6$). Das Spektrum des 9*Z*,13*Z*-Isomers enthält einen kleinen Anteil der 13*Z* konfigurierten Verbindung.




* Phthalsäureester (Weichmacher)

**Abb. 3-41** Ausschnitte aus den $^{1}$H-NMR-Spektren von Isomeren des 10-Methylretinals (oben) und das Spektrum des all-*E*-10-Methylretinal (**7**) mit Zuordnung der aliphatischen Signale anhand einer vergrößerten Darstellung (unten, 500 MHz; Aceton-$d_6$).

**Tab. 3-14** $^1$H-NMR-Daten von Isomeren des 10-Methylretinals (**7**) (Aceton-$d_6$, hellgrau unterlegt: $CDCl_3$, kursiv: Methanol-$d_4$)

| | 1,1-$CH_3$ | 2-$H_2$ | 3-$H_2$ | 4-$H_2$ | 5-$CH_3$ | 9-$CH_3$ | 10-$CH_3$ | 13-$CH_3$ | 7-H | 8-H | 11-H | 12-H | 14-H | 15-H |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 11*Z* | 1.03 s | 1.48 m | 1.62 m | 2.02 t | 1.72 s | 1.91 s | 1.84 s | 2.24 s | 6.23 d | 6.52 d | 6.47 d | 6.12 d | 5.86 d | 10.07 d |
| 11*Z* | *1.02 s* | *1.49 m* | *1.64 m* | *2.03 t* | *1.71 s* | *1.83 s* | *1.89 s* | *2.24 s* | *6.21 d* | *6.49 d* | *6.50 d* | *6.10 d* | *5.91 d* | *10.01 d* |
| 13*Z* | 1.05 s | 1.49 m | 1.64 m | * | 1.75 s | 2.10 s | ~2.04 s | 2.19 s | 6.44 d | 6.74 d | 7.56 d | 7.40 d | 5.81 d | 10.29 |
| 9*Z*,13*Z* | 1.04 s | 1.49 m | 1.63 m | * | 1.77 s | ~ 2.0 s | ~ 2.04 | 2.14 s | 6.34 d | 6.84 d | 7.45 d | 7.49 d | 5.80 d | 10.27 d |
| 9*Z*,13*Z* | 1.03 s | 1.47 m | 1.62 m | 2.01 t | 1.73 d | 2.02 d | 1.98 d | 2.12 d | 6.27 d | 6.69 d | 7.26 d | 7.38 d | 5.84 d | 10.21 d |
| 9*Z* | 1.05 s | 1.49 m | 1.64 m | * | 1.77 s | ~2.0 s | 1.99 s | 2.35 s | 6.34 d | 6.86 d | 7.56 d | 6.53 d | 5.98 d | 10.13 d |
| 9*Z* | 1.03 s | 1.47 m | 1.62 m | 2.03 t | 1.74 d | 2.01 s | 1.96 s | 2.30 s | 6.27 d | 6.71 d | 7.47 d | 6.35 d | 6.00 d | 10.09 d |
| 7*Z* | 1.08 s | 1.41 m | 1.50 m | 1.99 t | 1.41 s | 1.95 s | 1.93 s | 2.37 s | 6.11 d | 6.53 d | 7.39 d | 6.56 d | 5.98 d | 10.14 d |
| 7*Z* | 1.06 s | 1.47 m | 1.60 m | 1.95 t | 1.38 s | 1.89 s | 1.89 s | 2.31 s | 6.07 d | 6.45 d | 7.28 d | 6.38 d | 6.00 d | 10.10 d |
| all-*E* | 1.03 s | 1.47 m | 1.62 m | * | 1.73 s | 2.09 s | 1.99 s | 2.38 s | 6.42 d | 6.71 d | 7.48 d | 6.58 d | 5.98 d | 10.13 d |
| all-*E* | 1.02 s | 1.46 m | 1.61 m | 2.03 t | 1.72 d | 2.06 d | 1.96 d | 2.33 d | 6.37 d | 6.41 d | 7.39 d | 6.41 d | 6.00 d | 10.09 d |

| | J(3,4) | J(5-$CH_3$,7) | J(9-$CH_3$,X) | J(10-$CH_3$,X) | J(13-$CH_3$,X) | J(7,8) | J(11,12) | J(14,15) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 11*Z* | 6.45 | - | - | - | - | 16.05 | 12.25 | 7.87 |
| 11*Z* | *6.00* | - | - | - | - | *16.01* | *12.20* | *8.12* |
| 13*Z* | * | - | - | - | - | 15.97 | 15.49 | 7.72 |
| 9*Z*,13*Z* | * | - | - | - | - | 15.95 | ~15.75 | 7.66 |
| 9*Z*,13*Z* | 6.44 | 0.64 | 1.08 | 1.04 | 1.04 | 15.97 | 16.01 | 7.90 |
| 9*Z* | * | - | - | - | - | 16.00 | 15.65 | 7.95 |
| 9*Z* | 6.20 | 0.68 | - | - | - | 15.95 | 15.61 | 8.12 |
| 7*Z* | 4.90 | - | - | - | - | 12.45 | 15.70 | 7.97 |
| 7*Z* | 5.10 | - | - | - | - | 12.50 | 15.64 | 8.16 |
| all-*E* | * | - | - | - | - | 16.00 | 15.65 | 7.97 |
| all-*E* | 6.18 | 0.42 | 0.96 | 0.92 | 0.76 | 16.01 | 15.53 | 8.14 |

* *Das Signal der Protonen an Position 4 ist vom Lösungsmittelsignal (Aceton) überlagert. Der relative Verschiebungswert kann nur ungefähr mit 2.03 ppm angegeben werden.*

Die Abb. 3-42 zeigt die Ausschnitte aus den Isomerenspektren von 13-Demethylretinal (**5**). Das Spektrum von all-*E*-13-dm (**5**) ist in der Abb. 3-43 dargestellt. In der Tab. 3-15 sind die zugehörigen Daten zusammengefaßt.

Vom Retinalderivat 13-dm (**5**) wurden ebenfalls nur vier Isomere isoliert und mittels $^1$H-NMR-Spektren charakterisiert. Im Gegensatz zu MD (**6**) ist bei dieser Verbindung in die durchgehende Kopplung noch das Proton an Position 10 der Polyenkette einbezogen und es erscheinen 4 Signale mit einem Dublett-Dublett-Aufspaltungsmuster. In der Literatur sind entsprechende Daten mehrfach publiziert[157,175,176,183-185], so daß die Interpretation der Spektren entsprechend dieser Daten vorgenommen werden konnte.

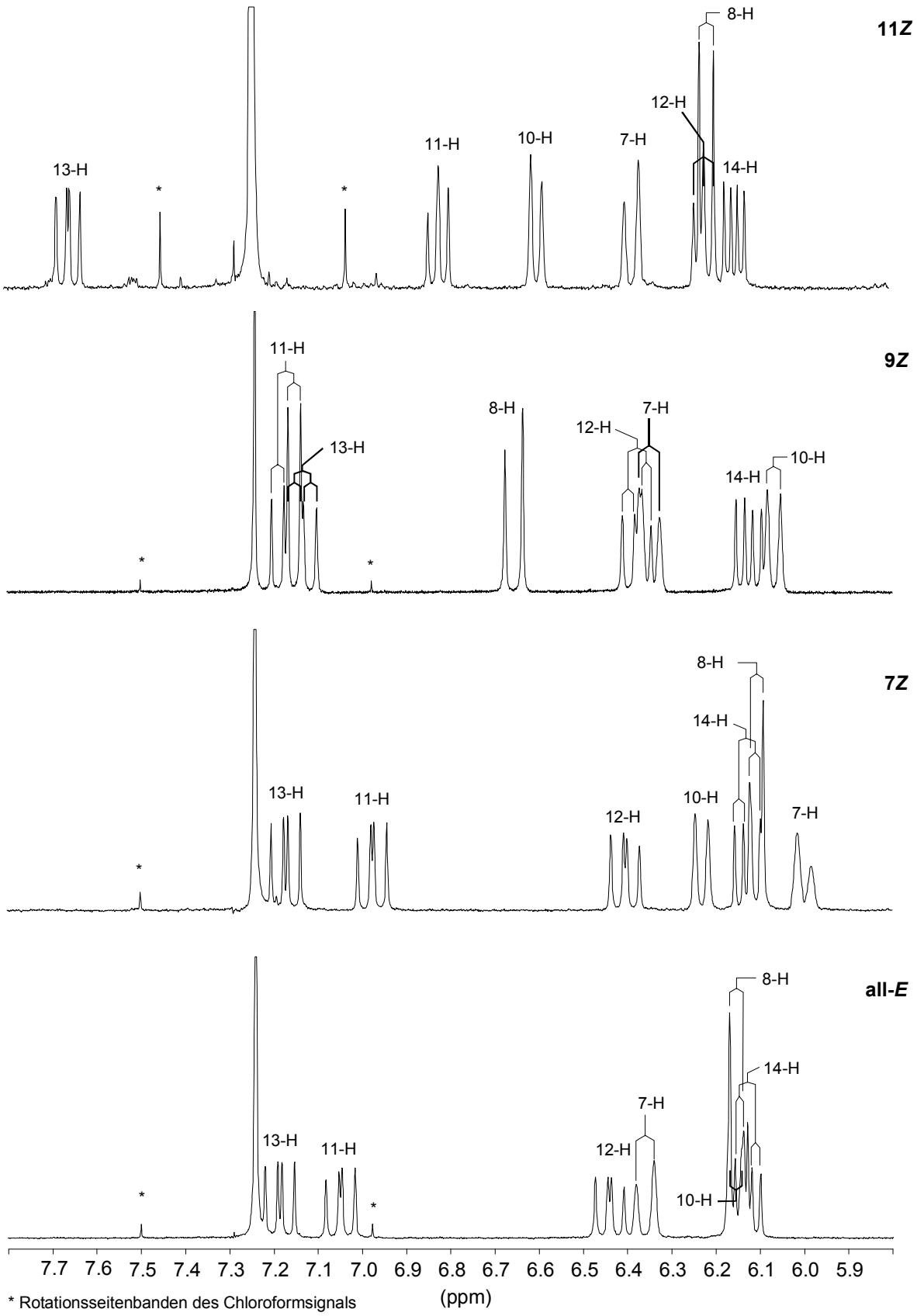



**Abb. 3-42** Ausschnitte aus den $^{1}$H-NMR-Spektren von Isomeren des 13-Demethylretinals (**5**) ($CDCl_3$, 400 MHz)

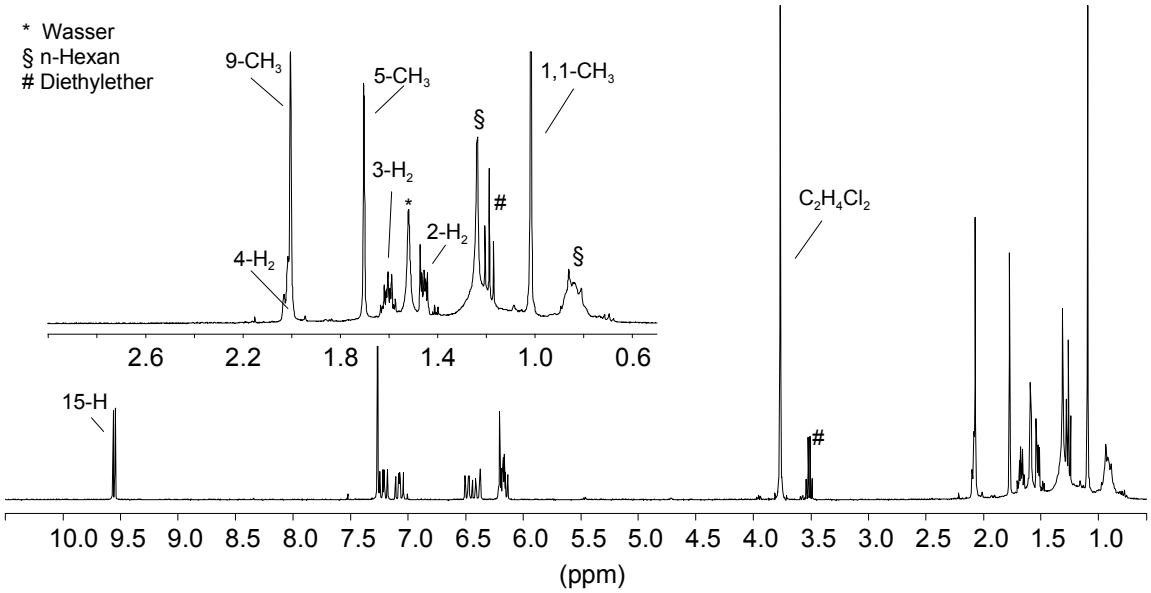



**Abb. 3-43** $^1$H-NMR-Spektrum des all-*E*-13-Demethylretinals (**5**). Aliphatischer Bereich für die Zuordnung der Signale vergrößert ($CDCl_3$, 400 MHz).

**Tab. 3-15** $^1$H-NMR-Daten der Isomere des 13-Demethylretinals (**5**) ($CDCl_3$, 400 MHz)

| | 1.1-$CH_3$ | 2-$H_2$ | 3-$H_2$ | 4-$H_2$ | 5-$CH_3$ | 9-$CH_3$ | 7-H | 8-H | 10-H | 11-H | 12-H | 13-H | 14-H | 15-H |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 11*Z* | 1.03 s | 1.47 m | 1.61 m | 2.03 t | 1.72 s | 2.00 s | 6.38 d | 6.21 d | 6.60 d | 6.82 t | 6.22 t | 7.66 dd | 6.15 dd | 9.61 d |
| 9*Z* | 1.03 s | 1.47 m | 1.62 m | 2.04 t | 1.73 d | 2.01 s | 6.35 d | 6.66 d | 6.07 d | 7.13 dd | 6.37 dd | 7.17 dd | 6.12 dd | 9.53 d |
| 7*Z* | 1.03 s | 1.48 m | 1.62 m | 1.95 dt | 1.49 s | 1.91 s | 6.00 d | 6.11 d | 6.23 d | 6.98 dd | 6.40 dd | 7.15 dd | 6.13 dd | 9.54 d |
| all-*E* | 1.02 s | 1.46 m | 1.61 m | 2.02 t | 1.70 d | 2.00 d | 6.36 d | 6.15 d | 6.15 d | 7.03 dd | 6.44 dd | 7.17 dd | 6.13 dd | 9.55 d |

| | J(3,4) | J(5-$CH_3$,7) | J(9-$CH_3$,X) | J(7,8) | J(10,11) | J(11,12) | J(12,13) | J(13,14) | J(14,15) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 11*Z* | 6.25 | - | - | 15.95 | 12.50 | 11.4 | 12.22 | 14.96 | 7.95 |
| 9*Z* | 5.52 | 0.88 | - | 15.96 | 11.80 | 14.36 | 11.20 | 15.10 | 7.91 |
| 7*Z* | 6.29/ 2.08 | - | - | 12.84 | 11.76 | 14.50 | 11.36 | 15.10 | 7.96 |
| all-*E* | 6.64 | 0.72 | 0.56 | 16.04 | 11.80 | 14.52 | 11.30 | 15.02 | 7.96 |