

Retinoide und Carotinoide, III<sup>1)</sup>**[8,10,12,14,19,19,19,20,20,20-D<sub>10</sub>]Retinale***Hans Jürgen Bestmann\* und Peter Ermann*Institut für Organische Chemie der Universität Erlangen-Nürnberg,  
Henkestraße 42, D-8520 Erlangen

Eingegangen am 18. Februar 1985

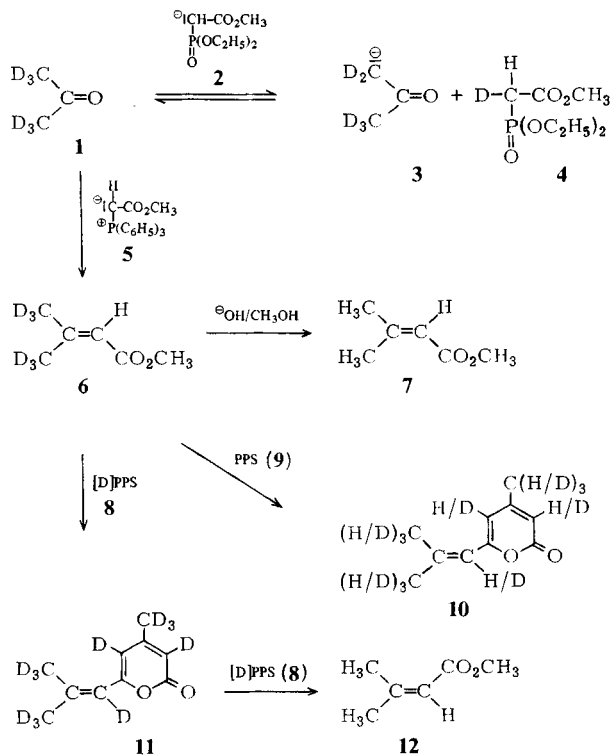
Das perdeuterierte  $\alpha$ -Pyron **11** läßt sich aus Hexadeuterioaceton (**1**) durch Umsetzung mit dem Ylid **5** und anschließende Behandlung des gebildeten [D<sub>6</sub>]Dimethylacrylesters **6** mit Deuteriopolyphosphorsäure (**8**) gewinnen. Bei der gleichen Reaktion von undeutერიertem Ester **12** erfolgt in hohem Maße Einbau von Deuterium unter Bildung von **11**. Letzteres wird in den Aldehyd **13** übergeführt und anschließend durch Wittig-Reaktion mit **14** zum Pyron **15** umgesetzt. Die Ringöffnung von **15** mit NaBH<sub>4</sub>/CH<sub>3</sub>OH/KOH ist mit dem Verlust von fünf Deuteriumatomen verbunden. Es bildet sich die (13Z)-Vitamin-A-Säure **16**. Mit NaBH<sub>4</sub>/CH<sub>3</sub>OD/NaOD erhält man aus **15** die [D<sub>10</sub>]Säure **17**. Selektive Überführung von **17** in den korrespondierenden Aldehyd **18** gelingt nicht. Es bilden sich die Isomeren **18**, **19** und **20**, die sich durch HPLC trennen lassen. **18** und **20** reagieren mit *n*-Butylamin zu den Schiff-Basen **22** und **23**. Die *Z/E*-Isomerisierung **22**  $\rightarrow$  **23** wird nicht von Basen katalysiert. Sie findet jedoch bei 40°C thermisch statt. Dabei wird ein D-Atom gegen ein H-Atom ausgetauscht.

**Retinoids and Carotenoids, III<sup>1)</sup>. – [8,10,12,14,19,19,19,20,20,20-D<sub>10</sub>]Retinals**

The perdeuterated  $\alpha$ -pyrone **11** can be prepared by reacting hexadeuterioacetone (**1**) and the ylide **5** and treating the resulting [D<sub>6</sub>]dimethylacrylic ester **6** with deuteriopolyphosphoric acid (**8**). The same reaction of the nondeuterated ester **12** is accompanied by a high rate of deuterium incorporation yielding **11**. The latter is transformed into the aldehyde **13**. Subsequently **13** is reacted with **14** to give the pyrone **15** in a Wittig reaction. In the course of the ring opening of **15** with NaBH<sub>4</sub>/CH<sub>3</sub>OH/KOH five deuterium atoms are lost, and the (13Z)-vitamin A acid **16** is formed. Reacting **15** with NaBH<sub>4</sub>/CH<sub>3</sub>OD/NaOD produces the [D<sub>10</sub>]acid **17** which cannot be transformed selectively into the corresponding aldehyde **18**. The resulting isomers **18**, **19**, and **20** can be separated by HPLC. **18** and **20** react with *n*-butylamine to give the Schiff bases **22** and **23**. The *Z/E*-isomerization **22**  $\rightarrow$  **23** is not catalyzed by bases. It takes place, however, thermally at 40°C. By this way, one D atom is exchanged for an H atom.

Deuterierte Retinale sind für die Aufklärung noch ungelöster mechanistischer Fragen bei biologisch wichtigen *Z/E*-Isomerisierungen von Schiff-Basen des Retinals von besonderem Interesse<sup>2)</sup>. Unsere kürzlich veröffentlichte Synthese von (13Z)-Retinoidsäuren<sup>1)</sup> eröffnet auch den Zugang zu deuterierten Retinalen. Über deren Synthese sowie die *Z/E*-Umwandlung der Schiff-Base des (13Z)-Retinals mit *n*-Butylamin wird im folgenden berichtet.

Setzt man  $[D_6]$ Aceton (**1**) mit dem Anion **2** des (Diethoxyphosphoryl)essigsäure-methylesters (**4**) in Tetrahydrofuran um, so enthält der gebildete Dimethylacrylester **6** 20% zu wenig Deuterium in den Methylgruppen. Dafür findet man den Einbau von Deuterium in die  $\alpha$ -Stellung zur Esterfunktion. Wir führen dies auf ein der Carbonylolefinierung vorgelagertes Gleichgewicht zwischen **1** und **2** und dem Acetonanion **3** sowie **4** zurück, das einen D/H-Austausch zur Folge hat. Weiter beobachtet man die Bildung des Dimethylacrylsäure-ethylesters, die auf eine Umesterung mit den Ethylgruppen des Phosphonatrestes schließen läßt, die sich eventuell nach Bildung des bei der Horner-Reaktion entstehenden Diethylphosphonates vollzieht.



Setzt man **1** mit dem (Methoxycarbonylmethylen)triphenylphosphoran (**5**) unter Säurekatalyse<sup>3)</sup> im Autoklaven (12 Stunden,  $110^\circ\text{C}$ ) im Molverhältnis 1:1 um, so erhält man **6** ohne Deuteriumverlust. Die geringere Basizität von **5** gegenüber **2** hat das Ausbleiben der Bildung von **3** zur Folge. Bei der Umsetzung von **6** mit methanolischer Kalilauge werden alle Deuteriumatome gegen Wasserstoff zu **7** ausgetauscht. Die Acidität der Methylgruppen von **6** und **7** ist offensichtlich so groß, daß die Bildung der entsprechenden Carbanionen der Esterverseifung den Rang abläuft. Ein Austausch auf der Stufe des Kaliumsalzes erscheint uns wenig wahrscheinlich<sup>4)</sup>.

In früheren Arbeiten wurde die Überführung von Dimethylacrylsäure oder deren Ester in das Pyron **10** mit Polyphosphorsäure (PPS, **9**) beschrieben<sup>9</sup>. Wir fanden nun, daß die Cyclodehydratisierung von **6** das Pyron **10** ergibt, in dem von den möglichen zehn Deuteriumatomen sieben gegen Wasserstoff ausgetauscht sind. Das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum zeigt, daß alle eingebauten H-Atome auf die verschiedenen Positionen im Molekül verteilt sind. Dies Ergebnis läßt vermuten, daß die Bildung von **10** aus **6** über eine Reihe plausibel formulierbarer Carbeniumion-zwischenstufen verläuft, aus denen ein schneller D/H-Austausch mit den Wasserstoffatomen der Polyphosphorsäure erfolgt.

Wir stellten daher aus Phosphorpentoxid und Deuteriumoxid deuterierte Polyphosphorsäure ([D]PPS, **8**) her. In dieser wurde nun **6** zur Reaktion gebracht. Es resultierte das Pyron **11**, in dem von den möglichen 12 Wasserstoffatompositionen 11.5 mit Deuterium besetzt sind (Deuterierungsgrad 95.5%), d.h. daß zusätzlich von den aus **6** stammenden zehn Deuteriumatomen noch 1.5 aus der deuterierten Polyphosphorsäure eingebaut wurden. Die Deuteriumbestimmung erfolgte hier wie in allen anderen Fällen massenspektroskopisch.

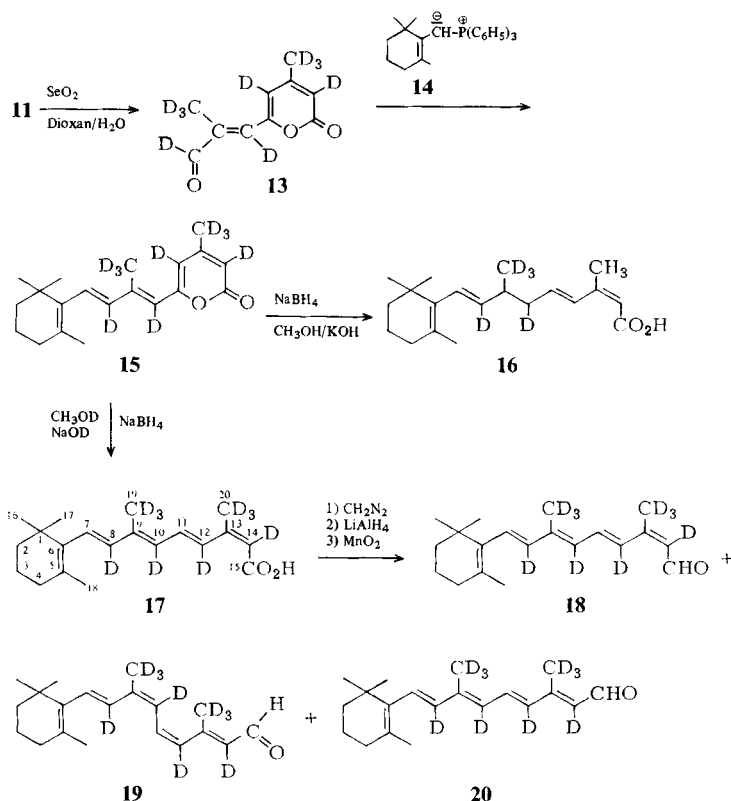
Die bisher aufgeführten Befunde ließen vermuten, daß man auch ausgehend von undeutertem Dimethylacrylsäure-methylester (**12**) mit [D]PPS (**8**) deuteriertes Pyron **11** erhalten sollte. In einem ersten Versuch wurde [D]PPS, die aus 3.9 g Deuteriumoxid und 21.5 g Phosphorpentoxid hergestellt wurde, mit 3.0 g **12** umgesetzt. Läßt man die H-Atome der Estergruppe in **12** unberücksichtigt, so errechnet sich im Gesamtreaktionsansatz ein Verhältnis D:H von 2.1:1. Bei einer vollständigen Verteilung aller D- und H-Atome auf die PPS und **6** sollte ein Pyron mit einem Deuterierungsgrad von 67.7% resultieren. Tatsächlich wurden nach 6stündiger Reaktionszeit 74.8% Deuterium im gebildeten **11** gefunden. Wir führen dies auf eine kinetische Kontrolle des Austausches und die Beteiligung des Isotopeneffektes zurück. Damit in Übereinstimmung steht der Befund, daß bei 16stündiger Reaktion der Deuterierungsgrad auf 69.4% sinkt (thermodynamische Kontrolle). In einem weiteren Experiment wurde das D:H-Verhältnis aller Reaktanden auf 5:1 erhöht (9.2 g D<sub>2</sub>O, 3.0 g **12**). Das resultierende Pyron **11** war nach 6 Stunden zu 85.9 und nach 16 Stunden zu 84.7% deuteriert (theoretischer Wert bei thermodynamischer Gleichverteilung 83.3%).

Da die Cyclodehydratisierung mit Polyphosphorsäure eine, vor allem in der Heterocyclenchemie, weit verbreitete Methode ist<sup>6</sup>, sollte die Verwendung von [D]PPS ein allgemeines Verfahren zur Darstellung deuterierter Verbindungen eröffnen.

Die Oxidation von **11** mit Selendioxid in Dioxan/Wasser verläuft ohne Deuteriumaustausch. Man erhält den Aldehyd **13**<sup>17</sup>. Er läßt sich mit (Cyclogeranylid)triphenylphosphoran (**14**), das aus dem korrespondierenden Phosphoniumsalz nach der Natrium-bis(trimethylsilyl)azid-Methode<sup>8</sup>) dargestellt wurde, glatt zu **15** umsetzen.

Führt man die anschließende reduktive Ringöffnung mit NaBH<sub>4</sub> in Kaliumhydroxid-haltigem Methanol aus<sup>11</sup>, so zeigt das Massenspektrum der gebildeten (13Z)-Vitamin-A-Säure, daß von den zehn Deuteriumatomen in **15** fünf gegen Wasserstoff ausgetauscht werden. Das in Abb. 1 dargestellte <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum zeigt, daß (13Z)-[8,10,19,19,19-D<sub>5</sub>]Vitamin-A-Säure (**16**) vorliegt. Im Bereich der olefinischen Protonen sind neben den Signalen für 7-H und 11-H zwei weitere

Signale zu erkennen, die aufgrund ihrer chemischen Verschiebung und der Aufspaltung 12-H und 14-H zuzuordnen sind. Weiterhin ist erkennbar, daß in der Methylgruppe an C-13 alle D-Atome gegen H ausgetauscht sind. Die zugehörige Signalfäche bei  $\delta = 2.13$  erreicht die des C-5-Methylgruppen-Signals ( $\delta = 1.75$ ). Die Geschwindigkeit der basischen Austauschreaktion ist an den C-Atomen des Pyranonringes und an der mit ihm direkt verbundenen Methylgruppe größer als in den anderen Positionen, was durch die bekannte Mesomerie von Pyranonen, die zu einer Positivierung des Pyranringes führt, erklärbar ist<sup>9)</sup>.



Führt man die beschriebene Reaktion im System  $\text{CH}_3\text{OD}/\text{NaOD}$  mit  $\text{NaBH}_4$  aus, so resultiert (13Z)-[D<sub>10</sub>]Vitamin-A-Säure (17). Wie aufgrund der eben diskutierten Reaktion zu erwarten war, steigt dabei der Deuterierungsgrad der angegebenen Positionen an (15: 95%, 17: > 99%).

Es zeigte sich, daß die Überführung von 17 in den analogen Aldehyd nach verschiedenen Methoden nicht ohne Isomerisierung durchgeführt werden kann. Als günstigstes Verfahren bewährte sich die primäre Überführung von 17 mit Diazomethan in den Methylester, anschließende Reduktion mit  $\text{LiAlH}_4$  und darauffolgende Oxidation mit Mangandioxid, wobei die Zwischenstufen nicht rein iso-

liert wurden. Anschließende Hochdruckflüssigkeitschromatographie ergab als Hauptprodukt drei chromatographisch einheitliche Aldehyde, die als (13Z)-[D<sub>10</sub>]-**(18)**, (9Z)-[D<sub>10</sub>]-**(19)** und (*all-E*)-[D<sub>10</sub>]Retinal **(20)** durch Co-Chromatographie mit undeutertem authentischen Material sowie durch <sup>1</sup>H-NMR- und UV-Spektren identifiziert wurden. Tab. 1 zeigt spektroskopische Daten der deuterierten und undeuterten Aldehyde<sup>10,11)</sup>. Der konstante Deuteriumgehalt zeigt an, daß bei der gesamten Reaktionsfolge **17** → **18**, **19**, **20** kein Austausch eingetreten ist.

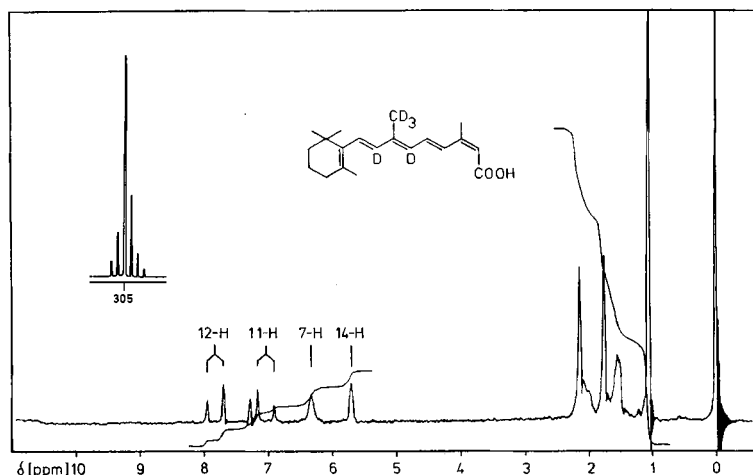


Abb. 1. <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum (CDCl<sub>3</sub>, TMS innerer Standard) und Molpeakcluster der (13Z)-[D<sub>5</sub>]Vitamin-A-Säure (**16**)

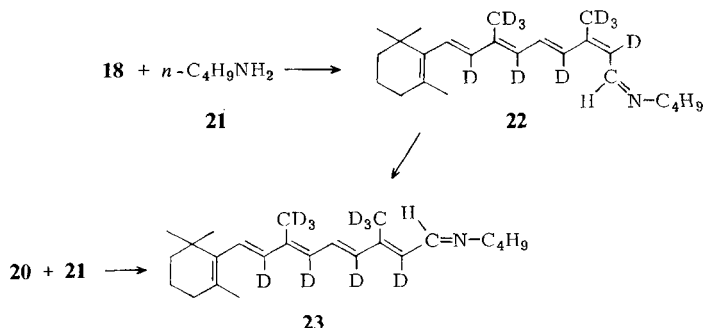
Tab. 1. Spektroskopische Daten der deuterierten Retinale **18**, **19**, **20** im Vergleich zu den entsprechenden undeuterten Verbindungen nach Lit.<sup>10,11)</sup>

| Isomeres                                       | MS (M <sup>+</sup> )<br>(m/z) | D-Gehalt<br>(D-Atome) | <sup>1</sup> H-NMR (δ)<br>7-H, 11-H | <sup>1</sup> H-NMR (δ)<br>CHO | UV<br>λ <sub>max</sub> [nm] |
|------------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------|-------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| (13Z)-[D <sub>10</sub> ]- <b>18</b>            | 294                           | 9.95                  | 6.32, 7.01                          | 10.19                         | 364 (Heptan)                |
| (9Z)-[D <sub>10</sub> ]- <b>19</b>             | 294                           | 9.94                  | 6.31, 7.20                          | 10.09                         | 362 (Heptan)                |
| ( <i>all-E</i> )-[D <sub>10</sub> ]- <b>20</b> | 294                           | 9.93                  | 6.32, 7.12                          | 10.09                         | 369 (Heptan)                |
| (13Z)- <b>18</b>                               |                               |                       | 6.35, 7.05                          | 10.20                         | 365 (Hexan)                 |
| (9Z)- <b>19</b>                                |                               |                       | 6.31, 7.20                          | 10.07                         | 363 (Hexan)                 |
| ( <i>all-E</i> )- <b>20</b>                    |                               |                       | 6.36, 7.15                          | 10.12                         | 371 (Hexan)                 |

Bei der lichtgetriebenen Protonenpumpe in Halobakterien spielt die photochemische 13-*E/Z*-Isomerisierung, der später eine thermische *Z/E*-Rückisomerisierung folgt, einer Schiff-Base des Retinals (eventuell in protonierter Form) eine entscheidende Rolle<sup>12)</sup>.

Mowery und Stoeckenius<sup>13)</sup> untersuchten die *Z/E*-Umwandlung von *N*-(13Z)-Retinylidenbutylaminen und fanden, daß diese durch Basen katalysiert wird<sup>14)</sup>. Für die Isomerisierung wird ein Mechanismus vorgeschlagen, der die Bildung eines

Carbanions an C-20 annimmt. Dieses Postulat sollte sich bei der Verwendung der aus **18** und Butylamin (**21**) gebildeten Schiff-Base **22** prüfen lassen. Sollte intermediär ein Anion auftreten, so müßte bei der basenkatalysierten Isomerisierung zu **23** ein D/H-Austausch erfolgen. Unsere diesbezüglichen Untersuchungen führten zu folgendem Ergebnis:



a)  $^1\text{H-NMR}$ : Die Bedingungen für die Umsetzung von **18** + **21**  $\rightarrow$  **22** wurden analog denen gewählt, wie sie in Lit.<sup>13)</sup> beschrieben werden (7facher Überschuß von *n*-Butylamin). Tab. 1 und 2 zeigen die chemischen Verschiebungen der typischen Protonensignale von **18** und **20** bzw. **22** und **23**.

Tab. 2. Chemische Verschiebungen ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , TMS innerer Standard) der Protonen 7-H, 11-H und  $\text{CH}=\text{N}$  der Schiff-Basen  $[\text{D}_{10}]\text{-22}$  und  $[\text{D}_{10}]\text{-23}$

| Imin                                 | 7-H  | 11-H | $\text{CH}=\text{N}$ |
|--------------------------------------|------|------|----------------------|
| (13Z)- $[\text{D}_{10}]\text{-22}$   | 6.22 | 6.77 | 8.43                 |
| (all-E)- $[\text{D}_{10}]\text{-23}$ | 6.20 | 6.80 | 8.29                 |

Die Bildung der Schiff-Basen **22** und **23** aus den entsprechenden Aldehyden **18** und **20** sowie die Umlagerung **22**  $\rightarrow$  **23** läßt sich besonders gut mittels der Intensitäten der Aldehyd- bzw. der Azomethinimin-Protonensignale verfolgen. Bei der Reaktion **18** + **21** liegen nach 30 Minuten noch Edukt und Produkt nebeneinander vor. Nach 90 Minuten findet man nur noch **22**. Bei der Umsetzung **20** + **21**  $\rightarrow$  **23** ist die Reaktion bereits nach einer Stunde beendet. In allen Fällen wurden die Reaktionsansätze im Dunkeln bei Raumtemperatur aufbewahrt.

Die Z-Verbindung **22** zeigt nach 16 Stunden im Gegensatz zu den in Lit.<sup>13)</sup> beschriebenen Ergebnissen keine Umwandlung zu **23**. Daraufhin wurde die Probe auf  $40^\circ\text{C}$  erwärmt. Nach 3 Stunden konnte man am Auftreten des Protonensignals bei  $\delta = 8.29$  erste Anzeichen einer Isomerisierung erkennen, die sich im Laufe von weiteren 9 Stunden verstärkte. Der Übergang von **22**  $\rightarrow$  **23** konnte jedoch nur bis zu einem Verhältnis von (all-E)-**23** zu (13Z)-Imin **22** von ca. 3:1 verfolgt werden, da bei  $40^\circ\text{C}$  zunehmende Zersetzung eintrat, deren Produkte jedoch nicht weiter untersucht wurden.

b) *UV-Spektroskopie*: Die Reaktion zwischen **18** und **21** wurde außerdem UV-spektroskopisch untersucht; Abb. 2 zeigt das Ergebnis.

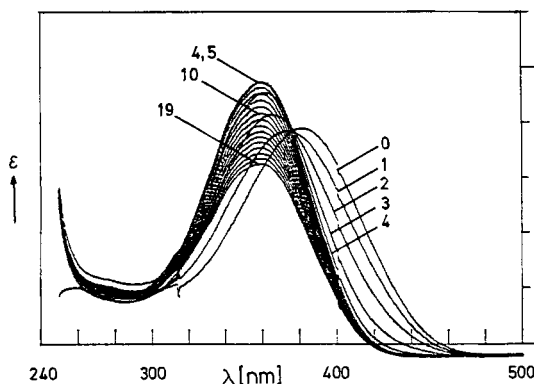


Abb. 2. UV-spektroskopische Verfolgung der Bildung der Schiff-Base **22** aus (13Z)-[D<sub>10</sub>]-Retinal (**18**) (14  $\mu$  M) und Butylamin (100 mM)

Kurve 0: Retinal, 1–5: Bildung des Imins, 5–19: Zersetzung des Imins (Intervallzeit 30 min)

Die Bildung der Schiff-Base **22** macht sich in einer hypsochromen Verschiebung des Hauptmaximums von 382,5 nm für (13Z)-Retinal (**18**) nach 360 nm für **22** bemerkbar. Die Reaktion war nach 2,5 Stunden beendet. Eine anschließende rückwärtige bathochrome Verschiebung nach 365 nm, dem Absorptionsmaximum für **23**, trat nicht ein. Dagegen wurde im Verlauf weiterer Stunden eine Abnahme der Extinktion beobachtet, die darauf schließen läßt, daß sich die Schiff-Base auch bei Raumtemperatur in noch unbekannter Weise zersetzt. Das gleiche Bild ergab sich für die Reaktion des undeutierten Retinals mit **21**. Tab. 3 zeigt die Hauptmaxima in den UV-Spektren der verschiedenen Retinale und ihrer mit **21** gebildeten Imine.

Tab. 3.  $\lambda_{\text{max}}$ -Werte [nm] der Retinale **18**, **19**, **20** und ihrer mit *n*-Butylamin gebildeten Schiff-Basen **22**, **23** in CDCl<sub>3</sub> und C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH; in Klammern sind die Werte für die undeutierten Verbindungen angegeben

| Isomeres                   | Retinal<br>(CDCl <sub>3</sub> ) | Imin      | Retinal<br>(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH) | Imin  |
|----------------------------|---------------------------------|-----------|-----------------------------------------------|-------|
| (13Z)-[D <sub>10</sub> ]   | 382.5 (384)                     | 360 (362) | 377                                           | 362.5 |
| (9Z)-[D <sub>10</sub> ]    | 380                             | 358       |                                               |       |
| (all-E)-[D <sub>10</sub> ] | 387 (389)                       | 365 (366) | 381                                           | 357.5 |

Diese Befunde stehen im Gegensatz zu denen von Lit.<sup>13)</sup>, die unter identischen Bedingungen erhalten wurden. Die Bildung von undeutiertem **22** aus (13Z)-Retinal mit **21** vollzog sich unter bathochromer (!) Verschiebung des Absorptionsmaximums innerhalb von 11 Minuten und die anschließende Isomerisierung zum (all-E)-Imin unter hypsochromer (!) Verschiebung während 200 Minuten. Dies

bedeutet jedoch einen Widerspruch zu den allgemeinen Beobachtungen<sup>15)</sup>, daß die Maxima der Retinale bei längeren Wellenlängen liegen als die der entsprechenden Schiff-Basen und daß sowohl bei den Retinalen als auch bei den Iminen das (*all-E*)-Isomere das längerwellige Maximum besitzt (vgl. Tab. 3).

Auch ein Wechsel des Lösungsmittels von Chloroform zu Ethanol, bei dem die Autoren<sup>13)</sup> eine mehr als hundertfach schnellere Umlagerung beobachteten, brachte bei unseren eigenen Experimenten keine Veränderung. Zwar bildete sich das Imin innerhalb weniger Minuten, doch änderte sich sein Absorptionsmaximum im Verlauf von einer Stunde nicht mehr.

Schließlich wurde auch zu einer (13Z)-[D<sub>10</sub>]Iminlösung von **22** ein großer Überschuß an Triethylamin gegeben, da auch stärkere Basen die Isomerisierung beschleunigen sollten. Das Absorptionsmaximum blieb aber auch in diesem Fall unverändert.

c) *Massenspektroskopie*: Die thermische Isomerisierung von **22** nach **23** wurde massenspektroskopisch verfolgt. Dazu wurden jeweils 1.7 µmol (*all-E*)-[D<sub>10</sub>]-Retinal (**20**) und (13Z)-[D<sub>10</sub>]Retinal (**18**) mit 11.9 µmol *n*-Butylamin (7facher Überschuß) in 1.5 ml Deuteriochloroform zunächst eine Stunde bei Raumtemperatur zur Reaktion gebracht. Anschließend erwärmte man beide Ansätze 48 Stunden auf 40°C unter völligem Lichtausschluß. Abb. 3 zeigt, daß bei der (13Z)-Verbindung **22** nach 48 Stunden das Hauptsignal des Molpeakclusters von  $m/z = 349$  nach  $m/z = 348$  verschoben ist.

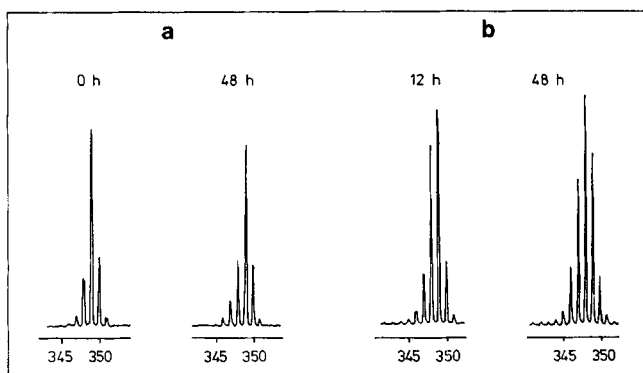


Abb. 3. Molpeakcluster vom (*all-E*)-Imin **23** (a) und (13Z)-Imin **22** (b) nach 0, 12 und 48 Stunden bei 40°C in CDCl<sub>3</sub> in Gegenwart von überschüssigem *n*-Butylamin

Der Deuteriumgehalt nach 48 Stunden errechnet sich zu 8.7 Deuteriumatomen im Molekül. Dies bedeutet, daß im Durchschnitt 1.2 Deuteriumatome gegen Wasserstoff ausgetauscht wurden.

Parallel zu den massenspektroskopischen Untersuchungen wurden auch UV-Spektren zu den angegebenen Zeiten gemessen. Das Absorptionsmaximum der (13Z)-Probe zeigte jedoch dreimal den konstanten Wert von 362.5 nm, der zwischen den Werten für reines (13Z)-Imin (360 nm) und reines (*all-E*)-Imin (365 nm) liegt. Es war daher nicht absolut bewiesen, daß der Austausch der D-Atome gegen

Wasserstoff mit einer *Z/E*-Umwandlung gekoppelt ist. Er könnte eventuell allein durch die Anwesenheit des überschüssigen Amins bedingt sein. Abb. 3 zeigt jedoch, daß bei dem parallelen Versuch mit (*all-E*)-**23** kein Deuteriumaustausch stattfindet, was wir als einen Hinweis darauf ansehen, daß Austausch und Isomerisierung miteinander gekoppelt sind. Zum jetzigen Zeitpunkt kann jedoch nicht gesagt werden, welches der 10 Deuteriumatome ausgetauscht wird. Eine genaue Klärung dieses Phenomens an spezifisch deuterierten Verbindungen wird zur Zeit untersucht.

Prof. Dr. Dr. P. Oesterhelt und Dr. W. Gärtner, Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried, danken wir für die Unterstützung bei den präparativen HPLC-Trennungen.

## Experimenteller Teil

IR: Spectralphotometer Acculab 3, Fa. Beckman. —  $^1\text{H-NMR}$ : Protonenresonanzspektrometer JNM-PMX 60 und JNM-C-60 HL, Fa. Jeol. Die 90-MHz-Spektren wurden mit Geräten der Fa. Bruker gemessen; Tetramethylsilan als innerer Standard. — Massenspektren: Massenspektrometer MAT CH-4 B (EFO-4-B-Quelle, Direkteinlaß), Fa. Varian MAT. — UV/VIS-Spektren: DU-8-UV-Visible-Computing-Spectrophotometer, Fa. Beckman. — Die Schmelzpunkte und Siedepunkte sind nicht korrigiert.

$\beta,\beta$ -Di( $[D_3]$ methyl)acrylsäure-methylester (**6**): 20.0 g (0.31 mol)  $[D_6]$ Aceton, 104.4 g (0.31 mol) (Methoxycarbonylmethylen)triphenylphosphoran<sup>17</sup> und 1.5 g (15.0 mmol) Benzoesäure werden in 600 ml Benzol gelöst und in einen 1-l-Autoklaven übergeführt. Man läßt 12 h bei 110°C reagieren. Nach dem Abkühlen des Autoklaven gießt man das Reaktionsgemisch in ein Becherglas und spült mit Benzol nach. Aus dem Reaktionsgemisch wird das Benzol durch Destillation bei Normaldruck entfernt und zum Rückstand Petrolether gegeben. Es fällt sofort Triphenylphosphanoxid aus. Es wird kurz aufgekocht und nach dem Abkühlen abgesaugt. Das Triphenylphosphanoxid wird zerkleinert und noch zweimal mit Petrolether ausgekocht, um den Ester vollständig herauszulösen. Die vereinigten Petroletherlösungen werden destilliert; Ausb. 14.5 g (39%), Sdp. 48°C/18 Torr (Lit.<sup>18</sup>: 132–134°C/760 Torr, undeutert). — IR (Film): 2200, 2230 (C–D), 1710, 1730  $\text{cm}^{-1}$  (C=O). —  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 2.75 (s, 1H, =CH–), 3.70 (s, 3H,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ). — MS (70 eV):  $m/z$  = 120 (84%,  $\text{M}^+$ ), 89 (100%,  $\text{M} - \text{OCH}_3$ ), 61 (75%,  $\text{M} - \text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 42 (53%,  $61 - \text{CD}_3\text{H}$ ).

Perdeuterierte Polyphosphorsäure ( $[D]$ PPS, **8**): 111.5 g (785 mmol) Phosphorpentoxid werden unter Stickstoffschutz und Ausschluß von Luftfeuchtigkeit tropfenweise mit 47.1 g (2.35 mol) Deuteriumoxid versetzt. Das Reaktionsgefäß wird dabei mit einer Eis/Kochsalz-Mischung gekühlt. Nach beendeter Zugabe wird die Kühlung entfernt und das Gemisch ca. 12 h mit einem KPG-Rührer gerührt. Danach werden in die Deuteriophosphorsäure portionsweise 156.0 g (1.10 mol) Phosphorpentoxid innerhalb von 3 h unter Eis/Kochsalz-Kühlung und Ausschluß von Luftfeuchtigkeit eingetragen. Die Temp. sollte dabei nicht über 30°C ansteigen. Danach wird unter Rühren ca. 6 h auf 80°C erhitzt, wobei die zähflüssige, milchigtrübe Substanz klar wird. Diese  $[D]$ PPS sollte möglichst umgehend weiterverwendet werden.

$[u-D_{12}]\text{-4-Methyl-6-(2-methyl-1-propenyl)-2H-pyran-2-on}$  (**11**): Zu der oben beschriebenen Menge  $[D]$ PPS tropft man innerhalb von 2 h bei 45°C 38.1 g (317.5 mmol) **6**. Anschließend wird das Gemisch 6 h auf 80°C erwärmt, wobei es sich nach Dunkelrot verfärbt. Das dünnflüssige Gemisch wird noch warm zu ca. 1 l Eis/Wasser gegossen und während

1 h vollständig hydrolysiert. Diese Suspension wird fünfmal mit Ether extrahiert und die organische Phase mit Natriumsulfat getrocknet. Der Ether wird i. Vak. entfernt und der teerige Rückstand einer Kugelrohrdestillation unterworfen; Sdp. 100–115°C/0.01 Torr, Ausb. 20.4 g (74%), Schmp. 41–44°C (Lit.<sup>7)</sup>: 49°C, undeutert). — IR (KBr): 1710 cm<sup>-1</sup> (C=O). — MS (70 eV): *m/z* = 176 (56%), 175 (35%), 174 (9%) (M<sup>+</sup>, Deuterierungsgrad 95.6%).

[*u-D*<sub>10</sub>]-2-Methyl-3-(4-methyl-2-oxo-2H-pyran-6-yl)-2-propenal (**13**): 20.4 g (116 mmol) **11** werden zu einer Lösung von 15.6 g (140 mmol) Selendioxid in einer Mischung aus 120 ml Dioxan und 8 ml Wasser gegeben und 12 h unter Rückfluß erhitzt, wobei sich festes Selen abscheidet. Es wird abfiltriert, das Lösungsmittel i. Vak. destilliert, der Rückstand in 130 ml Dichlormethan aufgenommen und die Lösung mit je 50 ml Wasser, viermal mit je 40 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und abschließend noch zweimal mit je 50 ml Wasser gewaschen. Die organische Phase wird mit Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel wird entfernt und der Rückstand aus 25 ml Methanol umkristallisiert; Ausb. 6.7 g (31%), Schmp. 129–131°C (Lit.<sup>5</sup>): 136–137°C, undeutert). — IR (KBr): 1720, 1675 cm<sup>-1</sup> (C=O). — MS (90 eV): *m/z* = 188 (65%), 187 (30%), 186 (6%) (M<sup>+</sup>, Deuterierungsgrad 95.8%).

[3,5-*D*<sub>2</sub>]-4-([*D*<sub>3</sub>]methyl)-6-([1,3-*D*<sub>2</sub>]-2-[*D*<sub>3</sub>]methyl-4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexenyl)-1,3-butadien)-2H-pyran-2-on (**15**): 3.2 g (17.5 mmol) Natrium-bis(trimethylsilyl)amid<sup>8)</sup> werden in 150 ml Benzol gelöst. Zu dieser Lösung gibt man 8.3 g (17.3 mmol) (β-Cyclogeranyl)triphenylphosphoniumbromid<sup>16)</sup>, wobei sofort eine tiefe Rotfärbung eintritt. Man erhitzt noch 1 h unter Rückfluß und läßt dann 3.3 g (17.5 mmol) **13** in 50 ml warmem Benzol zufließen. Es wird eine weitere Stunde unter Rückfluß erhitzt und 2 h bei Raumtemp. gerührt. Man filtriert vom entstandenen Natriumbromid ab, wäscht mit Benzol nach und engt die Benzollösung im Rotationsverdampfer ein. Das Konzentrat wird auf eine Kieselgelsäule aufgetragen (Kieselgel 60, Merck; 2.5 cm × 25 cm) und das Reaktionsprodukt mit Ether eluiert. Der Ether wird im Rotationsverdampfer abdestilliert und der Rückstand aus Methanol umkristallisiert. Die gelben Kristalle werden i. Hochvak. bei 60°C getrocknet; Ausb. 3.1 g (58%), Schmp. 95–97°C (Lit.<sup>19)</sup>: 101.5°C, undeutert). — IR (KBr): 1700 cm<sup>-1</sup> (C=O). — UV (Heptan): λ<sub>max</sub> = 365 nm. — <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.50 (s, br., 1H, 7-H), 1.9–2.2 (m, 2H, =C–CH<sub>2</sub>–), 1.72 (s, 3H, 5-CH<sub>3</sub>), 1.47–1.67 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 1.03 (s, 6H, 1-CH<sub>3</sub>). — MS (70 eV): *m/z* = 308 (65%), 307 (30%), 306 (5%) (M<sup>+</sup>, Deuterierungsgrad 95.8%).

#### Die folgenden Versuche wurden bei Rotlicht durchgeführt!

(13*Z*)-[8,10,12,14,19,19,19,20,20,20-*D*<sub>10</sub>]Vitamin-A-Säure (**17**): In 200 ml CH<sub>3</sub>OD (> 99.9 Atom-% D, Fluka AG, Best. Nr. 31371) werden 1.9 g Natrium (82.6 mmol) unter Wasserkühlung gelöst, und anschließend wird mit 1.65 g (82.5 mmol) Deuteriumoxid versetzt. Zu dieser Mischung gibt man 2.0 g (6.5 mmol) **15** und 1.8 g (47.4 mmol) NaBH<sub>4</sub> und erhitzt dann 6 h unter Rückfluß. Nach dem Erkalten fällt man **17** durch Zutropfen von 240 ml 20proz. Essigsäure aus, filtriert ab (Fritte), wäscht mit Wasser und löst in 40 ml Ether. Man wäscht die Etherlösung zweimal mit je 20 ml Wasser und trocknet mit Natriumsulfat. Die Säure kristallisiert aus wenig Ether bei ca. –18°C als längliche Nadeln aus. Für die weiteren Reaktionen wurde der gesamte nach Entfernen des Ethers verbliebene Rückstand eingesetzt; Ausb. 673 mg (33%), Schmp. 160–170°C (Lit.<sup>20</sup>): 174–175°C, undeutert). — IR (KBr): 1665 (C=O), 1250 cm<sup>-1</sup>. — UV (Heptan): λ<sub>max</sub> (lg ε): 339 nm (4.5). — <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.05 (s, 1H, 11-H), 6.32 (s, br., 1H, 7-H), 1.74 (s, 3H, 5-CH<sub>3</sub>), 1.44–1.70 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 1.05 (s, 6H, 1-CH<sub>3</sub>). — MS (70 eV): *m/z* = 312 (1.8%), 311 (6.4%), 310 (80%), 309 (12.8%) (M<sup>+</sup>, Deuterierungsgrad 99.7%).

*Überführung von 17 in (18 + 10 + 20):* 620 mg (2.0 mmol) **17** werden in 20 ml Ether gelöst und bei 0°C mit zweimal 7 ml einer frisch bereiteten 0.5 M etherischen Diazomethanlösung versetzt. Nach 15 min wird das überschüssige Diazomethan durch Abdestillieren des Ethers i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird in 10 ml Ether aufgenommen und innerhalb von 45 min in eine auf -78°C gekühlte Suspension von 100 mg (2.6 mmol) LiAlH<sub>4</sub> in 30 ml Ether getropft. Man läßt noch 15 min bei -78°C rühren und erwärmt dann die Mischung auf ca. -40°C. Bei dieser Temp. läßt man eine weitere Stunde rühren und erwärmt anschließend bei Raumtemp. Nach Zugabe von 3 ml Essigsäure-ethylester und 1 ml gesättigter Ammoniumchloridlösung wird noch 10 min gerührt und dann vom unlöslichen anorganischen Rückstand abfiltriert (Fritte). Nach Entfernen des Ethers i. Vak. bleibt ein gelbes Öl zurück (ca. 400 mg, 67%). Der Rückstand wird in 40 ml Hexan aufgenommen. Nach Zugabe von 3.0 g (34.5 mmol) Mangandioxid läßt man 2.5 h bei 0°C rühren. Die gesamte Reaktionsmischung wird auf eine Kieselgelsäule aufgebracht (Kieselgel 60, Merck; 2.5 cm × 5 cm), und die deuterierten Vitamin-A-Aldehyde werden mit Ether eluiert. Die Etherlösung wird ca. 12 h mit Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Abdestillieren des Ethers bleibt ein gelbes Öl zurück. — Die präparative Trennung des Isomergemisches wurde unter folgenden Bedingungen durchgeführt. Säule: LiChrosorb Si 60 7 µm, Länge 20 cm, Durchmesser 22.5 mm; Laufmittel: Cyclohexan/Ether = 92:8; Fluß: 11.2 ml/min; Druck: 23 bar; Detektion durch UV-Absorption bei 380 nm.

*(13Z)-[D<sub>10</sub>]Retinal (18):* Ret.-Zeit = 25.0 min. — UV (Heptan): λ<sub>max</sub> = 364 nm. — <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 90 MHz): δ = 1.04 (s, 6H, 1-CH<sub>3</sub>), 1.72 (s, 3H, 5-CH<sub>3</sub>), 1.87–2.15 (m, 2H, 4-CH<sub>2</sub>), 6.32 (s, br., 1H, 7-H), 7.01 (s, br., 1H, 11-H), 10.19 (s, 1H, CHO). — MS (70 eV): m/z = 296 (1.8%), 295 (5.2%), 294 (79%), 293 (14%) (M<sup>+</sup>, Deuterierungsgrad 99.5%); gelbes Öl, Ausb. 19.0 mg (3%, bezogen auf **17**).

*(9Z)-[D<sub>10</sub>]Retinal (19):* Ret.-Zeit = 32.7 min. — UV (Heptan): λ<sub>max</sub> = 362 nm. — <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 90 MHz): δ = 1.05 (s, 6H, 1-CH<sub>3</sub>), 1.75 (s, 3H, 5-CH<sub>3</sub>), 1.89–2.19 (m, 2H, 4-CH<sub>2</sub>), 6.31 (s, br., 1H, 7-H), 7.20 (s, br., 1H, 11-H), 10.09 (s, 1H, CHO). — MS (70 eV): m/z = 296 (1.3%), 295 (6.2%), 294 (78%), 293 (14.5%) (M<sup>+</sup>, Deuterierungsgrad 99.4%); gelbes Öl, Ausb. 21.7 mg (4%, bezogen auf **17**).

*(all-E)-[D<sub>10</sub>]Retinal (20):* Ret.-Zeit = 41.8 min. — UV (Heptan): λ<sub>max</sub> = 369 nm. — <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 90 MHz): δ = 1.03 (s, 6H, 1-CH<sub>3</sub>), 1.71 (s, 3H, 5-CH<sub>3</sub>), 1.80–2.17 (m, 2H, 4-CH<sub>2</sub>), 6.32 (s, br., 1H, 7-H), 7.12 (s, br., 1H, 11-H), 10.09 (s, 1H, CHO). — MS (70 eV): m/z = 296 (2.5%), 295 (3.9%), 294 (78.3%), 293 (15.3%) (M<sup>+</sup>, Deuterierungsgrad 99.3%); gelbes Öl, Ausb. 55.4 mg (9%, bezogen auf **17**).

*Umsetzung der Retinale 18 und 20 mit n-Butylamin (21) und Umlagerung 22 → 23:* Jeweils 3.0 mg (10 µmol) des (13Z)-Retinals **18** und der (all-E)-Verbindung **20** werden in 0.4 ml CDCl<sub>3</sub> gelöst (25.5 mM Retinallösung) und mit jeweils 5.1 mg Butylamin (70 µmol, 7facher Überschuß) versetzt. Anschließend wird alle 30 min ein <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum aufgenommen (NMR-Daten vgl. Tab. 1).

Für die UV-Spektroskopie wird eine Lösung von 0.42 mg (1.4 µmol) (13Z)-Retinal **18** mit 0.73 g (10 mmol) n-Butylamin in 100 ml CDCl<sub>3</sub> hergestellt und das UV-Spektrum alle 30 min aufgenommen.

Massenspektrometrie: Unter Rotlicht werden je 0.5 mg (1.7 µmol) **18** oder **20** in 1.5 ml CDCl<sub>3</sub> gelöst und mit je 0.87 mg (11.9 µmol, 7facher Überschuß) n-Butylamin versetzt. Nach 1 h werden beide Proben im Wasserbad auf 40°C erwärmt und 48 h bei dieser Temp. unter völligem Lichtausschluß gehalten. Nach 12, 24 und 48 h werden aus beiden Lösungen Pro-

ben entnommen, das  $\text{CDCl}_3$  wird durch Überleiten von Stickstoff vertrieben und der Rückstand im Massenspektrometer untersucht.

- <sup>1)</sup> II. Mitteilung: H. J. Bestmann und P. Ermann, Liebigs Ann. Chem. **1984**, 1740.
- <sup>2)</sup> <sup>2a)</sup> M. R. Fransen, I. Palings, J. Lugtenburg, P. A. A. Jansen und G. W. T. Gronendijk, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas **99**, 384 (1980). — <sup>2b)</sup> G. Eyring, B. Curry, R. Mathies, A. Broek und J. Lugtenburg, J. Am. Chem. Soc. **102**, 5390 (1980). — <sup>2c)</sup> A. D. Broek und J. Lugtenburg, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas **99**, 363 (1980). — <sup>2d)</sup> A. D. Broek und J. Lugtenburg, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas **101**, 102 (1982). — <sup>2e)</sup> B. Curry, A. Broek, J. Lugtenburg und R. Mathies, J. Am. Chem. Soc. **104**, 5274 (1982).
- <sup>3)</sup> C. Rüchardt, P. Panse und H. Eichler, Chem. Ber. **100**, 1144 (1967).
- <sup>4)</sup> Es sei auf die Bildung eines Dianions mit stärkeren Basen als  $\text{OH}^-$  hingewiesen. — <sup>4a)</sup> E. M. Kaiser, J. D. Petty und P. L. A. Knudson, Synthesis **1977**, 509. — <sup>4b)</sup> I. Casinos und R. Mestres, J. Chem. Soc. **1978**, 1651. — <sup>4c)</sup> C. A. Henrick, W. E. Wiley, D. R. McKean, E. Baggiolini und J. B. Siddall, J. Org. Chem. **40**, 8 (1975).
- <sup>5)</sup> Hoechst AG (Erf. G. Lohhaus) D.B.P. 1165041 (31. Januar 1964) [Chem. Abstr. **60**, 11990f (1964)].
- <sup>6)</sup> <sup>6a)</sup> F. Uhlig, Angew. Chem. **66**, 435 (1954). — <sup>6b)</sup> F. D. Popp und W. E. McEwen, Chem. Rev. **58**, 321 (1958). — <sup>6c)</sup> F. Uhlig und H. R. Snyder, Adv. Org. Chem. **1**, 35 (1960). — <sup>6d)</sup> J. P. Marte und S. Munavelli, Bull. Soc. Chim. Fr. **1963**, 2679.
- <sup>7)</sup> Hoechst AG (Erf. G. Lohhaus und C. Beermann), D.B.P. 1159962 (27. Dezember 1963) [Chem. Abstr. **60**, 13277b (1964)].
- <sup>8)</sup> H. J. Bestmann, W. Stransky und O. Vostrowsky, Chem. Ber. **109**, 1694 (1976).
- <sup>9)</sup> Vgl. Elektronendichten am Pyron: J. A. Reed, C. L. Schilling, R. F. Tarvin, T. A. Rettig und J. K. Stille, J. Org. Chem. **34**, 2188 (1969).
- <sup>10)</sup> NMR-Daten: D. J. Patel, Nature (London) **221**, 826 (1969).
- <sup>11)</sup> UV-Daten: W. Sperling, Privatmitteilung, unveröffentlicht.
- <sup>12)</sup> Übersicht: W. Stoeckenius, Acc. Chem. Res. **13**, 337 (1980).
- <sup>13)</sup> P. C. Mowery und W. Stoeckenius, J. Am. Chem. Soc. **101**, 414 (1979).
- <sup>14)</sup> Vgl. dazu D. Lukton und R. R. Rando, J. Am. Chem. Soc. **106**, 258, 4525 (1984).
- <sup>15)</sup> A. M. Schaffer, W. H. Waddell und R. S. Becker, J. Am. Chem. Soc. **96**, 2063 (1974).
- <sup>16)</sup> BASF AG, Britisches Pat. 812522 (29. April 1959) [Chem. Abstr. **53**, 19975f (1959)]; H. Pommer, Angew. Chem. **72**, 811 (1960).
- <sup>17)</sup> O. Isler, H. Gutmann, M. Montavon, R. Rüegg, G. Ryser und P. Zeller, Helv. Chim. Acta **40**, 1242 (1957).
- <sup>18)</sup> K. V. Auwers und F. König, Liebigs Ann. Chem. **496**, 252 (1932).
- <sup>19)</sup> P. Ermann, Diplomarbeit, Univ. Erlangen-Nürnberg 1979.
- <sup>20)</sup> C. D. Robeson, J. D. Cawley, L. Weisler, M. H. Stern, C. C. Eddinger und A. J. Chechak, J. Am. Chem. Soc. **77**, 4111 (1955).

[35/85]