

Department für Pharmazeutische/Medizinische Chemie, Institut für Pharmazie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität, Greifswald, Germany

Spektroskopische und chromatographische Untersuchungen zur photochemischen Isomerisierung von α,β -diungesättigten Ketonen

M. SCHLEUDER, F. AM ALI, H.-H. OTTO

Eingegangen am 13. November 2002, angenommen am 18. November 2002

Dr. M. Schleuder, Abteilung Pharmazeutische und Medizinische Chemie, Institut für Pharmazie, Friedrich-Ludwig-Jahn Str. 17 D-17489 Greifswald, Germany

Pharmazie 58: 308–311 (2003)

Spektroskopische (UV, IR, NMR, MS) und chromatographische (HPLC, GC) Untersuchungen zeigen, dass bei α,β -diungesättigten Ketonen, deren eine Doppelbindung in einem Cyclohexen-, Furan oder Thiophenring fixiert ist, in Lösung bei Lichteinwirkung in den meisten Fällen eine photochemische *Z/E*-Isomerisierung auftritt. IR- und NMR-spektroskopische Konformeruntersuchungen werden dadurch bei üblicher Arbeitsweise jedoch nicht beeinträchtigt und es ist kein Lichtschutz erforderlich.

Spectroscopic and chromatographic investigations of the photochemical isomerization of α,β -diunsaturated ketones

Spectroscopic (UV, IR, NMR, MS) and chromatographic (HPLC, GC) investigations show for α,β -unsaturated ketones with one double bond fixed in a cyclohexene-, furan- or thiophene ring in most examples a photochemical *Z/E*-isomerization in solution by the influence of light. Investigations of conformers by IR and NMR however are not influenced during usual operations and light protection is not necessary.

1. Einleitung

Vor Untersuchungen zur Konformation [1] von α,β -diungesättigten Ketonen vom Typ des 1,4-Pentadien-3-on (s. Tabelle) interessierte die Frage, ob bei den in Lösung durchgeführten spektroskopischen Messungen durch Lichteinfluss auch eine teilweise photochemische Umwandlung des primär vorliegenden *E*-Isomeren [1–3] auftritt und daher Lichtschutz erforderlich ist.

2. Untersuchungen, Ergebnisse und Diskussion

2.1. UV-Spektroskopie und HPLC

Bei der Bestrahlung von 2 mg%-igen methanolischen Lösungen der (*E*)- α,β -diungesättigten Ketone **4a**, **4b** und **4f** (s. Tabelle) im Tages- oder UV-Licht wurden bei der Aufnahme von UV-Spektren nach bestimmten Zeiten Kurvenscharen mit einem isobestischen Punkt erhalten, die für ein sich kontinuierlich änderndes Gleichgewicht von 2 Stoffen sprechen (Abb. 1).

Während bei der Bestrahlung mit UV-Licht bereits nach wenigen Minuten keine weitere Änderung des UV-Spektrums mehr festzustellen war, dauerte dies im Tageslicht und in Abhängigkeit von der Lichtintensität und Konzentration erheblich länger.

Die Verbindung **4e** zeigte dagegen bei der Bestrahlung mit UV- und Tageslicht keine Veränderung des Spektrums.

Die hypsochrome Verschiebung des längerwelligen Maximums von **4a** (vgl. Abb. 1) spricht für die Bildung einer Verbindung mit kürzerwelligem Maximum. Die Abtren-

nung der durch Lichteinwirkung erhaltenen Verbindungen aus **4a** und **4f** durch RP18-HPLC mit Wasser/Acetonitril 1:1 als mobiler Phase und Entnahme der reinen UV-Spektren mit Hilfe des Diodenarraydetektors bestätigten diese Vermutung. Der nach Bestrahlung neu auftretende Peak hatte in beiden Fällen die kleinere Retentionszeit und das kürzerwellige UV-Maximum (242 nm gegenüber 304 nm bei **4a** und 302 nm gegenüber 316 nm bei **4f**). Die Bildung einer durch Licht entstandenen neuen Verbindung mit kürzerwelligem UV-Maximum spricht für die Ent-

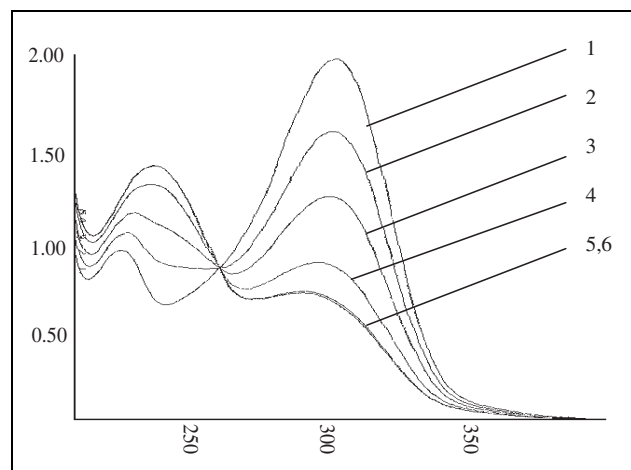
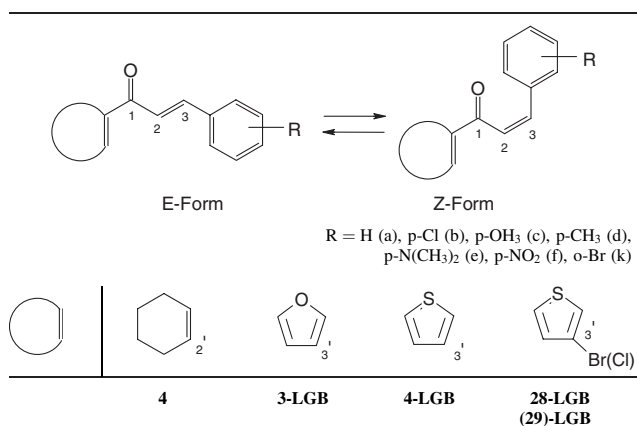


Abb. 1: Kurvenschar einer unbestrahlten (1), gefolgt von in der gleichen Küvette 30 s (2), 1 min (3), 2 min (4), 4 min (5) und 10 min (6) mit UV-Licht bestrahlten methanolischen Lösung von **4a**

Tabelle: Untersuchte Verbindungen



Verbindung	Z/E-Verhältnis in %	Gesamtretentionszeit Z/E in min
4a	85,4/14,6	5,55/10,02
4d	79,4/20,6	7,33/14,69
4e	0/100,0	—/80,81
4b	85,8/14,2	9,95/19,47
4f	73,2/26,8	20,35/39,25(*)
4k	87,1/12,9	9,92/23,08
4a-LGB	75,9/24,1	6,88/11,68
4b-LGB	67,1/32,9	13,08/23,54
4c-LGB	28,8/71,2	12,52/22,97(*)
4e-LGB	0/100,0	—/64,26(*)
3a-LGB	57,9/42,1	4,35/6,32
3b-LGB	51,0/49,0	7,62/11,77
3c-LGB	23,2/76,8	11,08/18,00
28a-LGB	70,9/29,1	13,30/25,40
28b-LGB	38,7/61,3	18,60/31,25(*)
28e-LGB	0/100,0	—/139,41(*)
29a-LGB	66,40/33,60	10,83/17,63
29b-LGB	35,30/64,70	13,80/22,66(*)

Injektortemperatur 210 °C, Kopfdruck 10 psi, Trägergas: He, isotherme GC bei 210 °C oder 220 °C (*) Menge: 1 µl 0,1%iger methanolischer Lösung, Split-Verhältnis 1:20

stehung des Z-Isomeren und damit für die erwartete photochemische $E \rightarrow Z$ -Isomerisierung.

Die UV-Spektroskopie ist als eine der wichtigsten Methoden zum Nachweis geometrischer Isomere bekannt, wobei die E-Formen aufgrund des meist ausgedehnteren konjugierten Systems längerwellig als die Z-Isomere absorbieren [4].

2.2. IR-Spektroskopie

Von der vermuteten Z-Form wurde ein IR-Spektrum in KBr aufgenommen und mit dem der E-Form von **4a** verglichen, wobei im Bereich der CH-Deformationsschwingungen der sog. cis-Peak bei 698 cm⁻¹ nachweisbar war. Das Ausmaß der Spektrenänderung von **4f** in Benzen im Bereich der Carbonylbande unter Tageslichteinwirkung von 0,5 bis 5 h in einer NaCl-Küvette mit 0,61 mm Schichtdicke veranschaulicht Abb. 2. Die Carbonylbande wird um ca 1 cm⁻¹ bathochrom verschoben.

Der Versuch zeigt, dass bei üblichem Arbeiten keine wesentliche Spektrenänderung auftritt, da die Bande innerhalb von 30 min nur von 1659,66 auf 1659,63 cm⁻¹ verschoben wird und auch nach 5 h Lichteinwirkung erst auf 1658,47 cm⁻¹ abfällt.

2.3. NMR-Spektroskopie

Lässt man benzolische Lösungen von **4f** einige Stunden vor der Messung im Licht stehen, so werden Signale im

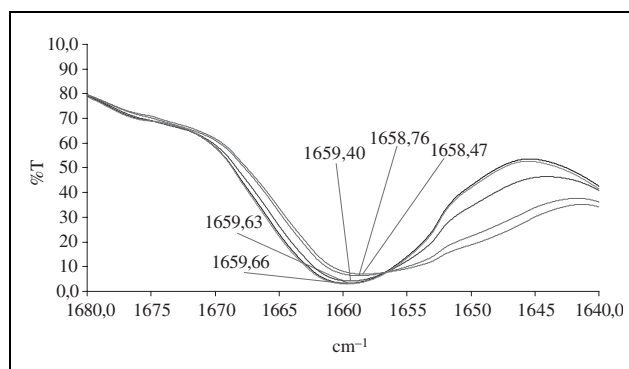


Abb. 2: Verschiebung der Carbonylbande von **4f** durch Lichteinwirkung in benzolischer Lösung

¹H-NMR-Spektrum sichtbar, die ebenfalls für die Bildung des Z-Isomeren sprechen. Die olefinischen Protonen bilden ein AB-System mit Kopplungskonstanten zwischen 5 und 8 Hz, die für Z-Isomere typisch sind.

2.4. Gaschromatographie/Massenspektroskopie

Die erwartete, bisher aber nicht beschriebene photochemische Isomerisierung der Titelverbindungen wurde in 0,1%igen methanolischen Lösungen unter Tageslichteinfluss in 10-ml-Maßkölbchen durch GC/MS mit einem GC 8065/MD 800 von Fisons Instruments und dem integrierten LAB-Base II Data System untersucht.

GC-Trennungen von E- und Z-Isomeren über die Methyl-ester sind z. B. von Fettsäuren bekannt [5]. In unserem Falle erfolgten die Trennungen auf einer FS-HYDRO-DEX®-β PM-Säule durch direkte isotherme GC bei 210 bzw. 220 °C und einem Kopfdruck von 10 psi nach Verdampfung bei 210 °C.

Außer bei den im Benzenring p-dimethylaminosubstituierten Derivaten **4e**, **4e-LGB** und **28e-LGB** war in allen Fällen ein neuer Peak mit kürzerer Retentionszeit nachweisbar, dessen Größe bei wachsender Lichteinwirkungszeit deutlich zunahm, während der ursprüngliche Peak kleiner wurde. Dies soll anhand von Verbindung **4d** in Abb. 3 veranschaulicht werden.

Den beiden Peaks wurden im Maximum (der Gesamtretentionszeit) die Massenspektren entnommen. Diese waren einander sehr ähnlich, im Bereich des Molpeaks identisch und entsprachen der Molmasse, wobei im Falle von Halogensubstitution die typischen Isotopenmuster auftraten.

Im Zusammenhang mit dem oben Geschilderten dürfte der neue Peak dem photochemisch gebildeten Z-Isomeren entsprechen. Je nach Substanz und Intensität des Tageslichtes (sonnig, bedeckt) wurde durch mehrere Messungen meist schon nach einigen Stunden ein Zustand erreicht, wo die Z-Form nicht weiter zunahm.

Dieses Z/E-Verhältnis wurde näherungsweise über Flächenprozentage bestimmt, denn eine Überprüfung der Werte mit der Methode des inneren Standards bei **4a** und **3a-LGB** zeigte, dass die Ergebnisse nur unwesentlich voneinander abweichen.

Die Untersuchungen sind in der Tabelle zusammengefasst. Offensichtlich wurde ein Gleichgewicht zwischen Z- und E-Form erreicht, wie es von Fumar- und Maleinsäure bekannt ist und photostationärer Zustand genannt wird. Bestrahlung beider Verbindungen führt zum gleichen Mengenverhältnis von 1:3.

Am Beispiel von Verbindung **4a** konnte gezeigt werden, dass durch präparative RP18-HPLC mit Acetonitril/Wasser

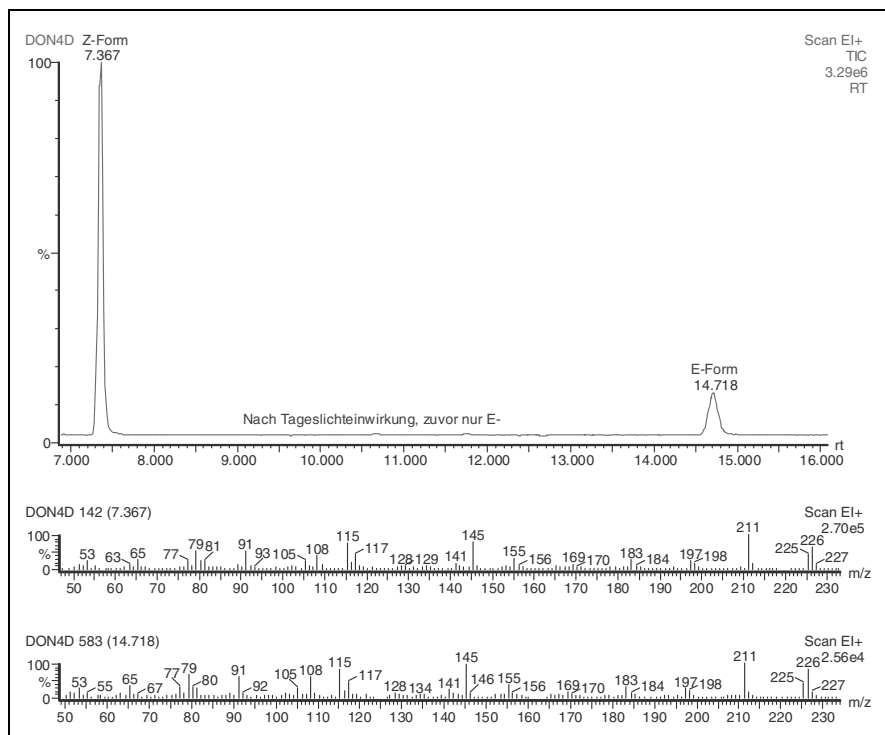


Abb. 3:
Bildung des Z-Isomeren von **4d** in 0,1%iger methanolischer Lösung im Tageslicht

6:4 als mobiler Phase aus dem *Z/E*-Gemisch gewonnene *Z*-Form in Lösung im Tageslicht wieder zunehmend *E*-Form bildete.

Die weitestgehende Umwandlung zur *Z*-Form trat mit Ausnahme von **4e** bei den Verbindungen **4** auf.

Wurden die bestrahlten methanolischen Lösungen anschließend einige Wochen lichtgeschützt gelagert, so blieb das *Z/E*-Verhältnis annähernd konstant, d. h. eine thermodynamisch mögliche Rückbildung des *E*-Isomeren wurde nicht beobachtet.

Blieben die Lösungen jedoch im Licht stehen, so wurden das Auftreten neuer Peaks, Färbungen und Fällungen beobachtet, was für photochemische Folgereaktionen spricht, die nicht weiter untersucht wurden.

Um das Ausmaß der Umwandlung zur *Z*-Form unter praxisrelevanten Bedingungen vor dem gewünschten IR-spektroskopischen Konformerennachweis [1] in Benzen zu überprüfen, wurden 30 mg **4a** in 2 ml Benzen gelöst und sofort sowie nach 30, 120 und 240 min Tageslichteinwirkung gaschromatisch untersucht.

Während zunächst nur die *E*-Form nachweisbar war, trat nach 30 min Lichteinwirkung ein Peak mit kleinerer Ge-

samtretention auf, der einer *Z*-Menge von 1,64% **4a**, 1,92% **4d** bzw. 0,78% **4f** entsprach. Nach 120 min wurden 4,97% **4a**, 9,24% **4d** bzw. 9,13% **4f** und nach 240 min 30,69% **4a**, 22,64% **4d** bzw. 72,53% **4f** der *Z*-Form gefunden.

Abb. 4 zeigt den Stand der *Z*-Bildung aus dem reinen *E*-Isomeren von **4a** nach 240 min Lichteinwirkung.

Man kann also auch hier schlussfolgern, dass bei der üblichen raschen Vorbereitung und unverzüglichen Messung keine messbare Veränderung der Proben erfolgt und damit kein zusätzlicher Lichtschutz erforderlich ist.

Andererseits dürfen die Lösungen vor der Messung nicht längere Zeit im Licht stehen, was auch für NMR-spektroskopische Untersuchungen gilt.

3. Experimenteller Teil

3.1. Allgemeine Angaben

Die Bestrahlung der Substanzen [1–3] erfolgte für die UV-spektroskopischen Untersuchungen im Tageslicht in 50-ml-Maßkolben bzw. im UV-Licht direkt von oben in der Küvette mit einer Solimed Quarzlampe ohne Filter in methanolischer Lösung, für die IR- und NMR-spektroskopischen

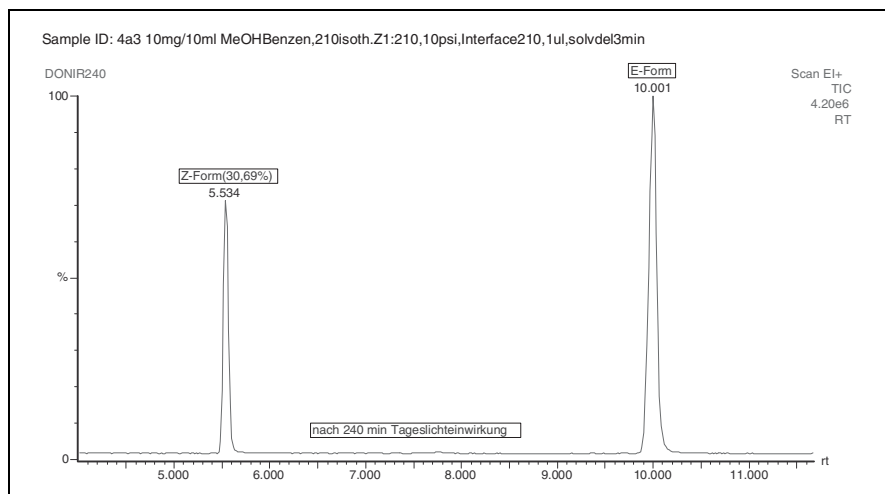


Abb. 4:
Bildung des Z-Isomeren nach 240 min Tageslichteinwirkung auf Lösung von 30 mg **4a** (*E*-Form) in 2 ml Benzen

Untersuchungen im Tageslicht in einer NaCl-Küvette mit 0,61 mm Schichtdicke bzw. 10-ml-Maßkölbchen in benzolischer Lösung und für die GC/MS Untersuchungen im Tageslicht in 10-ml-Maßkölbchen in methanolischer Lösung.

3.2. Geräte

UVICON-Spektrophotometer 930 (Kontron Instruments); 1-cm-Quarzküvette; FTIR 1650 (Perkin Elmer), 0,61-mm-Küvette für benzolische Lösung bzw. KBr-Pressling mit Verdampfungsrückstand der bestrahlten methanolischen Lösung; Bruker DPX 200 (200 MHz, innerer Standard: TMS), deuteriertes Benzen; HPLC-System: LaChrom, Merck Hitachi-Pumpe L-7100, Dioden-Array-Detektor L-7450, Solvent Degasser L-7612, Interface D-7000, Lichrospher 250-4, RP-18-Säule, 5 μ m (für analytische HPLC); Merck Hitachi Pumpe L-6200A, UV-Detektor L-7400, Interface D-7000, LiChrocard[®]-Säule 250-10 mit LiChrospher[®] 100 RP-18 10 μ m,

Flow 1,1 $\times$ 3 ml/min bei 1-ml-Injektionen von 25 mg **4a** Z/E in 5 ml CH₃OH (für präp. HPLC).

GC 8065/MD 800 (Fisons Instruments) mit LAB-Base II Data System und FS-HYDRODEX[®]- β PM-Cyclodextrin-Kapillare (Machery-Nagel), 25 m $\times$ 0,25 mm.

Literatur

- 1 Am Ali, F.: Dissertation, Greifswald 2000
- 2 Richter, F.: Dissertation, Freiburg 1985
- 3 Bechert, L. G.: Dissertation, Freiburg 1990
- 4 Testa, B.: Grundlagen der Organischen Stereochemie, S. 167, Weinheim 1983
- 5 Schulte, E.: Praxis der Kapillargaschromatographie, S. 89, Berlin Heidelberg New York 1983