

Fraktionierte Esterifizierung von (—)-Mandelsäure mit *d,l*-Menthol.

5 g (—)-Mandelsäure wurden mit 5 g *d,l*-Menthol 1 Stde. auf 155° erhitzt. Die ätherische Lösung des Reaktionsproduktes wurde mit verd. Natriumbicarbonat-Lösung säurefrei gewaschen, der Äther vertrieben und der Rückstand mit Wasserdampf destilliert. Das feste Destillat (A) wurde, um etwa vorhandenen Ester zu verseifen, mit alkohol. Natronlauge erhitzt und im Wasserdampfstrom destilliert. Das Destillat lieferte Menthol von α_D^{15} : -0.21° ($l = 2$, $c = 2.38$ in Alkohol). Der im Rückstand von der Wasserdampf-Destillation von A enthaltene Ester wurde durch Erhitzen mit alkohol. Natronlauge verseift und das Reaktionsprodukt mit Wasserdampf destilliert. Die Drehung des aus dem Destillat gewonnenen Menthols betrug α_D^{15} : $+0.5^\circ$ ($l = 2$, $c = 7.898$ in Alkohol).

208. Karl Dimroth: Über das Lumisterin.

[Aus d. Allgem. Chem. Universitäts-Laborat. Göttingen.]

(Eingegangen am 15. April 1936.)

Wird das Ergosterin mit ultraviolettem Licht bestrahlt, so entsteht als erstes faßbares Produkt der photochemischen Umwandlung das Lumisterin. Dieses wird, wie Windaus und Mitarbeiter¹⁾ festgestellt haben, durch weitere Bestrahlung in das Tachysterin, in das Vitamin D₂ (Calciferol) und schließlich in die Suprasterine verwandelt.

Das Lumisterin ist ein Isomeres des Ergosterins²⁾. Es besitzt wie dieses drei Doppelbindungen, davon eine in unveränderter Lage in der Seitenkette³⁾, die anderen beiden konjugiert im Ring B⁴⁾. Das Cyclo-penteno-hydro-phenanthren-Skelett ist im Lumisterin noch vorhanden⁵⁾. Lumisterin, Iso-lumisterin, Dihydro-lumisterin und Hexahydro-lumisterin geben im Gegensatz zu Ergosterin und zu den entsprechenden Derivaten des Ergosterins mit Digitonin keine schwerlöslichen Additionsverbindungen. Durch Umlagerung der Hydroxylgruppe in die Epi-Stellung können aber aus Iso-lumisterin, Dihydro-lumisterin und Hexahydro-lumisterin fällbare Isomere gewonnen werden. Die gesättigten Hydrierungsprodukte des Lumisterins, das Lumistanol und das Epi-lumistanol, sind aber nicht identisch mit den entsprechenden gesättigten Alkoholen des Ergosterins²⁾.

Die Lage der konjugierten Doppelbindungen des Lumisterins ist durch Untersuchungen von Heilbron und Mitarbeitern⁶⁾ geklärt worden. In vollkommener Analogie zum Ergosterin⁷⁾ läßt sich das Lumisterin mit Benzopersäure in ein Triol überführen, das bei der Acetylierung ein Diacetyl-Derivat liefert und außer zwei sekundären Alkoholgruppen eine tertiäre besitzen muß. Dies ist nur möglich, wenn sich die konjugierten

¹⁾ Windaus, v. Werder u. Lüttringhaus, A. **499**, 188 [1932].

²⁾ Windaus, Dithmar u. Fernholz, A. **498**, 259 [1932]; S. Ahrens, Fernholz u. W. Stoll, A. **500**, 109 [1932].

³⁾ Guiteras, A. **494**, 117 [1932].

⁴⁾ Inhoffen, A. **494**, 122 [1932].

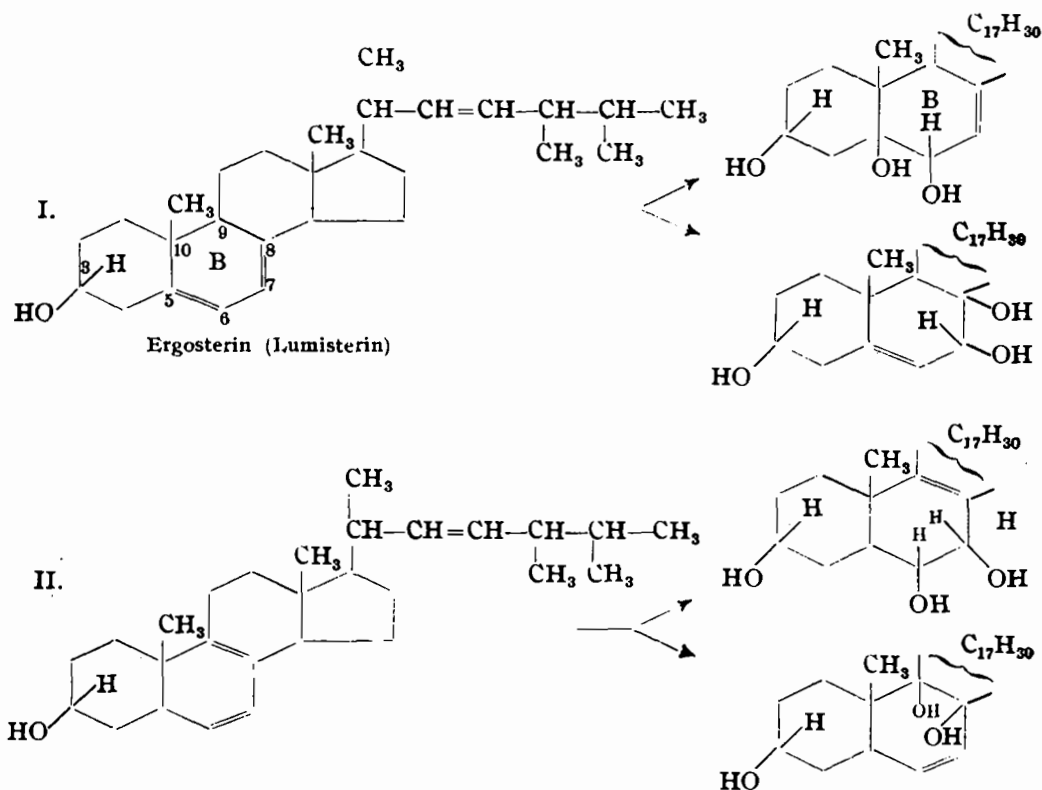
⁵⁾ K. Dimroth, B. **68**, 539 [1935].

⁶⁾ Journ. chem. Soc. London **1935**, 1221.

⁷⁾ Windaus, Inhoffen u. v. Reichel, A. **510**, 248 [1934].

Doppelbindungen des Ringes B zwischen C_5 und C_6 sowie zwischen C_7 und C_8 befinden (I). Wenn sie zwischen C_6-C_7 und C_8-C_9 (II) lägen, müßte ein Triol mit drei sekundären bzw. mit einer sekundären und zwei tertiären Hydroxygruppen entstehen.

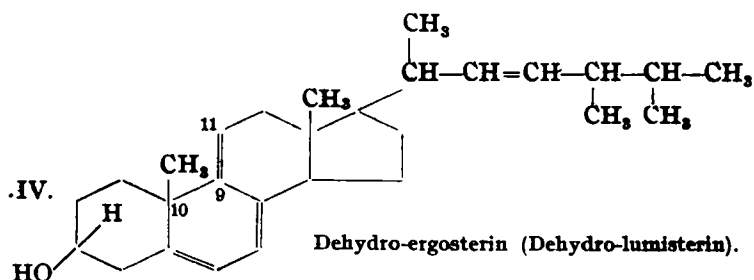
Zur gleichen Zeit wie Heilbron habe ich ähnliche Untersuchungen ausgeführt und bin zu denselben Schlußfolgerungen gekommen wie er. Ich habe nicht das Lumisterin, sondern das Lumisterin-acetat mit Benzopersäure behandelt; diese geringe Abweichung bewirkt merkwürdigerweise, daß man über ein faßbares Lumisterin-acetat-oxyd zu einem isomeren Triol des Lumisterins gelangt, höchst wahrscheinlich einem Stereoisomeren. Auch dieses Triol gibt, wie das Triol von Heilbron, ein Diacetat, das ebenfalls von dem Diacetat der englischen Forscher verschieden ist.



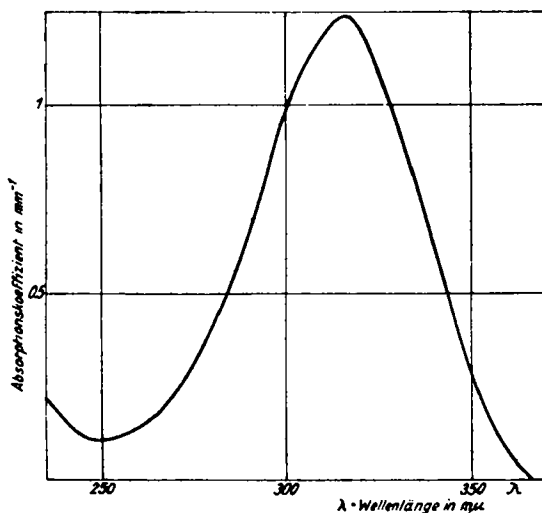
Auf Grund dieser Untersuchungen besitzt das Lumisterin dieselbe Strukturformel wie das Ergosterin (I); bei der Bestrahlung des Ergosterins treten also in der ersten Stufe der Reaktion nur Umwandlungen sterischer Art auf. Es ist anzunehmen, daß Konfigurationswechsel nur an denjenigen Kohlenstoffatomen eintreten wird, deren Zusammenhalt durch das System konjugierter Doppelbindungen gelockert ist; dies sind auf Grund der Doppelbindungsregel von O. Schmidt⁸⁾ die beiden Kohlenstoffatome 9 und 10.

⁸⁾ B. 68, 795 [1935].

Zur experimentellen Prüfung dieser Annahme wurde das von Heilbron und Mitarbeitern⁸⁾ dargestellte Dehydro-lumisterin näher untersucht. Es entsteht ebenso, wie das Dehydro-ergosterin durch Dehydrierung mit Mercuriacetat. Nach Untersuchungen von M. Müller⁹⁾ kommt dem Dehydro-ergosterin die Formel IV zu, es enthält drei konjugierte Doppelbindungen, die neue Doppelbindung liegt zwischen C₉ und C₁₁. Das Spektrum ist besonders charakteristisch, das Maximum ist um etwa 35 μ nach längeren Wellen verschoben. Der Vergleich der Absorptions-Spektren des Dehydro-lumisterins und des Dehydro-ergosterins ergab völlige Übereinstimmung, daher ist auch für das Dehydro-lumisterin die Formel IV wahrscheinlich.



Die katalytische Hydrierung des Dehydro-lumisterins lieferte ein überraschendes Ergebnis. Während aus Dehydro-ergosterin dasselbe Ergostanol¹⁰⁾ gebildet wird, wie aus Ergosterin selbst, entsteht hier



Dehydro-lumisterin-acetat. k für 0.02-proz. Lösung in Äther.

⁸⁾ M. Müller, Ztschr. physiol. Chem. **281**, 75 [1935].

¹⁰⁾ Windaus u. Linsert, A. **465**, 157 [1928].

ein Stoff, der von Lumistanol verschieden ist und sich mit dem Perhydro-pyro-calciferol identisch erweist. Das Pyro-calciferol wird neben einem Isomeren, dem Iso-pyro-calciferol, beim Erhitzen von Vitamin D₂ auf 180° gebildet¹¹⁾. Bei dieser Reaktion tritt unter Rückbildung des ursprünglichen Sterin-Skeletts durch Verknüpfung der Kohlenstoffatome 9 und 10 wieder Ringschluß ein¹²⁾. Dadurch ist für beide Atome die Möglichkeit für eine andersartige sterische Anordnung als im Ergosterin und im Lumisterin gegeben. Das Lumistanol und das Perhydro-pyro-calciferol unterscheiden sich nur durch verschiedene sterische Konfiguration an C₉, denn beim Übergang von Lumisterin in Dehydro-lumisterin und bei der Hydrierung zum Hexahydro-pyro-calciferol hat nur das Kohlenstoffatom 9 zwischendurch seine Asymmetrie verloren.

Das Pyro-calciferol verhält sich gegenüber Digitonin genau so wie das Lumisterin. Die Eigenschaft, mit Digitonin schwerlösliche Additionsverbindungen zu geben, ist weitgehend vom sterischen Bau des Sterinmoleküls abhängig. Nach allen bisher bekannten Beispielen scheinen nur diejenigen Verbindungen in der Sterinreihe fällbar zu sein, bei denen die Hydroxylgruppe an C₃ und die Methylgruppe an C₁₀ auf derselben Seite des Ringes A stehen; daher können nichtfällbare Produkte sowohl durch Umlagerung der Hydroxylgruppe als auch der Methylgruppe des Ergosterins entstehen. Da die Konfigurationsänderung der Methylgruppe auf Grund meiner Versuche weit mehr Wahrscheinlichkeit besitzt, als die der Hydroxylgruppe, ist zu vermuten, daß sich Lumisterin nur durch eine verschiedene sterische Anordnung an C₁₀ vom Ergosterin unterscheidet. Ob an C₉ eine Umlagerung beim Lumisterin oder erst bei der Bildung des Pyro-calciferols eingetreten ist, läßt sich bisher nicht entscheiden. Weitere Versuche, diese Annahme zu prüfen, sind im Gange.

Aus der Identität der Perhydrierungs-Produkte des Pyro-calciferols und des Dehydro-lumisterins folgt schließlich, daß beim Übergang von Lumisterin in Tachysterin und Vitamin D keine weiteren Umlagerungen sterischer Art an anderen Stellen des Moleküls stattgefunden haben. Das ultraviolette Licht bewirkt zunächst eine Sprengung zwischen C₉ und C₁₀ und weiter eine Verschiebung von Doppelbindungen¹³⁾.

Das Dehydro-lumisterin zeigt ein überraschendes Verhalten gegenüber Eosin im Sonnenlicht. Ebenso wie beim Ergosterin¹⁴⁾ und beim Dehydro-ergosterin¹⁵⁾ entsteht ein schwerlöslicher dimolekularer Stoff, ein sogenanntes Pinakon. Lumisterin und Pyro-calciferol geben diese Reaktion nicht.

Beschreibung der Versuche.

Lumisterin-acetat-oxyd.

2.9 g Lumisterin-acetat werden in 100 ccm frisch destilliertem Chloroform gelöst und unter guter Kühlung im Laufe von 30 Min. mit einer Lösung von Benzopersäure in Chloroform, die 0.105 g aktiven Sauerstoff enthält, versetzt. Nach 12-stdg. Stehenlassen im Eisschrank wird die Chloroform-

¹¹⁾ Busse, *Ztschr. physiol. Chem.* **214**, 211 [1933].

¹²⁾ M. Müller, *Ztschr. physiol. Chem.* **233**, 224 [1935].

¹³⁾ Lettré, A. **511**, 160 [1934]; Windaus u. Thiele, A. **521**, 160 [1935].

¹⁴⁾ Bonstedt, *Ztschr. physiol. Chem.* **185**, 165 [1929].

Lösung einige Male mit verdünnter Sodalösung und Wasser gewaschen, mit Chlorcalcium getrocknet und dann im Vakuum bei 20—30° verdampft. Das zurückbleibende, schwach gelbliche Öl krystallisiert fast vollständig beim Digerieren mit niedrigsiedendem Petroläther. Nach wiederholtem Umlösen aus Aceton schmilzt der Stoff scharf bei 133°. Das Lumisterin-acetat-oxyd ist leicht löslich in Chloroform, Methanol, Äther und Petroläther. Bei längerem Kochen in Methylalkohol und beim Aufbewahren in Lösungsmitteln mit einer Spur Mineralsäure verwandelt es sich in ein gelbes, schwer lösliches Öl, das nicht mehr zu Krystallisation zu bringen ist. Der reine Stoff bildet lange, prächtige Nadeln; er zeigt keine Absorption mehr zwischen 240 und 290 μ .

21.4 mg Sbst., 2 ccm Aceton, $l = 1$ dm, α : +1.275°, $[\alpha]_D^{20}$: +119.2°.

4.645 mg Sbst.: 13.520 mg CO₂, 4.230 mg H₂O.

C₃₀H₄₆O₃. Ber. C 79.23, H 10.21. Gef. C 79.38, H 10.19.

Lumisterin-oxyd.

Bei vorsichtigem Verseifen des Lumisterin-acetat-oxydes gelingt es, die Acetylgruppe am Kohlenstoffatom 3 abzuspalten, ohne den Oxydring zu öffnen. 100 mg reines Oxyd-acetat werden in 10 ccm kaltem Methanol gelöst und mit 10 ccm 8-proz. methylalkohol. Kalilauge versetzt. Man läßt 24 Stdn. bei Zimmertemperatur stehen und spritzt dann mit Wasser vorsichtig bis zur beginnenden Krystallisation an. Das Lumisterin-oxyd kommt in feinen Nadeln heraus, die aus Aceton-Wasser umkrystallisiert werden. Sie schmelzen bei 132°, geben aber mit dem Ausgangsmaterial eine Depression von etwa 30°.

23.4 mg Sbst., 2 ccm Chloroform, $l = 1$ dm, α : +2.02°, $[\alpha]_D^{21}$: +173°.

4.923 mg Sbst.: 14.830 mg CO₂, 4.720 mg H₂O.

C₂₈H₄₄O₂. Ber. C 81.49, H 10.75. Gef. C 82.16, H 10.73.

Lumisterin-triol-acetat.

Der Oxydring läßt sich sehr leicht, schon durch einfaches Kochen in wäßriger Suspension, aufspalten. Meist ist die Reaktion in 15—30 Min. beendet. Das abfiltrierte Triol-acetat wird zur Entfernung von Ausgangsmaterial und öligen Nebenprodukten mit niedrigsiedendem Petroläther ausgewaschen und aus Methanol-Wasser umkrystallisiert. Feine, verzweigte Nadeln, die bei 178—179° unt. Zers. schmelzen.

18 mg Sbst., 2 ccm Chloroform, α : +0.250°, $[\alpha]_D^{21}$: +27.8°.

4.941 mg Sbst.: 13.850 mg CO₂, 4.520 mg H₂O.

C₃₀H₄₈O₄. Ber. C 76.21, H 10.24. Gef. C 76.45, H 10.24.

Lumisterin-triol.

Das Lumisterin-triol-acetat oder das Lumisterin-triol-diacetat liefert bei vorsichtigem Verseifen in der Kälte das Lumisterin-triol. Es wird aus Methanol-Wasser bis zur konstanten Drehung umkrystallisiert. Die Substanz zersetzt sich bei langsamem Erhitzen unter Braunfärbung schon von 150° an, bei raschem Erhitzen schmilzt sie bei 180—183° unt. Zers.

16.9 mg Sbst.: 2 ccm Chloroform, $l = 1$ dm, α : +0.32°, $[\alpha]_D^{21}$: +37.9°.

2.869 mg Sbst.: 8.17 mg CO₂, 2.79 mg H₂O.

C₂₈H₄₆O₃. Ber. C 78.1, H 10.8. Gef. C 77.66, H 10.88.

Das Lumisterin-triol von Heilbron und Mitarbeitern, das ganz analog, vom Lumisterin ausgehend, dargestellt worden ist, schmilzt bei 180—181°. Die optische Drehung beträgt $[\alpha]_D^{25}$: -8.70° (Chloroform).

Lumisterin-triol-diacetat.

1 g Lumisterin-triol-monoacetat wird in möglichst wenig wasserfreiem Pyridin gelöst und mit 3 ccm Essigsäure-anhydrid übergossen. Nach 24-stdg. Stehenlassen gießt man in verdünnte Natriumbicarbonat-Lösung und nimmt mit Äther auf. Nach dem Abdestillieren des Äthers wird aus Methanol umkrystallisiert, das Triol-diacetat kommt in sehr schönen, langen Nadeln heraus, die bei 143° schmelzen. Beim Erwärmen mit Essigsäure-anhydrid auf dem Wasserbade bleibt es unverändert. Gegen verdünnte Säuren verhält es sich ähnlich wie das Lumisterin-acetat-oxyd, es bildet ein schwerlösliches braunes Öl. Die Acetylbestimmung zeigt eindeutig, daß zwei Hydroxylgruppen verestert sind. Die dritte Hydroxylgruppe läßt sich nach Zerewitinoff nachweisen. Dasselbe Diacetat wird auch durch Acetylierung des Lumisterin-triols mit Essigsäure-anhydrid in Pyridin erhalten.

Zum Vergleich seien die Daten des Lumisterin-triol-diacetates von Heilbron angegeben: Schmp. 128—129°; $[\alpha]_D^{25}$: -48.4° (Aceton).

25.5 mg Sbst., 2 ccm Aceton, $l = 1$ dm, α : $+1.45^\circ$, $[\alpha]_D^{25}$: $+113.6^\circ$.

1.858 mg Sbst.: 5.080 mg CO₂, 1.620 mg H₂O. — Acetylbestimmung: 13.774 mg Sbst.: 5.12 ccm n_{100} -NaOH.

C₃₂H₅₀O₅. Ber. C 74.65, H 9.80, CH₂.CO 16.7.

Gef. „ 74.60, „ 9.76, „ 15.98.

Bestimmung des aktiven Wasserstoff nach Zerewitinoff: 12.78 mg Sbst.: 0.56 ccm CH₄ (19° und 760 mm).

C₃₂H₅₀O₅. Ber. 0.56 ccm CH₄. Gef. 0.56 ccm CH₄.

Hydrierung des Dehydro-lumisterin-acetats.

330 mg Acetat werden in Eisessig gelöst und bei Zimmertemperatur mit Platin (aus Platinoxyd) und Wasserstoff geschüttelt. Die Wasserstoffaufnahme ist schon nach wenigen Min. zum Stillstand gekommen, nachdem etwa 3 Mol. verbraucht sind. Das noch ungesättigte Hydrierungsprodukt kommt nach dem Verdampfen des Eisessigs in prächtigen Blättchen heraus und kann aus Äther-Methanol umkrystallisiert werden. Schmp. 142—143°.

19.8 mg Sbst., 2 ccm Chloroform, $l = 1$ dm, α : -0.685° , $[\alpha]_D^{19}$: -69.2° .

Die vollständige Hydrierung dieses Zwischenproduktes gelingt unter Zusatz einiger Tropfen konz. Salzsäure zur Eisessig-Lösung. Nach einigen Stdn. ist die Hydrierung beendet. Das Dehydro-lumisterin verhält sich hier ebenso wie das Ergosterin bzw. das Dehydro-ergosterin, das auch nur unter Zusatz von Salzsäure vollständig hydriert werden kann. Nach dem Verhalten des Dehydro-lumisterins scheint auch hier die Hydrierung über ein ähnliches Zwischenprodukt zu führen (α - und β -Ergostenol).

Die letzten Spuren ungesättigter Anteile können aus dem Hydrierungsprodukt durch Ausschütteln mit Essigsäureanhydrid-Schwefelsäure in Chloroform entfernt werden. Man erhält schließlich, nach 2-maligem Umkrystallisieren aus Äther-Methanol, das Acetat in feinen Nadeln, die bei 135—136° schmelzen und eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{25}$: $+26.38^\circ$ besitzen. Der

Stoff gab mit Perhydro-pyrocalciferol-acetat vom Schmp. 135° und $[\alpha]_D^{20}$: +26.1° keine Depression.

18.2 mg Sbst., 2 ccm Chloroform, $l = 1$ dm, α : +0.24°, $[\alpha]_D^{20}$: +26.38°.

2.275 mg Sbst.: 6.750 mg CO₂, 2.370 mg H₂O.

C₃₀H₅₂O₂. Ber. C 81.00, H 11.79. Gef. C 80.94, H 11.66.

Beim Verseifen des Acetats mit methylalkohol. Kalilauge wird der entsprechende Alkohol vom Schmp. 129—130° erhalten. Die Drehung beträgt $[\alpha]_D^{20}$: +34.6°. Mit Hexahydro-pyro-calciferol vom Schmp. 130° gab das vollständig hydrierte Dehydro-lumisterin keine Depression. Auch die spezifische Drehung beider Stoffe stimmt überein. Perhydro-pyro-calciferol: $[\alpha]_D^{20}$: +34.35° (Chloroform).

11.0 mg Sbst., 2 ccm Chloroform, $l = 1$ dm, α : +0.195°, $[\alpha]_D^{20}$: +34.6°.

„Pinakon“ aus Dehydro-lumisterin.

100 mg reines Dehydro-lumisterin-acetat werden in Alkohol gelöst und mit 90 mg Eosin in Alkohol versetzt. Nach dem Auskochen der Mischung wird das Glas zugeschmolzen und in die Sonne gestellt. Schon nach wenigen Min. fällt ein kristalliner Niederschlag aus, und nach einigen Stdn. ist die Lösung entfärbt. Das Reaktionsprodukt kann aus Chloroform-Alkohol umkristallisiert werden, es schmilzt bei 183—184°.

4.698 mg Sbst.: 14.260 mg CO₂, 4.150 mg H₂O.

C₆₀H₈₆O₄. Ber. C 82.69, H 9.73. Gef. C 82.78, H 9.83.

Hrn. Prof. Dr. Windaus bin ich für die Leitung und Unterstützung meiner Versuche zu großem Dank verpflichtet.

Der I.-G. Farbenindustrie-Aktiengesellschaft, Werk Elberfeld, und der Chemischen Fabrik E. Merck, Darmstadt, danke ich für das zur Verfügung gestellte Ergosterin.

209. Hellmut Bredereck und Gerd Richter: Nucleinsäuren, V. Mitteil.¹⁾: Hydrolytische Spaltungen an Hefe-Nucleinsäure.

[Aus d. Chem. Laborat. d. Universität Leipzig.]

(Eingegangen am 18. April 1936.)

Nachdem durch die Untersuchungen von Levene²⁾ sowie von Bredereck³⁾ die Konstitution der 4 Mononucleotide der Hefe-Nucleinsäure, Guanyl-, Adenyl-, Cytidyl- und Uridylsäure, sichergestellt ist, bleiben zur Aufklärung der Konstitution des Gesamt-Hefenucleinsäure-Moleküls die folgenden Fragen zu beantworten: 1) Durch welche Art von Bindung, 2) in welcher Reihenfolge sind die 4 Mononucleotide zum Hefe-Nucleinsäure-Molekül zusammengefügt. Auf Grund von Titrationsversuchen hat man in den letzten Jahren⁴⁾ vorläufige Formeln für Hefe-Nucleinsäure aufgestellt.

¹⁾ IV. Mitteil., Ztschr. physiol. Chem. **224**, 79 [1934].

²⁾ Journ. biol. Chem. **94**, 809, **95**, 705, **97**, 491, **98**, 9 [1932]; **101**, 413 [1933].

³⁾ B. **65**, 1830 [1932]; **66**, 198 [1933]; Ztschr. physiol. Chem. **223**, 61, **224**, 79 [1934].

⁴⁾ z. B. Levene u. Tipson, Journ. biol. Chem. **109**, 623 [1935]; Makino, Ztschr. physiol. Chem. **222**, 229 [1935].