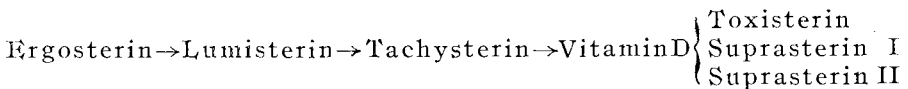


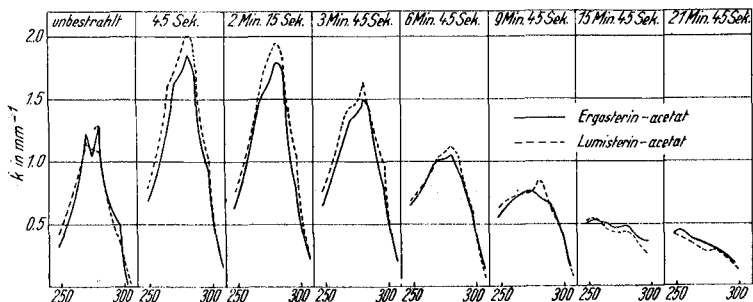
282. Karl Dimroth: Über den Bestrahlungsvorgang bei Verbindungen des Ergosterintypus.

[Aus d. Allgem. Chem. Universitäts-Laborat. Göttingen.]
(Eingegangen am 21. Juni 1937.)

Die photochemischen Vorgänge, die bei der Ultraviolett-Bestrahlung des Ergosterins stattfinden, sind fast ausschließlich durch Arbeiten von Windaus und Mitarbeitern¹⁾ aufgeklärt worden. Es konnte festgestellt werden, daß die verschiedenen Bestrahlungsprodukte des Ergosterins nicht in einem photochemischen Gleichgewicht miteinander stehen. Sie entstehen vielmehr nacheinander und zwar in folgender Reihenfolge:



Hier soll nur von den ersten Gliedern dieser Reihe die Rede sein. Es herrschte bisher eine gewisse Unsicherheit darüber, ob das Lumisterin ein Zwischenprodukt bei der Bildung des Tachysterins bzw. des Vitamins D aus Ergosterin ist, oder ob sich das Ergosterin auch direkt in Tachysterin und Vitamin D verwandeln kann²⁾. Bills³⁾ hat durch physiolog. Versuche nachgewiesen, daß schon verhältnismäßig kurz bestrahlte Ergosterin-Lösungen einen Vitamingehalt besitzen, der sehr nahe an dem Maximalgehalt liegt, der sich bei längerer Bestrahlung einstellt. Dies ist aber schwer zu verstehen, wenn das Vitamin D erst das vierte Umwandlungsprodukt in dieser photochemischen Reihe ist; man sollte in diesem Fall vielmehr einen langsamen Anstieg des Vitaminspiegels erwarten. Es läßt sich aber zeigen, daß diese Präparate von Bills schon so lange bestrahlt worden sind, daß eine reichliche Menge Tachysterin entstanden ist. Denn die Weiterbestrahlung dieser Produkte führt zu einem Abbau des Intensitätsmaximums bei 280 m μ , während Kurzbestrahlungsprodukte des Ergosterins bei der Weiterbestrahlung einen bedeutenden Anstieg des Intensitätsmaximums bei 280 m μ zeigen (vergl. Abbild. 1).



Abbild. 1.

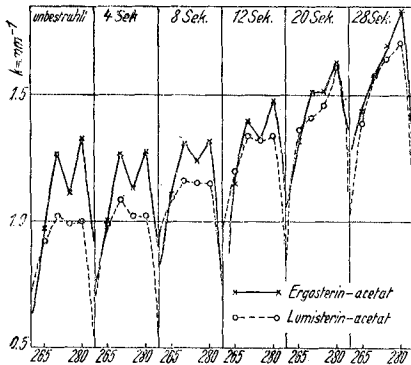
Um die Frage, ob das Lumisterin ein notwendiges Zwischenprodukt bei der Ultraviolett-Bestrahlung des Ergosterins darstellt, zu klären, haben wir reine Lösungen von Ergosterin und Lumisterin in der Küvette mit Queck-

¹⁾ s. Lettré-Inhoffen, Sterine, Gallensäuren [1936]; B. 70, 376 [1937].

²⁾ Lettré, A. 511, 283 [1934].

³⁾ Journ. biol. Chem. 80, 557 [1928].

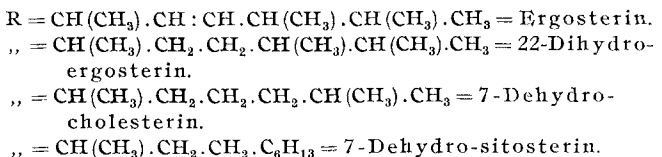
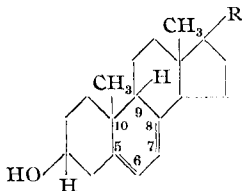
silberlicht bestrahlt und den Verlauf der Absorptionskurven nach bestimmten Zeiten beobachtet. Die Messungen wurden von Herrn Eckhardt am hiesigen Institut ausgeführt, wofür ich ihm meinen Dank aussprechen möchte. Es zeigte sich, daß bei etwas längerer Bestrahlungsdauer, von ungefähr 45 Sek. aufwärts, keine nennenswerten Unterschiede in dem Verhalten der beiden Stoffe zu bemerken sind (Abbild. 1. Ganz anders aber ist der Verlauf, wenn man nur sehr kurze Zeiten bestrahlt. Dann beobachtet man bei den Ergosterin-Lösungen zunächst kaum eine Änderung des Spektrums; es tritt eine schwache Abnahme der Absorptionskoeffizienten ein, während beim Lumisterin sofort ein deutlicher Anstieg erfolgt (Abbild. 2. Nach einiger Zeit aber verwischen sich diese Unterschiede wieder, und wir erhalten die in Abbild. 1 gezeigten Kurvenzüge.



Abbild. 2.

mit monochromatischem Licht von 280 $m\mu$ bestrahlt. Dabei zeigt sich in allen Fällen zunächst ein deutliches Absinken der Absorptionen zwischen 265 und 280 $m\mu$. Da die Absorptionsbanden des Lumisterins tiefer als die des Ergosterins liegen, ist dies ein weiterer Beweis dafür, daß aus dem Ergosterin zunächst das Lumisterin gebildet wird. Das Lumisterin kann erst weiter in Tachysterin und Vitamin D umgewandelt werden.

Von Windaus und Mitarbeitern ist in den letzten Jahren eine Reihe weiterer ungesättigter Sterine untersucht worden, die sich vom Ergosterin nur durch Verschiedenheiten in der Seitenkette unterscheiden. Der Bau des Sterinkernes ist vollkommen derselbe. Folgende Verbindungen wurden dargestellt: 22-Dihydro-ergosterin⁵⁾, 7-Dehydro-cholesterin⁶⁾ und 7-Dehydro-sitosterin⁷⁾. Alle diese Stoffe werden durch ultraviolettes



⁴⁾ Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, Math.-physik. Kl. 1928, 1.

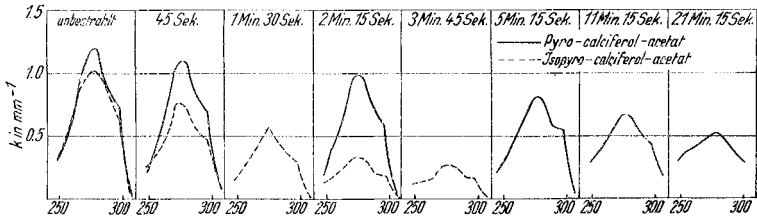
⁵⁾ A. 508, 105 [1933]. ⁶⁾ A. 520, 98 [1935].

⁷⁾ Ztschr. physiol. Chem. 241, 116 [1936].

Licht in der gleichen Weise wie Ergosterin in antirachitisch hochwirksame Produkte übergeführt. Die spektralen Veränderungen verlaufen analog, und man kann daher mit größter Wahrscheinlichkeit annehmen, daß auch bei diesen genannten Verbindungen analoge Zwischenstufen wie beim Ergosterin durchlaufen werden.

Alle diese Sterine besitzen im Ring B zwei konjugierte Doppelbindungen von C₅-C₆ und von C₇-C₈. Dieses konjugierte System ist für den Eintritt der Photo-Reaktion unbedingt notwendig.

Vor kurzem konnte gezeigt werden, daß die beiden isomeren Pyro-vitamine, die beim Erhitzen des Vitamins D auf 190⁰ entstehen, das gleiche konjugierte System im Ring B wie Ergosterin und die genannten Verbindungen besitzen. Diese Sterine unterscheiden sich vom Ergosterin und Lumisterin nur durch eine verschiedene sterische Anordnung am Kohlenstoffatom 9⁸⁾. Es war von besonderem Interesse, das photochemische Verhalten dieser Verbindungen zu studieren. Frühere Versuche⁹⁾, die noch vor der Konstitutionsaufklärung der Pyro-vitamine ausgeführt worden sind, zeigten, daß diese Verbindungen durch ultraviolettes Licht nicht mehr zu antirachitisch wirksamen Produkten aktiviert werden können. Wir haben zunächst in genau der gleichen Weise, wie oben beim Ergosterin und Lumisterin beschrieben ist, die Spektren nach verschiedenen Bestrahlungszeiten gemessen. Dabei zeigte sich, daß hier der photochemische Prozeß einen völlig anderen Verlauf als beim Ergosterin und Lumisterin nimmt; hier wird das Spektrum kontinuierlich abgebaut; einen Anhaltspunkt, daß Zwischenprodukte mit irgend einer charakteristischen Absorption in dem Bereich zwischen 248 und 320 m μ entstehen, haben wir nicht gefunden. Ein neues Maximum wird nicht gebildet (Abbild. 3). Die Endprodukte der Bestrahlung können keine



Abbild. 3.

konjugierten Doppelbindungen mehr enthalten. Es ist von Interesse, daß das Iso-pyro-calciferol, das an C₁₀ dieselbe Konfiguration wie das Ergosterin besitzt, etwa 20-mal schneller als das Pyro-calciferol, das an C₁₀ dieselbe Konfiguration wie das Lumisterin besitzt, vom ultravioletten Licht verändert wird.

Die Bestrahlungsprodukte der Pyro-vitamine sind leicht zu isolieren. Da aus jedem der beiden Pyro-vitamine nur jeweils ein Bestrahlungsprodukt entsteht, ist die Ausbeute sehr gut. Diese Stoffe, die ich Photo-pyro-calciferol und Photo-iso-pyro-calciferol genannt habe, sind ausgezeichnet kristallisiert, sie haben dieselbe Summenformel und dasselbe Mol.-Gew. wie die unbestrahlten Verbindungen. In dem Bereich zwischen 248 und 320 m μ

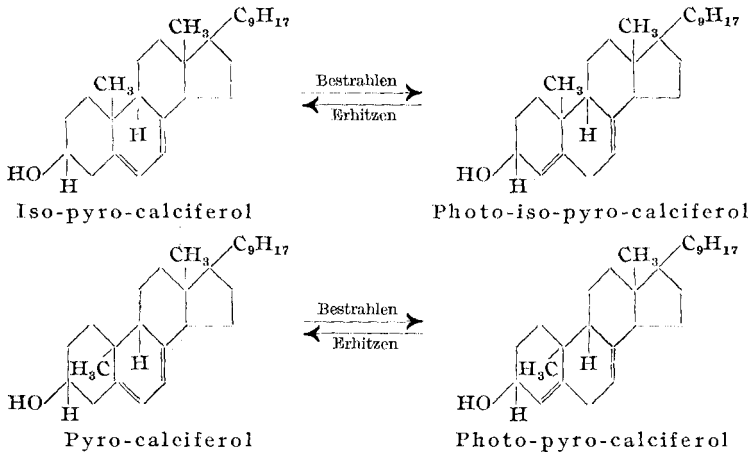
⁸⁾ Windaus u. Dimroth, B. **70**, 376 [1937].

⁹⁾ Busse, Ztschr. physiol. Chem. **214**, 211 [1933].

zeigen sie keine Absorption mehr. Bei der Hydrierung mit Platin in Eisessig verbrauchen sie genau wie das Ergosterin unter diesen Bedingungen zwei Mol. Wasserstoff, diese Stoffe müssen also noch ein Vier-Ring-System wie das Ergosterin enthalten.

Die interessanteste Reaktion zeigen diese Photo-pyro-vitamine beim Erhitzen auf 190° unter Luftausschluß. Dabei werden sie wieder in die Pyro-vitamine, die Ausgangsstoffen vor der Bestrahlung, zurückverwandelt. Aus dem Photo-pyro-calciferol entsteht dabei nur das Pyro-calciferol und kein Iso-pyro-calciferol; in der gleichen Weise wurde beim Erhitzen des Photo-iso-pyro-calciferols nur Iso-pyro-calciferol und kein Pyro-calciferol gefunden. Dies beweist, daß sowohl bei der Licht-Reaktion wie auch bei der Pyro-Reaktion an dem Kohlenstoffatom 10 keine sterische Umlagerung stattgefunden haben kann. Die Tatsache, daß durch bloßes Erhitzen das ursprüngliche konjugierte System wieder zurückgebildet wird, läßt sich am besten dadurch erklären, daß bei der Bestrahlung nur eine Wanderung einer Doppelbindung stattgefunden hat. Damit würde ein System von konjugierten Doppelbindungen durch eine Licht-Reaktion in ein System von isolierten Doppelbindungen übergehen. Die Pyro-Reaktion vermag den Bestrahlungsvorgang wieder vollkommen umzukehren.

Eine der möglichen Formulierungen dieser Vorgänge mögen die nächsten Formeln darstellen; dabei ist die Lage der Doppelbindungen in den Photo-pyro-vitaminen willkürlich angenommen.



Es scheint von besonderem Interesse, darauf hinzuweisen, welchen richtunggebenden Einfluß der sterische Feinbau des Ergosterin-Moleküls auf den Verlauf der Bestrahlungsvorgänge auszuüben vermag. Dazu soll die folgende Zusammenstellung dienen:

	sterische Anordnung an:	Vorgang bei der Bestrahlung:
Ergosterin	C ₉ +	C ₁₀ + sterische Umlagerung an C ₁₀ in das Lumisterin.
Lumisterin	+ (?)	— Photolyse zwischen C ₉ und C ₁₀ zum Tachysterin.
Pyro-calciferol	— (?)	— Wanderung einer Doppelbindung? (langsam).
Iso-pyro-calciferol	—	+ Wanderung einer Doppelbindung? (rasch).

Hrn. Prof. Windaus bin ich für die Unterstützung meiner Arbeit zu großem Dank verpflichtet. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, der I.-G.-Farbenindustrie A.-G., Werk Elberfeld, und der Firma E. Merck, Darmstadt, danke ich für die zur Verfügung gestellten Mittel.

Beschreibung der Versuche.

Photo-pyro-calciferol.

4.5 g reines Pyro-calciferol werden in reinem peroxydfreien Äther gelöst, luftfrei in eine Quarzwalze eingeschlossen und etwa 40 Stdn. mit Magnesium-Funkenlicht bestrahlt. Dann wird der Äther abdestilliert und der Rückstand mit *m*-Dinitro-benzoylchlorid in Pyridin verestert. Nach der üblichen Aufarbeitung erhält man aus Aceton herrliche weiße Nadelbüschel, die bei 162° schmelzen. Denselben Stoff bekommt man auch, wenn man mit Quecksilberlicht bestrahlt.

3.807 mg Sbst.: 9.930 mg CO₂, 2.700 mg H₂O. — 3.632 mg Sbst.: 0.155 ccm N₂ (24°, 760 mm).

C₃₅H₄₆O₆N₂. Ber. C 71.14, H 7.859, N 4.743. Gef. C 69.98, H 7.805, N 5.034.

25.1 mg Sbst. in 2 ccm Chloroform (l = 1 dm), α: + 0.65°, [α]_D²⁰: + 51.7°.

Der Alkohol wird durch Verseifen des Dinitro-benzoates erhalten; er schmilzt nicht ganz scharf bei 103—105°.

4.673 mg Sbst.: 14.420 mg CO₂, 4.650 mg H₂O.

C₂₈H₄₄O. Ber. C 84.79, H 11.18. Gef. C 84.16, H 11.13.

18.5, 23.2 mg Sbst., in 2 ccm Chloroform (l = 1 dm), α: + 0.47°, + 0.58°, [α]_D¹⁹: + 50.0°, + 50.8°.

Der Alkohol gibt in einer Lösung von 90-proz. Äthanol mit Digitonin keine Fällung. Er zeigt keine Absorption zwischen 248 und 320 mμ mehr.

Durch Verestern mit Isobuttersäure-chlorid in Pyridin erhält man den in prächtigen Blättchen kristallisierenden Isobuttersäure-ester, der gut aus Aceton-Methanol umkristallisiert werden kann. Schmp. 79—80°.

5.514 mg Sbst.: 16.66 mg CO₂, 5.33 mg H₂O.

C₃₂H₅₀O₂. Ber. C 82.33, H 10.81. Gef. C 82.40, H 10.815.

Molekulargewichtsbestimmung nach Rast: Ber. 466.4. Gef. 477, 489.

Das Acetat konnte nicht kristallisiert erhalten werden.

Photo-iso-pyro-calciferol.

6.1 g Iso-pyro-calciferol-acetat werden in reinem peroxydfreien Äther gelöst und wie oben 20 Stdn. in der Quarzwalze bestrahlt. Das Photo-iso-pyro-calciferol-acetat kann nach dem Abdampfen des Äthers direkt aus Methanol umkristallisiert werden. Man kann auch den gesamten Rückstand verseifen und über das *m*-Dinitro-benzoat reinigen. Der *m*-Dinitrobenzoesäure-ester kristallisiert aus Aceton in prächtigen weißen Nadelbüscheln, die bei 145—146° schmelzen.

4.710 mg Sbst.: 12.295 mg CO₂, 3.291 mg H₂O. — 3.698 mg Sbst.: 0.155 ccm N₂ (25°, 764 mm).

C₃₅H₄₆O₆N₂. Ber. C 71.14, H 7.86, N 4.74. Gef. C 71.19, H 7.82, N 4.826.

23.1 mg Sbst., in 2 ccm Chloroform (l = 1 dm), α: — 0.13°, [α]_D¹⁹: — 11.2°.

Das Photo-iso-pyrocalciferol, das aus dem Dinitrobenzoat durch Verseifen mit methylalkoholischer Kalilauge gewonnen wird, kann aus Alkohol umkristallisiert werden. Schmp. unscharf 76—80°. Der Stoff zeigt

in dem Gebiet zwischen 248 und 320 μ keine Absorption mehr. Mit Digitalin in 90-proz. Alkohol tritt keine Fällung ein.

4.770 mg Sbst.: 14.315 mg CO_2 , 4.750 mg H_2O .

$\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}$. Ber. C 84.79, H 11.18. Gef. C 81.85, H 11.14.

20.9 mg Sbst. in 2 ccm Chloroform ($l = 1$ dm), α : -0.63° , $[\alpha]_D^{20}$: -60.4° .

Das Acetat ist sehr gut krystallisiert. Es kommt aus Aceton-Wasser in Nadeln heraus, die bei 70° schmelzen.

4.956 mg Sbst.: 14.90 mg CO_2 , 4.68 mg H_2O .

$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_2$. Ber. C 82.12, H 10.58. Gef. C 82.00, H 10.57.

Molekulargewichtsbestimmung nach Rast: Ber. 438.4. Gef. 495.

20.6 mg Sbst. in 2 ccm Chloroform ($l = 1$ dm), α : -0.58° , $[\alpha]_D^{20}$: -56.3° .

Quantitative Hydrierungen.

Die Mikrohydrierungen wurden von Dr. Wallenfels in Heidelberg ausgeführt. Es werden sowohl beim Photo-pyro-calciferol-isobutytrat wie beim Photo-iso-pyro-calciferol-acetat und beim Ergosterin-acetat annähernd die gleichen Mengen Wasserstoff aufgenommen (2 Mol.).

Pyro-Reaktionen.

I) Je 300 mg Photo-pyro-calciferol und Photo-iso-pyro-calciferol werden im Hochvakuum in ein Glasrohr eingeschmolzen und 9 Stdn. im Dekalinbade auf 188° erhitzt. Die erkalteten Schmelzen krystallisieren nach dem Anspritzen mit Aceton.

Aus dem Photo-pyro-calciferol entsteht so in guter Ausbeute das Pyro-calciferol. Es wurde durch Mischschmelzpunkt des Alkohols und des Acetats und durch das Absorptionsspektrum charakterisiert. Im Gemisch mit Iso-pyro-calciferol gibt das Produkt eine Schmelzpunktserhöhung von 26° (Anlagerungsverbindung von Pyro-calciferol und Iso-pyro-calciferol). Bei der Reaktion ist kein Iso-pyro-calciferol entstanden.

Aus dem Photo-iso-pyro-calciferol entsteht in guter Ausbeute das Iso-pyro-calciferol. Eine Bildung von Pyro-calciferol konnte nicht nachgewiesen werden.

II) 300 g Suprasterin II wurden unter denselben Bedingungen 9 Stdn. erhitzt. Das Ausgangsmaterial konnte unverändert wiedergewonnen werden.

III) 50 mg des Bestrahlungsproduktes aus Dehydro-ergosterin (Schmp. 134°) wurden in der gleichen Weise erhitzt. Das Ausgangsmaterial konnte unverändert isoliert werden.

Oxydation mit Salpetersäure.

2.7 g Photo-iso-pyro-calciferol-acetat und 1.5 g Photo-pyro-calciferol wurden nach der Vorschrift von Inhoffen mit konz. Salpetersäure oxydiert. Es konnte keine Methyl-benzol-tetracarbonsäure gefaßt werden.