

Mol) zugetropft. Nach 1 Stde. fällt man die Nitroso-Verbindung mit Wasser aus. Ausb. 1 g (80% d.Th.); Schmp. und Misch-Schmp. mit der unter a) erhaltenen Verbindung 213–214°.

Monoacetyl-Verbindung von VII: 1.2 g VII ($\frac{1}{200}$ Mol) werden mit 10 ccm Acetanhydrid übergossen und unter Zugabe von wenig wasserfreiem Pyridin auf dem Wasserbad erwärmt. Die rote Lösung erstarrt bei 0° zu einem Kristallbrei, der aus wäbr. Aceton umgelöst wird; Schmp. 158°. Die Monoacetyl-Verbindung bildet kupferfarbene Säulen, die in Alkohol, Aceton und Eisessig leicht löslich sind.

$C_{13}H_{12}O_2N_4S$ (288.3) Ber. C 54.15 H 4.20 N 19.44 Gef. C 53.87 H 4.41 N 19.23

224. Hans Herloff Inhoffen, Klaus Brückner, Rudolf Gründel und Gerhard Quinkert: Studien in der Vitamin D-Reihe V*): Weitere Untersuchungen an 9.10-*seco*-Ergostatetraenen, zugleich ein Beitrag zur [Konstitution der Vitamin D-Isomeren**)]

[Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Hochschule Braunschweig]

(Eingegangen am 19. Juli 1954)

iso-Vitamin D₂ wurde kristallin gewonnen und auf sein thermisches und photochemisches Verhalten sowie zusammen mit *iso*-Tachysterin auf seine Reaktionsfähigkeit gegenüber Maleinsäureanhydrid untersucht. *iso*-Tachysterin erwies sich als Endprodukt der sauren Isomerisierung auch von Tachysterin. Das entsprechende Keton konnte kristallin erhalten werden und ließ sich in ein isomeres Keton umlagern. Versuche, Pyrotachysterin in reiner Form zu isolieren, scheiterten; es wird angenommen, daß es ein 9.10-*seco*- $\Delta^{1,10,5,8,7,9,22,23}$ -Ergostatetraen-3 β -ol dargestellt. Die Existenz des Präcalciferols konnte bestätigt werden.

Die Ergebnisse werden zusammen mit den UV- und UR-Spektren der Stoffe im Hinblick auf die noch offenen Strukturfragen der Vitamin D-Isomeren diskutiert.

In der Reihe der 9.10-*seco*-Ergostatetraene vom Typus des Vitamins D waren bis vor kurzem durch die Arbeiten von Windaus außer Vitamin D₂ (II) noch folgende Stoffe bekannt: Protachysterin¹⁾, Tachysterin (I)²⁾, Pyrotachysterin²⁾, ferner das Präcalciferol (VI) durch Velluz³⁾. Von diesen ließen sich Tachysterin und Präcalciferol rein darstellen, während Pyrotachysterin nur in Form eines unreinen Öls isoliert werden konnte und auf die Exi-

*) IV. Mitteil.: H. H. Inhoffen u. E. Prinz, Chem. Ber. 87, 684 [1954].

***) Infolge der Erweiterung der Vitamin D-Chemie erscheint es angebracht, einen Nomenklaturvorschlag heranzuziehen, nach dem allgemein bei ringoffenen Steroiden die geöffnete Bindung durch die Vorsilbe „*seco*“ gekennzeichnet und im übrigen der Name des entsprechenden ringgeschlossenen Grundkörpers zugrundegelegt wird (Helv. chim. Acta 34, 1680 [1951].

¹⁾ A. Windaus u. E. Auhagen, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 196, 108 [1931].

²⁾ A. Windaus, F. v. Werder u. A. Lüttringhaus, Liebigs Ann. Chem. 499, 188 [1932].

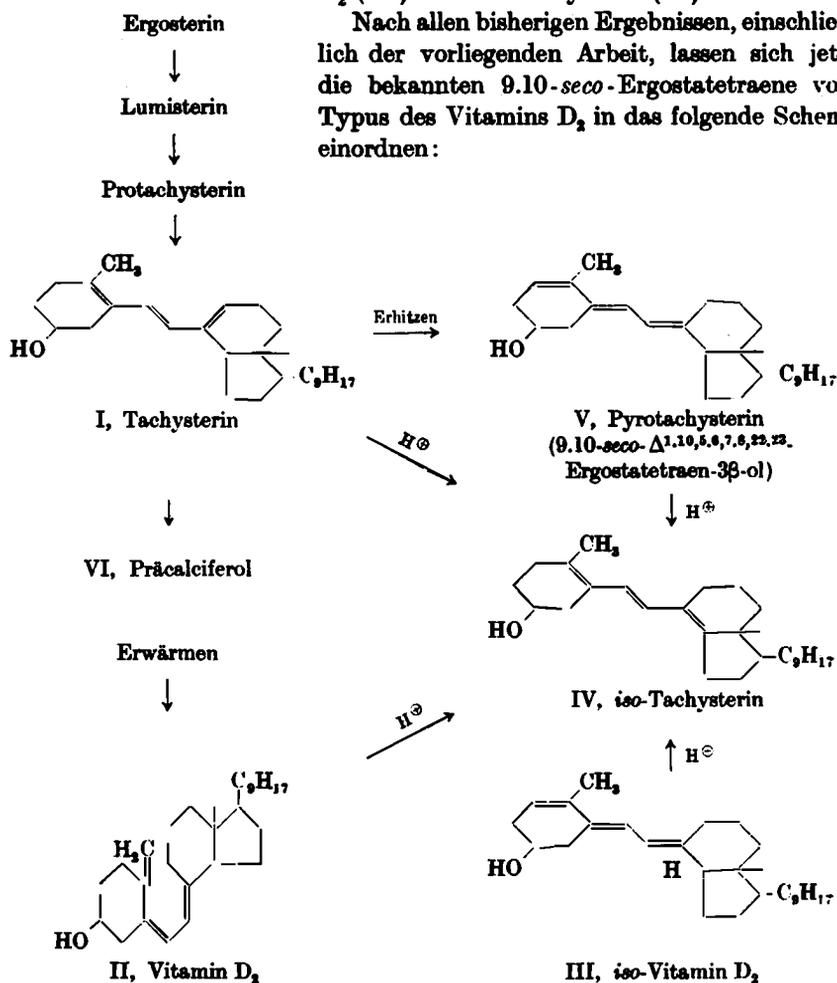
³⁾ L. Velluz, A. Petit, G. Michel u. G. Rousseau, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. 226, 1287 [1948]; L. Velluz, A. Petit u. G. Amiard, Bull. Soc. chim. France 1948, 1115; L. Velluz u. G. Amiard, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. 228, 692, 853, 1037 [1949]; L. Velluz, G. Amiard u. A. Petit, Bull. Soc. chim. France 1949, 501.

stanz eines Protachysterins lediglich auf Grund des Anstiegs der charakteristischen Tachysterin-UV-Absorption beim längeren Stehenlassen frischer Bestrahlungsprodukte geschlossen wurde.

Die Strukturaufklärung gelang bisher für das Vitamin D₂⁴⁾ und das Tachysterin⁵⁾ bis auf die endgültige Klärung der sterischen Verhältnisse an den Doppelbindungen der Triensysteme.

In unserer ersten Mitteilung⁶⁾ konnten wir über die Darstellung von zwei neuen ringoffenen Isomeren des Vitamins D₂ berichten, die wir als *iso*-Vitamin D₂ (III) und *iso*-Tachysterin (IV) bezeichneten.

Nach allen bisherigen Ergebnissen, einschließlich der vorliegenden Arbeit, lassen sich jetzt die bekannten 9.10-*seco*-Ergostatetraene vom Typus des Vitamins D₂ in das folgende Schema einordnen:



⁴⁾ A. Windaus u. W. Thiele, Liebigs Ann. Chem. 521, 160 [1936]; A. Windaus u. W. Grundmann, Liebigs Ann. Chem. 524, 295 [1936]; D. Crowfoot u. J. D. Dunitz, Nature [London] 162, 608 [1948].

⁵⁾ W. Grundmann, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 252, 151 [1938]; F. v. Welter, ebenda 260, 119 [1939].

⁶⁾ H. H. Inhoffen, K. Brückner u. R. Gründel, Chem. Ber. 87, 1 [1954].

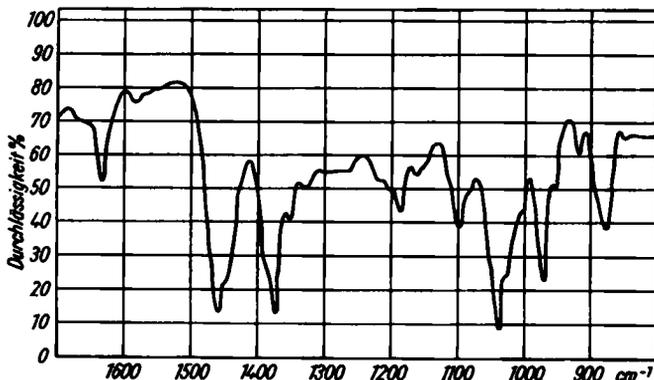
Seit unserer ersten Mitteilung⁶⁾ haben wir die folgenden neuen Erkenntnisse gewonnen:

1. *iso*-Vitamin D₂ (9.10-*seco*-14 β - $\Delta^{1,10,5,6,7,8,22,23}$ -Ergostatetraen-3 α,β -ol) (III): Zunächst gelang es, diesen bisher nur amorph isolierten Stoff kristallin zu gewinnen. Dies spricht im Verein mit dem ausgeprägten UV-Spektrum für seine Einheitlichkeit bis auf die möglicherweise vorliegenden C³-Epimeren; eine Auftrennung derselben wurde nicht versucht. Bei erneuter Aufnahme seines UV-Spektrums zeigte es sich, daß Lage und Extinktion der Maxima sich gegenüber den früheren Angaben geringfügig verschoben haben: 276 (278), 287 (288) und 300 m μ ; $\epsilon = 33700, 44100 (41800) \text{ und } 32200 (30500) \text{ cm}^{-1}$.

Die Untersuchung der Eigenschaften von *iso*-Vitamin D₂ ergab, daß es wie *iso*-Tachysterin thermisch äußerst stabil ist. Nach 8stdg. Erhitzen im Hochvak. auf 220° wurde noch keine Veränderung festgestellt, und selbst bei 240° war nur ein Absinken der Extinktion der UV-Absorption zu beobachten, während der Charakter des Spektrums unverändert war.

Ebenso beständig erwies es sich gegenüber Maleinsäureanhydrid. Nach 6stdg. Kochen in benzolischer Lösung ließ es sich unverändert zurückgewinnen.

Das UR-Spektrum von *iso*-Vitamin D₂ (Abbild. 1) zeigt im Gebiet der C=C-Doppelbindungen bei 970 cm⁻¹ die charakteristische Bande der *trans*-Doppelbindung in der Seitenkette⁷⁾, ferner eine starke Bande bei 873 cm⁻¹,



Abbild. 1. UR-Absorptionsspektrum von *iso*-Vitamin D₂ in Kohlenstofftetrachlorid

die wahrscheinlich den trisubstituierten Doppelbindungen zugeschrieben werden muß. (Das bereits bekannte UR-Spektrum des Vitamins D₂⁸⁾ weist neben der Bande der Seitenkette eine besonders ausgeprägte breite Absorption bei 908 cm⁻¹ auf, die der semicyclischen Methylengruppe zuzusprechen ist, ferner eine weitere Bande bei 863 cm⁻¹, die wahrscheinlich ebenfalls auf die trisubstituierten Doppelbindungen zurückzuführen wäre⁹⁾).

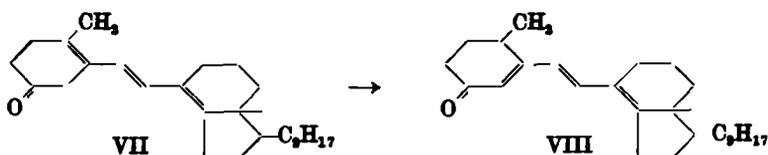
⁷⁾ R. N. Jones, J. Amer. chem. Soc. 72, 5322 [1950].

⁸⁾ K. Dobriner, E. R. Katzenellenbogen u. R. N. Jones, „Infrared Absorption spectra of steroids“, New York, London (1953).

⁹⁾ R. Suhrmann u. H. Luther, Fortschr. chem. Forsch., Bd. 2, S. 758 [1953], Springer-Verlag.

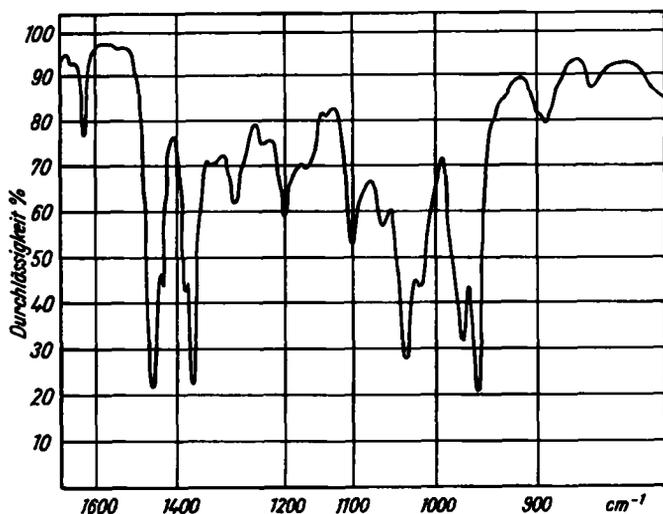
2. *iso*-Tachysterin (9.10-*seco*- $\Delta^{10,5,6,7,8,14,22,23}$ -Ergostatetraen-3 β -ol) (IV): Während sich das freie *iso*-Tachysterin (IV) im Gegensatz zum kristallinen Methyl-dinitrobenzoat bisher nur amorph isolieren ließ, gelang nun auch bei seinem entsprechenden Keton VII⁶⁾ nach chromatographischer Reinigung die Kristallisation.

Sowohl bei Behandlung von *iso*-Tachysterin-keton mit Bortrifluorid-Essigsäure als auch nach Spaltung seines Semicarbazons mit Oxalsäure in Eisessig wurde ein Öl gewonnen, das ein Absorptionsmaximum bei 324 $m\mu$ aufwies und ein kristallines Semicarbazon lieferte. Dieses besitzt eine außerordentlich intensive UV-Absorption mit folgenden Maxima: λ_{\max} 320 $m\mu$, $\epsilon = 46400$; 334 $m\mu$, $\epsilon = 72000$; 351 $m\mu$, $\epsilon = 62600$. Lage und Intensität derselben sowie die Verschiebung der Absorption des Semicarbazons im Vergleich zu der des freien Ketons beweisen, daß es sich um das völlig durchkonjugierte 9.10-*seco*- $\Delta^{4,5,6,7,8,14,22,23}$ -Ergostatetraen-3-on (VIII) bzw. sein Derivat handelt.



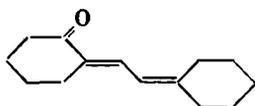
Eine nochmalige Überprüfung des UV-Spektrums von *iso*-Tachysterin ergab eine Verschiebung der Lage des vorderen Nebenmaximums um 1 $m\mu$ auf 279 (280) $m\mu$. Das Hauptmaximum liegt unverändert bei 290 $m\mu$.

Das UR-Spektrum des *iso*-Tachysterins (Abbild. 2) zeigt neben der Bande der Seitenkettendoppelbindung eine ausgeprägte Bande bei 955 cm^{-1} , die eindeutig einer disubstituierten, in Konjugation liegenden *trans*-Doppelbindung

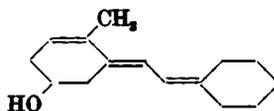


Abbild. 2. UR-Absorptionsspektrum von *iso*-Tachysterin in Kohlenstofftetrachlorid

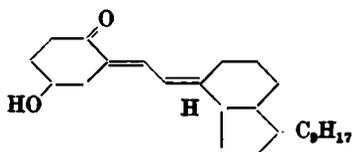
dig, den Einfluß des substituierten Fünfringes zu bestimmen. Dafür liegen folgende bisher bekannte Beispiele vor:



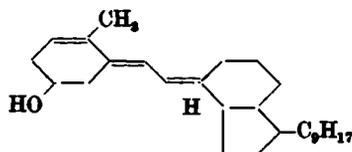
XII, λ_{\max} 297 $m\mu$



XIII, λ_{\max} 280.5 $m\mu$



XIV, λ_{\max} 302 $m\mu$
 $\Delta\lambda = 5 m\mu$



III, λ_{\max} 287.5 $m\mu$
 $\Delta\lambda = 7 m\mu$

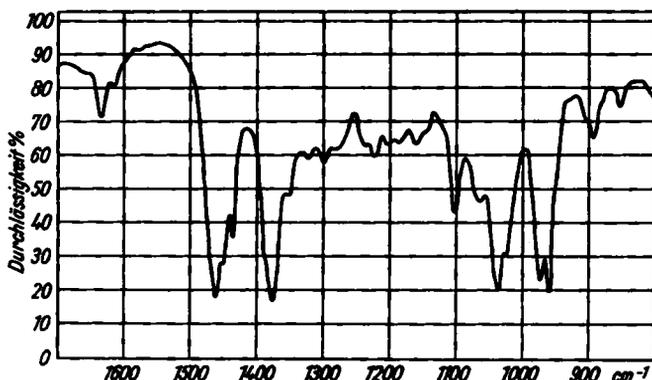
Dem von Dimroth beschriebenen Keton XII¹⁴⁾ entspricht das von uns beschriebene⁶⁾ Keton XIV, dem durch Aldersley dargestellten Trien XIII¹⁵⁾ das *iso*-Vitamin D₂ (III). Dem Modell XI entspricht fernerhin das *iso*-Tachysterin (IV) (λ_{\max} 290 $m\mu$). Im Durchschnitt ergibt sich demnach durch Anbau des Fünfrings nebst angulärer Methylgruppe und Seitenkette ein bathochromer Effekt von 6 $m\mu$. Addiert man diesen Betrag zu den Absorptionswerten des Tachysterinmodells X, so ergibt sich für eine *cis*-Konfiguration des Tachysterins ein Wert von $\sim 258 m\mu$, für die entsprechende *trans*-Konfiguration ein solcher von $\sim 285 m\mu$. Eine Überprüfung des UV-Spektrums von Tachysterin zeigte, daß die bisher bekannten Daten etwas korrigiert werden müssen. Wie schon für Tachysterin₂¹⁶⁾ angegeben wurde, besitzt auch Tachysterin₁ nur ein ausgeprägtes Maximum bei 281 $m\mu$, während sich die Nebenmaxima nur als Schultern in der Absorptionskurve ausprägen. Die Lage bei 281 $m\mu$ entspricht nahezu dem für eine *trans*-Konfiguration aus der Modellsubstanz abgeleiteten Wert.

Ein zweiter Beweis folgt aus der Betrachtung des UR-Spektrums (Abbild. 3). Tachysterin besitzt die gleiche Bande bei 955 cm^{-1} wie *iso*-Tachysterin, die eindeutig nur auf eine *trans*-Doppelbindung zwischen C⁶=C⁷ zurückgeführt werden kann. Dieselbe Bande weisen ebenfalls die *trans*-Modelle IX–XI auf. Damit kann Tachysterin endgültig die *trans*-Konfiguration (I) zugeordnet werden. Darüber hinaus ist hierdurch aber auch die Lage der Doppelbindung im Ring C im bisher gebräuchlichen Sinne als gesichert anzusehen, da die einzig mögliche andere Lage durch das *iso*-Tachysterin (IV) besetzt ist.

Bemerkenswert bleibt bei diesem Ergebnis die Tatsache, daß trotz der *trans*-Konfiguration die Extinktion der UV-Absorption beträchtlich niedriger

¹⁴⁾ K. Dimroth, Ber. dtsch. chem. Ges. 71, 1346 [1938].

¹⁵⁾ J. B. Aldersley, G. N. Burkhardt, A. E. Gillam u. N. C. Hindley, J. chem. Soc. [London] 1940, 10. ¹⁶⁾ L. Zechmeister, Chem. Reviews 84, 267 [1944].



Abbild. 3. UR-Absorptionsspektrum von Tachysterin in Kohlenstofftetrachlorid

ist als in den „all“-*trans*-Verbindungen III und IV. Im Zusammenhang hiermit erscheint es uns möglich, daß das noch nicht isolierte Protachysterin die bisher für Tachysterin geforderte (und von ihm bisher besetzte) *cis*-Struktur XV besitzt, die sehr unbeständig und durch Belichtung oder allein durch geringes Erwärmen in Tachysterin überführbar sein müßte.

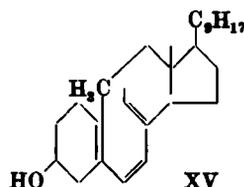
In unserer ersten Mitteilung⁶⁾ hatten wir die jetzt für Tachysterin bewiesene *trans*-Konfiguration I dem Pyrotachysterin zugeordnet, dessen UV-Absorption bisher mit Maxima bei 265, 289 und 300 μ angegeben war. Zur genauen Untersuchung war eine möglichst reine Darstellung notwendig.

Dabei ließ sich durch spektrale Messungen feststellen, daß zur weitgehenden Umwandlung des Tachysterins ein mindestens 8stdg. Erhitzen auf 220° notwendig war. Die erhaltenen Rohprodukte wurden zunächst einer Hochvakuumdestillation unterworfen, und es entstand daraus ein Öl, dessen UV-Absorption Maxima bei 278, 288 und 300 μ aufwies ($\epsilon = 25400 \text{ cm}^{-1}$). Durch chromatographische Trennung konnte eine weitere Reinigung erzielt werden. Das beste dabei gewonnene Produkt zeigte in nahezu vollkommener Übereinstimmung mit *iso*-Vitamin D₂ Maxima der UV-Absorption bei 277, 287 und 300 μ ($\epsilon = 28000 \text{ cm}^{-1}$). Es ist anzunehmen, daß es auch in völlig reinem Zustand dieselben Extinktionswerte besitzt.

Die in der Literatur angegebenen Werte bedürfen somit einer geringen Korrektur in die obigen Zahlen. Die optische Drehung zeigt in Übereinstimmung mit den bisherigen Angaben einen positiven Wert ($[\alpha]_D^{20} : +40^\circ$). Ein Versuch, durch Veresterung mit 4-Methyl-3,5-dinitro-benzoylchlorid ein kristallines Derivat zu erhalten, scheiterte.

Die gleiche Lage der UV-Maxima sowie die gleiche Richtung der Drehungsänderung führt zu dem Schluß, daß es sich bei Pyrotachysterin um das 9,10-*seco*- $\Delta^{1,10,6,6,7,8,22,23}$ -Ergostatetraen-3 β -ol (ein 14 α -*iso*-VitaminD₂) handelt¹⁷⁾.

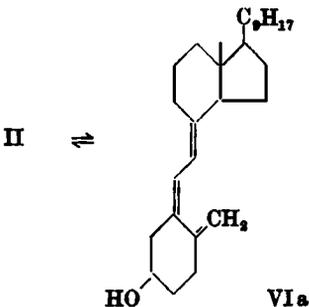
¹⁷⁾ Wir nehmen an, daß die sterischen Verhältnisse an C¹⁴ ohne Einfluß auf die Lage der UV-Absorption sind. Zur Unterstützung dessen haben wir die UV-Spektren der Semicarbazone des *cis*- und *trans*-C¹⁹-Abbauketons von Vitamin D₂ (K. Dimroth u. H. Jonsson, Ber. dtsh. chem. Ges. 74, 520 [1941]) gemessen und keinen Unterschied in der Lage des Absorptionsmaximums festgestellt (λ 231 μ).



Dieser Übergang scheint uns sehr bemerkenswert, da demnach die thermische Isomerisierung in entgegengesetzter Richtung wie die chemische vor sich geht.

Es muß jedoch betont werden, daß diese thermische Isomerisierung nicht immer eindeutig verläuft. Augenscheinlich entsteht eine von Ansatz zu Ansatz verschiedene Menge *iso*-Tachysterin, erkenntlich an der etwas längerwellig liegenden Hauptabsorption der letzten Chromatographie-Fractionen. In einem anderen Fall erwies sich eine über Aluminiumoxyd besonders gereinigte Probe des Tachysterins als äußerst widerstandsfähig gegenüber der thermischen Behandlung, denn noch nach 40stdg. Erhitzen auf 220° ließ sich spektral Tachysterin nachweisen und das Reaktionsgemisch bestand in der Hauptsache nicht aus Pyrotachysterin, sondern aus polymerisierten Anteilen. Scheint die Existenz des Pyrotachysterins (V) einerseits gesichert, so stellen andererseits seine Darstellungsbedingungen einen Engpaß dar, der noch genauerer Untersuchung bedarf.

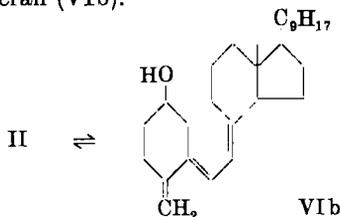
4. Präcalciferol (VI): Somit bliebe noch die strukturelle Einordnung des von Velluz, Amiard und Petit aufgefundenen Präcalciferols²⁾. Diese Autoren führten sowohl die Bestrahlung des Ergosterins als auch die Aufarbeitung des hierbei erhaltenen Produktes unterhalb 30° durch und konnten den Dinitrobenzoesäureester eines bisher unbekanntenen Alkohols $C_{28}H_{44}O$ abtrennen, der sich als Isomeres des Vitamins D_2 erwies und von Velluz Präcalciferol genannt worden ist. Dieser Stoff zeichnet sich dadurch aus, daß er sich unter mildester thermischer Einwirkung – langsam schon bei Zimmertemp., schneller beim Erwärmen auf 60° – in Vitamin D_2 umlagert. Diese Umwandlung darf als ein bemerkenswertes Phänomen angesprochen werden. Wie Velluz fernerhin beobachtet hat, besteht zwischen Vitamin D_2 und Präcalciferol ein Gleichgewicht, das weitgehend auf der Seite des Vitamins D_2 liegt. Wird z. B. der Ester des Vitamins in benzolischer Lösung 20 Stdn. auf 60° erhitzt, so läßt sich, wie wir inzwischen bestätigen konnten, durch Chromatographie und fraktionierte Kristallisation aus den Mutterlaugen leicht dasselbe Präcalciferol-dinitrobenzoat gewinnen, dessen Existenz erstmals bei der UV-Bestrahlung des Ergosterins unter den oben genannten Bedingungen entdeckt wurde.



Die Umwandlung von Präcalciferol in Vitamin D_2 lediglich durch gelindes Erwärmen, und das Gleichgewicht zwischen beiden Isomeren sowie schließlich die spektralen Daten der neuen Vorstufe des Vitamins D_2 lassen kaum Spielraum für die Annahme von Doppelbindungsverschiebungen. Velluz und Mitarbeiter geben zwei Deutungen für die Struktur dieses Stoffes.

Einmal wird die Existenz zweier atropisomerer Strukturen II und VIa für Vitamin D_2 für möglich gehalten. Vitamin D_2 wird dabei die „offene“ Form (VIa) zugeschrieben, während das instabile Präcalciferol die „geschlossene“ Form (II) besitzen soll. Grundlegend für die Annahme der offenen Struktur war dabei die Röntgenstrukturanalyse des 4-Jod-5-nitro-benzoats von Vitamin D_2

durch Crowfoot und Dunitz⁴⁾. Andererseits ziehen Velluz und Mitarbeiter die Möglichkeit einer echten geometrischen Isomerie an einer der beiden Doppelbindungen heran (VIb).



Eine Reihe von Beispielen aus der Carotinoid-Chemie zeigt, daß echte *cis-trans*-Isomerisierungen auch schon bei geringer Erwärmung in Lösung möglich sind¹⁶⁾.

In der nachstehenden Tafel sind alle bisher bekannten ringoffenen Vertreter der VitaminD-Reihe mit ihren wichtigsten Daten zusammengestellt. Bei der Prüfung auf physiologische Wirksamkeit erwiesen sich *iso*-Tachysterin sowie sein entsprechendes Keton als unwirksam.

Über die weitere physiologische Untersuchung der neuen VitaminD-Isomeren und ihrer Bestrahlungsprodukte wird zu gegebener Zeit berichtet.

Physikalische Eigenschaften ringoffener Verbindungen der VitaminD-Reihe

	$[\alpha]_D$	λ_{\max} (m μ)	ϵ (cm ⁻¹)
(4) Präcalciferol ...	+30° (Bzl.)	265 ³⁾	10700
(4) Vitamin D ₂ ...	+85° (Bzl.)	265	18300
(5) Tachysterin ...	-70° (P. Ä.)	(271) 281 (290)	24600
(5) Pyrotachysterin	(+40°) (Chlf.)	277 287 300	(28000)
(5) <i>iso</i> -Vitamin D ₂	+83.5° (Chlf.)	276 287 300	44100
(6) <i>iso</i> -Tachysterin	-71° (Chlf.)	279 290 302	41800

(Die Zahlen vor den Stoffen kennzeichnen die Zahl der Substituenten am chromophoren System).

Hrn. Prof. Dr. F. Mietzsch, Elberfeld, danke ich für die Überlassung des kostbaren Tachysterins (als Ester) und die Ausführung der physiologischen Untersuchungen sowie der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemie für die gewährte Unterstützung. Hr. Prof. Dr. H. Luther, Braunschweig, danke ich für die Aufnahme und Diskussion der UR-Spektren (H. H. I.).

Beschreibung der Versuche¹⁶⁾

iso-VitaminD₂ (III)

Die Darstellung verlief im wesentlichen nach dem in unserer ersten Mitteilung⁶⁾ beschriebenen Verfahren, jedoch war es zweckmäßig, dem Ausgangsprodukt zur Wasserabspaltung bei der Destillation etwas Aluminiumoxyd beizufügen. Das Destillationsprodukt ließ sich dann aus Methanol in Form feiner Nadeln vom Schmp. 102–104° umkristallisieren; $[\alpha]_D$: + 83.5° \pm 1° (Chlf.). λ_{\max} 276 m μ , ϵ = 33700; 287 m μ , ϵ = 44100; 300 m μ , ϵ = 32200.

C₂₈H₄₄O (396.6) Ber. C 84.79 H 11.18 Gef. C 84.74 H 11.27

¹⁶⁾ Alle Versuche wurden unter reinstem Stickstoff ausgeführt. Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert; die Mikroanalysen wurden von Hr. Dr. A. Schoeller, Kronach/Obfr. ausgeführt.

Eigenschaften des *iso*-Vitamins D₂

1. Verhalten beim Erhitzen: Nach 8stdg. Erhitzen auf 220° trat nur eine minimale Erniedrigung der UV-Absorption auf ($\epsilon = 39100$). Bei gleich langer Erhitzung auf 240° war diese zwar etwas größer ($\epsilon = 26900$), jedoch blieb der Charakter des Spektrums unverändert, so daß der verhältnismäßig geringe Abbau wahrscheinlich nur einer allgemeinen Zersetzung zuzuschreiben war.

2. Verhalten gegenüber Maleinsäureanhydrid: 150 mg *iso*-Vitamin D₂ wurden zusammen mit 90 mg Maleinsäureanhydrid in 3 ccm Benzol 6 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Danach wurden 235 mg Kaliumhydroxyd und 5 ccm Methanol zugefügt und dieses Reaktionsgemisch weitere 2 $\frac{1}{2}$ Stdn. erhitzt. Nach üblicher Aufarbeitung erhielt man 141 mg Neutralanteil, der wieder kristallisierte und sich als unverändertes *iso*-Vitamin D₂ erwies.

3. Verhalten beim Belichten: 18 mg *iso*-Vitamin D₂ wurden in 1 ccm Benzol gelöst und in einem Quarzröhrchen i. Hochvak. unter Stickstoff eingeschmolzen. Die Bestrahlung erfolgte mit einer Xenon-Hochdrucklampe, die ein kontinuierliches Licht bis zu 220 m μ emittierte. Nach 10 Min. Bestrahlung zeigte das Spektrum einen Haltepunkt bei 265 m μ ($\epsilon = 15700 \text{ cm}^{-1}$) und das Hauptmaximum bei 287 m μ mit $\epsilon = 30000 \text{ cm}^{-1}$. Eine andere Probe zeigte nach 1stdg. Bestrahlung einen Haltepunkt bei 265 m μ mit $\epsilon = 13700 \text{ cm}^{-1}$ und daneben weiterhin Ausgangsprodukt mit den folgenden Daten (278 m μ , $\epsilon = 17550$; 288 m μ , $\epsilon = 21800$; 300 m μ , $\epsilon = 16000$).

Eine dritte Probe wurde mit einer Quecksilber-Hochdrucklampe 7 Stdn. bestrahlt, wobei bei 265 m μ wieder nur ein Haltepunkt zu erkennen war ($\epsilon = 5680$), daneben aber auch hier noch alle Maxima des Ausgangsproduktes vorlagen (276 m μ , $\epsilon = 7640$; 287 m μ , $\epsilon = 9200$; 300 m μ , $\epsilon = 6400$).

iso-Tachysterin-ke-ton (VII)

Das in unserer I. Mitteil. beschriebene Rohketon wurde einer Chromatographie unterworfen. Dabei eluierte Benzol zunächst einen geringen Vorlauf, danach das Keton als hellgelbes Öl. Dieses kristallisierte allmählich durch und ließ sich aus Chloroform/Methanol zu Blättchen vom Schmp. 82–83° umkristallisieren; $[\alpha]_D: -43.5^\circ \pm 1^\circ$ (Chlf.).

λ_{max} 280 m μ , $\epsilon = 34400$; 290 m μ , $\epsilon = 44900$; 302 m μ , $\epsilon = 32600$.

C₂₉H₄₂O (394.6) Ber. C 85.26 H 10.73 Gef. C 84.54 H 10.66

Umlagerung des *iso*-Tachysterin-ke-ton-s zu VIII: 0.2 g *iso*-Tachysterin-ke-ton wurden in 20 ccm Benzol gelöst, mit 0.02 ccm Bortrifluorid/Eisessig versetzt und 20 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen, danach wie üblich aufgearbeitet. Es entstanden 0.2 g eines roten Öls mit einer UV-Absorption bei 324 m μ ($\epsilon = 28000 \text{ cm}^{-1}$). Dieses Rohprodukt wurde chromatographisch gereinigt; dabei eluierte Benzol zunächst Ausgangsmaterial, anschließend das Umlagerungsprodukt VIII, das sich durch Äther vollständig auswaschen ließ; Ausb. 0.14 g (70% d.Th.). λ_{max} 324 m μ , $\epsilon = 32400$.

Das Äther-Eluat wurde nun mit 2 ccm einer 10-proz. methanol. Semicarbazid-acetat-Lösung 20 Min. erhitzt. Es entstanden 0.115 g eines Semicarbazons, das nach mehrfacher Umkristallisieren aus Chloroform/Methanol in Nadeln vom Schmp. 212–214° (Zers.) anfiel; $[\alpha]_D: -85.5^\circ$ (Chlf.); λ_{max} 320 m μ , $\epsilon = 46400$; 334 m μ , $\epsilon = 72000$; 351 m μ , $\epsilon = 62600$.

C₂₉H₄₅ON₃ (451.7) Ber. C 77.11 H 10.04 N 9.30 Gef. C 77.22 H 9.68 N 8.98

Spaltung des *iso*-Tachysterin-ke-ton-semicarbazons zu VIII: 0.35 g Semicarbazon von VII wurden in 10 ccm Eisessig gelöst, mit 0.7 g Oxalsäure versetzt, das Reaktionsgemisch 10 Min. unter Rückfluß gekocht, anschließend in viel Wasser eingegossen und in üblicher Weise aufgearbeitet. Das Rohprodukt, ein rotes Öl, wurde in gleicher Weise, wie oben beschrieben, chromatographisch gereinigt; Ausb. 0.22 g (72% d.Th.). Es lieferte ein Semicarbazon, das mit dem im vorstehenden Versuch erhaltenen identisch war.

Isomerisierung des Tachysterins (I) zu IV: 600 mg Tachysterin (I) wurden 22 Stdn. mit 0.06 ccm Bortrifluorid-ätherat in 30 ccm Benzol stehengelassen und danach

wie üblich aufgearbeitet. Nach 2maliger Destillation bei 10^{-3} Torr wurden 410 mg *iso*-Tachysterin (IV) erhalten (λ_{\max} 290 μ ; $\epsilon = 39800$), die nach Veresterung mit 4-Methyl-3.5-dinitro-benzoylchlorid und Chromatographie des Rohproduktes den kristallinen Ester lieferten, bewiesen durch Schmp. (126–127.5°), Misch-Schmp. und UV-Spektrum.

Erhitzungsversuch am Tachysterin (I): 680 mg Tachysterin (I) wurden in einem Rohr sorgfältig i. Hochvak. bei 100–120° entgast, dann abgeschmolzen und 22 Stdn. auf 220° erhitzt. Das Rohprodukt zeigte im UV-Spektrum Haltepunkte bei 278 und 300 μ und ein Maximum bei 288 bis 289 μ ($\epsilon = 17900$). Nach Destillation i. Hochvak. bei 10^{-3} Torr wurden 402 mg eines Öls erhalten mit schwachen Maxima bei 278 und 300 μ und einer Hauptabsorption bei 288 μ ($\epsilon = 25400$). Dieses Rohprodukt wurde einer chromatographischen Reinigung unterworfen. Dabei eluierte Benzol zunächst Spuren von Verunreinigungen, Äther schließlich 135 mg einer Fraktion mit Maxima bei 277, 287 und 300 μ ($\epsilon = 28000$) ($[\alpha]_D: + 40^\circ$ in Chlf.). In den folgenden Fraktionen waren die Maxima nach 278, 289 und 301 μ verschoben. Die erste Fraktion stellt somit die reinste Anreicherung von Pyrotachysterin (V) dar, die gewonnen werden konnte. Sie wurde wie üblich mit 4-Methyl-3.5-dinitro-benzoylchlorid verestert, jedoch gelang es nicht, das gewonnene Produkt zu kristallisieren.

Isomerisierung von Pyrotachysterin (V): 160 mg Erhitzungsprodukte (V) wurden unter denselben Bedingungen, wie sie für Tachysterin beschrieben wurden, mit Bortrifluorid-ätherrat behandelt. Dabei trat eine Verschiebung der Absorptionsmaxima nach 280, 290 und 302 μ ein. Die Extinktion des somit gewonnenen *iso*-Tachysterins erreichte nach Destillation jedoch – infolge des unreinen Ausgangsmaterials – einen Wert von nur $\epsilon = 23000$.

Verhalten des *iso*-Tachysterins (IV) gegenüber Maleinsäureanhydrid: 574 mg *iso*-Tachysterin (IV) wurden mit 310 mg Maleinsäureanhydrid in 7 ccm Benzol 6 Stdn. unter Rückfluß gekocht, danach mit 800 mg Kaliumhydroxyd in 18 ccm Methanol versetzt und weitere 2½ Stdn. erhitzt. Nach üblicher Aufarbeitung wurden 502 mg Neutralprodukt zurückgewonnen.

Präcalciferol

30 g Vitamin D₂-3.5-dinitro-benzoester wurden 20 Stdn. unter Stickstoff in 1 l Benzol auf 60° erwärmt. Das Gemisch zeigte danach eine Drehung von $[\alpha]_D: + 51^\circ$ in Benzol (Lit. + 51°). Anschließend wurde die Lösung unterhalb 20° eingengt und aus Aceton ungefähr 8 g Vitamin D-Ester auskristallisiert. Nun wurde das zurückbleibende Öl in Benzol über Aluminiumoxyd chromatographiert und ein Vorlauf und Nachlauf abgetrennt. Aus den mittleren Fraktionen ließen sich durch fraktionierte Kristallisation 3.2 g Nadeln des Präcalciferol-dinitrobenzoats vom Schmp. 95–97° abtrennen. Eine Probe wurde mehrfach aus Aceton/Methanol umkristallisiert und zeigte dann den Schmp. 101–102° (Lit. 103–104°) und eine Drehung von $[\alpha]_D: + 35^\circ$ in Benzol (Lit. $[\alpha]_D: + 30^\circ$).

1.01 g Präcalciferol-dinitrobenzoat wurden in 20 ccm Benzol gelöst und nach Versetzen mit 78 ccm 3-proz. methanol. Kalilauge 24 Stdn. im Eisschrank bei 0° stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung unterhalb 20° besaß das ölige Präcalciferol eine Drehung von $[\alpha]_D: + 30^\circ$ in Benzol (Lit. $[\alpha]_D: + 43^\circ$).

220 mg Präcalciferol-dinitrobenzoat wurden in 22 ccm Benzol 20 Stdn. unter Stickstoff auf 60° erwärmt. Das Gemisch zeigte danach in Übereinstimmung mit Literaturangaben eine Drehung von $[\alpha]_D: + 50^\circ$; auf Anspritzen mit Aceton kristallisierten die derben Prismen des VitaminD-Esters aus.