

HANS HERLOFF INHOFFEN, KLAUS IRMSCHER,
HORST HIRSCHFELD, ULLRICH STACHE und ARMIN KREUTZER

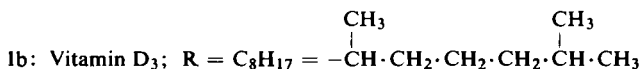
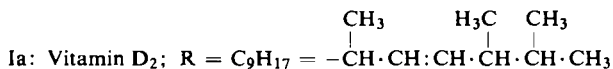
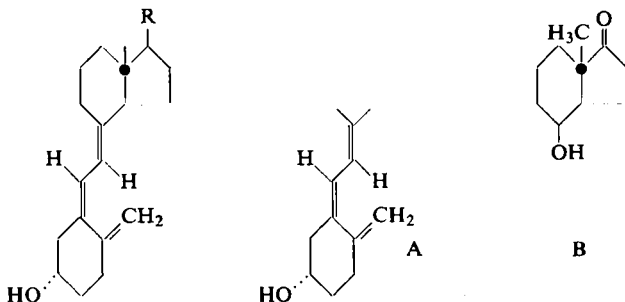
Studien in der Vitamin D-Reihe, XXVI¹⁾

Partialsynthese der Vitamine D₂ und D₃^{*)}

Aus dem Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule Braunschweig
(Eingegangen am 14. Juli 1958)

Die C-3-Epimerengemische der aus den Abbau-Aldehyden der D₂- und D₃-Reihe durch Aufbau gewonnenen Dienone wurden chromatographisch getrennt und die vier einheitlichen C-3-Epimeren der beiden Reihen in die Wittig-Reaktionen mit Triphenyl-phosphin-methylen eingesetzt. Von den hierbei erhaltenen vier *trans*-Vitaminen D waren zwei Vertreter mit 3 β -Hydroxy-*trans*-Vitamin D₂ und D₃ identisch, deren Photo-Isomerisierung zu den Vitaminen D₂ und D₃ bereits beschrieben ist. Die bisher unbekanntenen 3 α -Hydroxy-*trans*-Vitamine D₂ und D₃ wurden zu den gleichfalls noch nicht bekannten 3-*epi*-Vitaminen D₂ und D₃ isomerisiert.

Das Problem einer Totalsynthese der Vitamine D (Ia und Ib) hat sich für uns im Verlauf der letzten 5 Jahre in zwei Hauptarbeitsrichtungen aufgeteilt. Einerseits war die Erzeugung des charakteristischen Systems der drei konjugierten semicyclischen



C

Doppelbindungen anzustreben, wobei dieses System zwei Besonderheiten aufweist, nämlich eine exocyclische Methylengruppe sowie *cis*-Konfiguration an der mittel-

¹⁾ XXV. Mittel.: H. H. INHOFFEN, G. QUINKERT, S. SCHÜTZ, G. FRIEDRICH und E. TOBER, Chem. Ber. 91, 781 [1958].

^{*)} Vorgetragen von H. H. INHOFFEN auf der Sitzung der Chemischen Gesellschaft in Basel am 3. Juli 1958.

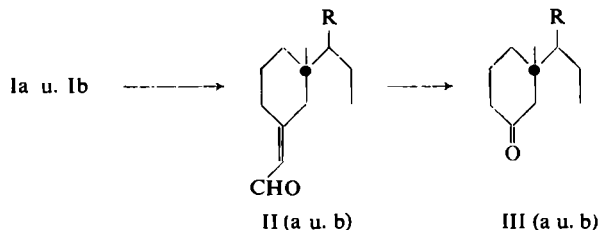
ständigen Doppelbindung. Die Verknüpfungsart der hiermit zwangsläufig verbundenen 9 Kohlenstoffatome (s. A.) bietet an sich keine besondere Schwierigkeit. Zum anderen war das Gerüst der insgesamt 27 bzw. 28 C-Atome aufzubauen, das nach unserer Grundkonzeption im wesentlichen mit dem angular methylierten *trans*-Hydrindan-System der Ringe C und D (s. B.) gegeben war. Die Seitenketten mit 8 bzw. 9 C-Atomen (s. C.) wurden hierbei als letzter, jedoch keinesfalls unbedeutender Teil gesondert behandelt. Wenn wir die Vitamine D nach diesem Schema auflgliedern, treten die drei vorgenannten Problemteile (A.—C.) als in sich geschlossene Aufgaben klar zutage.

Zu allererst haben wir uns dem empfindlichen Triensystem gewidmet. Es sei hier erwähnt, daß auch beim Aufbau des 8-Methyl-*trans*-hydrindan-ol-(4)-ons-(1) (B) unerwartete Hindernisse überwunden werden mußten, was erst in allerletzter Zeit gelungen ist.

Das Ausmaß der Schwierigkeiten, die mit dem Polyen-Chromophor zusammenhingen, ist erst allmählich zutage getreten und hat im Verlauf unserer Studien zur Auffindung und Darstellung neuer, bisher unbekannter Isomerer der Vitamin D-Reihe geführt, nämlich von *trans*-Vitamin D₂²⁾, von *iso*-Vitamin D₂³⁾ und *u*-Tachysterin₂⁴⁾ sowie schließlich von *iso*-Tachysterin₂³⁾. Die Konstitution dieser Isomeren mußte in jedem Fall erst geklärt und anschließend durch Partialsynthese erhärtet werden. Besonders wertvoll war dabei die Ermittlung der mit den verschiedenen Trien-Chromophoren verbundenen UV-Absorptionen.

Das definitive Einmünden in einen bestimmten Syntheseweg wurde noch durch einen weiteren Umstand verzögert, der uns zunächst günstig erschienen war. Unter den von WINDAUS und seiner Schule durch Photo-Isomerisierung erhaltenen Bestrahlungsprodukten des Ergosterins befindet sich das Tachysterin₂⁵⁾, das durch weitere Einwirkung von UV-Licht in Vitamin D₂ übergeführt werden kann. Eine Synthese des Tachysterins hätte somit auch das Vitamin D erfaßt. In der Tat ist uns längere Zeit eine Synthese des Tachysterins als die weniger schwierige Aufgabe erschienen, eine Hoffnung, die sich bis heute nicht erfüllt hat. Wenn wir uns seit etwa 4 Jahren endgültig auf die Vitamin D-Synthese konzentriert haben, so ist dies vor allem dem Bekanntwerden der Reaktion von WITTIG zu verdanken.

Bei dem Problem einer Partialsynthese konnte an die Arbeit der Schulen von WINDAUS und von HEILBRON am Vitamin D erfolgreich wiederangeknüpft werden.



Das systematische Studium des oxydativen Abbaus hat nämlich seinerzeit zu Spaltstücken geführt, die für eine Resynthese geeignet erschienen, und zwar sind dies

²⁾ H. H. INHOFFEN, J. KATH, W. STICHERLING und K. BRÜCKNER, *Angew. Chem.* **67**, 276 [1955]; *Liebigs Ann. Chem.* **603**, 25 [1957].

³⁾ H. H. INHOFFEN, K. BRÜCKNER und R. GRÜNDEL, *Chem. Ber.* **87**, 1 [1954].

⁴⁾ H. H. INHOFFEN, K. BRÜCKNER, K. IRMSCHER und G. QUINKERT, *Chem. Ber.* **88**, 1424 [1955].

⁵⁾ A. WINDAUS, F. v. WERDER und A. LÜTTRINGHAUS, *Liebigs Ann. Chem.* **499**, 188 [1932].

insbesondere der sogenannte Abbau-Aldehyd II⁶⁾ und das Abbau-Keton III⁷⁾. Hiermit waren sogenannte „Relais-Substanzen“ gegeben, durch die die Hauptreaktionsfolgen parallel geschaltet werden konnten.

VITAMIN D₂-(a-)REIHE

Als erste Stufe eines rückläufigen Aufbaus zum Vitamin D₂ hatten wir durch Aldolkondensation des Abbau-Aldehyds IIa mit *p*-Acetoxy-cyclohexanon mittels Natriumäthylats bei -20° das C₂₇-Keton in zunächst etwa 35-proz. Ausbeute erhalten³⁾ (IVa + Va), womit in einer Stufe die zweite semicyclische Doppelbindung sowie der Ring A mit der Hydroxylgruppe und der Keton-Funktion für den Anbau des noch fehlenden Kohlenstoff-Atoms angegliedert waren. Später kondensierten wir das ungeschützte *p*-Hydroxy-cyclohexanon selbst bei Zimmertemperatur unter Zusatz von 1 % Wasser, wobei regelmäßig Ausbeuten von 55 % erzielt werden konnten, womit das Verhältnis der beiden C-3-Epimeren sich in keiner Weise änderte: der Schmelzpunkt von $141-141.5^{\circ}$ und die Drehung von $[\alpha]_D^{20}$: $+161^{\circ}$ blieben innerhalb der Fehlergrenzen konstant, wie wir es auch erwartet hatten. Die von vornherein ins Auge gefaßte Trennung des Gemisches der beiden am C-Atom 3 epimeren Alkohole wurde zunächst aus dem naheliegenden Grunde zurückgestellt, daß wir uns erst von der grundsätzlichen Durchführbarkeit der anzuschließenden Reaktionen überzeugen wollten.

Durch Umsetzung des Dienon-Gemisches mit Triphenyl-phosphin-methylen nach WITTIG⁸⁾ konnte zunächst die charakteristische Methylengruppe in Konjugation zu der bereits vorliegenden Dien-Gruppierung eingeführt werden. Hierbei haben wir an der 5.6-Doppelbindung infolge der sterischen Verhältnisse von vornherein die *trans*-Konfiguration erwartet. Dies war in der Tat der Fall. Die gewonnene, von uns als 5.6-*trans*-Vitamin D₂ bezeichnete Verbindung hatte die angenommene Struktur (VIa + VIIa), wie wir anschließend zeigen konnten²⁾. Das Maximum der UV-Absorption des *trans*-Vitamins D₂ lag bei $272-273\text{m}\mu$, also gegenüber derjenigen des Vitamins D₂ um $7-8\text{m}\mu$ längerwellig, was sich mit der Verlängerung des Chromophors und der Verringerung der sterischen Hinderung überzeugend erklären ließ. Den schließlichen Beweis für die Konstitution lieferte die Oppenauer-Oxydation zum Keton, wobei sich bekanntlich die 5.6-Doppelbindung in die 4.5-Lage verschiebt. Hiermit verschwinden sowohl die *cis-trans*-Isomerie an der 5.6-Doppelbindung wie die Epimerie am C-3-Hydroxyl. Das Keton war mit dem von WINDAUS beschriebenen Stoff identisch. Damit war sichergestellt, daß an der 7.8-Doppelbindung und vor allem am asymmetrischen C-Atom 14 unverändert die ursprüngliche, natürliche Anordnung vorlag. Man hatte immerhin mit einem Übergang des *trans*-Hydrindan-Gerüsts in das *cis*-System über eine Enolform des Aldehyds rechnen müssen⁹⁾.

⁶⁾ A. WINDAUS und U. RIEMANN, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **274**, 206 [1942]; I. M. HEILBRON, R. N. JONES, K. M. SAMANT und F. S. SPRING, J. chem. Soc. [London] **1936**, 905.

⁷⁾ A. WINDAUS und W. GRUNDMANN, Liebigs Ann. Chem. **524**, 295 [1936]; H. BROCKMANN und A. BUSSE, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **256**, 252 [1938].

⁸⁾ G. WITTIG und U. SCHÖLLKOPF, Chem. Ber. **87**, 1318 [1954].

⁹⁾ H. H. INHOFFEN, G. QUINKERT und S. SCHÜTZ, Chem. Ber. **90**, 1283 [1957].

Die Wittig-Reaktion wurde zunächst mit dem Acetat des Dienon-Gemisches durchgeführt. Als F. SONDHEIMER und R. MECHOULAM¹⁰⁾ zeigten, daß die Darstellung von Methylenverbindungen nach WITTIG auch bei Anwesenheit freier Hydroxylgruppen möglich ist, wenn man mit 5fachem Ylen-Überschuß arbeitet, versuchten wir, diese Arbeitsweise auf unsere Substanz zu übertragen, da sich hierdurch die Möglichkeit anbot, die beiden Stufen der Acetylierung des Dienon-Gemisches sowie der Verseifung des *trans*-Vitamin D-acetats einzusparen. Die von SONDHEIMER angegebenen Bedingungen zur Spaltung des Betains, nämlich siedendes Tetrahydrofuran, waren jedoch zu energisch und zerstörten unsere Substanz. Die Betainspaltung in siedendem Äther dagegen lieferte uns reproduzierbare Ausbeuten an *trans*-Vitamin D um 50 %.

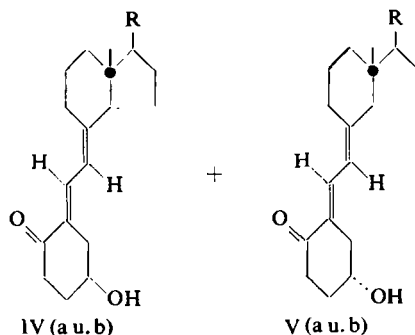
Auch jetzt lag noch kein unmittelbarer Anlaß vor, die Trennung des Gemisches der C-3-Epimeren durchzuführen, da zuvor eine Photo-Isomerisierung zum 5.6-*cis*-Vitamin D den schließlichen Erfolg der Reaktionsfolge sicherstellen mußte. Aber auch diese letzte Klippe ließ sich überwinden, wobei indessen besondere Bedingungen aufzufinden waren. Das nahe Beieinanderliegen der UV-Absorptionen der *cis*- und *trans*-Vitamine D ließ eine ungefilterte Einstrahlung des UV-Lichts unzweckmäßig erscheinen, da gebildetes Vitamin D der Gefahr einer Weiterveränderung zu den bekannten, von WINDAUS beschriebenen Suprasterinen ausgesetzt wäre. Wir haben schließlich die notwendige Filtration des UV-Lichts des Hg-Dampfes einfach durch Bestrahlung in Glas erreicht, eine für UV-Licht nicht gewöhnliche Anordnung. Da die UV-Durchlässigkeit des Glases unterhalb 290m μ rasch und stark abnimmt, sollte so die Aktivierungsgrenze des *trans*-Vitamins D noch eben erreicht werden, wohingegen das jeweils gebildete *cis*-Vitamin D durch seine kürzerwellige Absorption geschützt blieb. Dieses Ziel hat sich verwirklichen lassen und lieferte uns das Vitamin D₂ (Ia) in Ausbeuten von 50 %¹¹⁾. Damit war grundsätzlich der Ring der partiellen Abbau- und Aufbaureaktionen geschlossen und eine erste Partialsynthese des Vitamins D₂ verwirklicht. Auf den Umstand, daß die Photo-Isomerisierung zunächst mit dem an C-3 einheitlichen *trans*-Vitamin D₂ vorgenommen war, kommen wir später noch zurück.

Jetzt wandten wir uns der Epimeren-Trennung zu, die an der uns am geeignetsten erscheinenden Stelle vorgenommen wurde, nämlich am Ausgangs-Hydroxyketon (IVa + Va). Hierdurch sollte von vornherein Klarheit über das wahre Epimeren-Verhältnis geschaffen werden, und schließlich war aus den jahrzehntelangen Erfahrungen in der Steroid-Chemie allgemein bekannt, daß man immer mit der Bildungsmöglichkeit von Mischkristallisaten und Additionsverbindungen auch von Ester-Derivaten zu rechnen hatte, so daß deren Verwendung zur Epimeren-Trennung keine vorauszusehenden Vorteile versprach. Da sich die Molekeloberflächen der α - und β -Hydroxyketone (IVa und Va) voneinander unterscheiden mußten, sollte dementsprechend auch eine verschieden starke Haftung an aktiven Oberflächen und damit eine chromatographische Trennung möglich sein. Diese Überlegung hat sich als richtig erwiesen. Die Trennung der beiden Epimeren ließ sich mittels Aluminiumoxyds erreichen, wobei

¹⁰⁾ J. Amer. chem. Soc. 79, 5029 [1957].

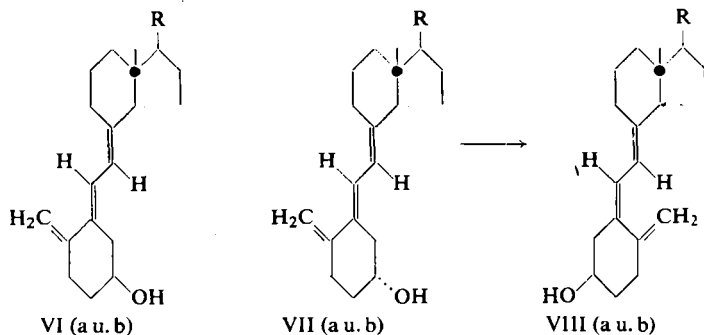
¹¹⁾ H. H. INHOFFEN, G. QUINKERT, H.-J. HESS und H. HIRSCHFELD, Naturwissenschaften 44, 11 [1957]; Chem. Ber. 90, 2544 [1957].

eine nochmalige gleiche Behandlung der so getrennten und durch anschließende Kristallisation rein erhaltenen Epimeren deren Einheitlichkeit bewies, indem sich die Konstanz der bereits vorher erarbeiteten Daten herausstellte. Das 3- β -Hydroxyketon₂ IVa schmilzt bei 142.5–144° und zeigt die optische Drehung +218°, während das 3- α -Epimere₂ Va bei 132–133.5° schmilzt und die Drehung +106° aufweist. Das Verhältnis hat sich hierbei erwartungsgemäß praktisch als 1:1 erwiesen.



Das Weitere war nunmehr einfach. Die Ketone IVa und Va wurden in der bereits geübten und beschriebenen Weise²⁾ in die Wittig-Reaktion eingesetzt und hierbei die epimeren *trans*-Triene₂ VIa und VIIa erhalten. Eines hiervon erwies sich als identisch mit dem von uns nach HAVINGA dargestellten 3- β -Hydroxy-5.6-*trans*-Vitamin D₂ VIa¹²⁾. Schmelzpunkt, Misch-Schmelzpunkt, Drehung, UV- und IR-Spektren zeigten keinerlei Unterschiede.

Während sich die letzte UV-Photo-Isomerisierung an der 5.6-Doppelbindung für das β -Epimere (VIa) erübrigte, da diese Reaktionsstufe bereits vorweggenommen war¹¹⁾, mußte sie beim α -Epimere (VIIa) noch nachgeholt werden, um das bisher in reiner Form unbekannte *epi*-Vitamin D₂ (VIIIa) kennenzulernen. Dieser Stoff wurde durch sein 3.5-Dinitrobenzoat charakterisiert, das sich vor allem durch seine Drehung von $[\alpha]_D^{20}$: +4° von der des Vitamin D₂-Esters unterschied, während die IR-Spektren der beiden epimeren Ester praktisch identisch waren.



¹²⁾ H. H. INHOFFEN, G. QUINKERT, H.-J. HESS und H.-M. ERDMANN, Chem. Ber. 89, 2273 [1956]; A. VERLOOP, A. L. KOEVOET und E. HAVINGA, Recueil Trav. chim. Pays-Bas 74, 1125 [1955].

An dieser Stelle haben wir uns mit der Arbeit von LYTHGOE und Mitarbeiter¹³⁾ zu befassen, in der eine Partialsynthese des Vitamins D₂ und des *epi*-Vitamins D₂ beschrieben wird. Die englischen Autoren starten mit dem Dienon-Epimerengemisch IVa + Va³⁾ und führen die beiden Reaktionen durch, die bereits in die Vitamin D-Chemie eingeführt waren, nämlich die Wittig-Reaktion mit Triphenyl-phosphin-methylen²⁾ und die *trans-cis*-Isomerisierung mit durch Glas gefiltertem UV-Licht¹¹⁾. Hierbei vertauschen sie lediglich die Reihenfolge der beiden Stufen. Es wurde Vitamin D₂-Ester isoliert, ein bisher unbekannter *epi*-Vitamin D₂-Ester beschrieben und das Dienon-Epimeren-Verhältnis für α/β mit 3:1 angegeben.

Unsere Experimente haben, wie vorstehend geschildert, zu anderen Ergebnissen geführt, indem sich das Epimeren-Verhältnis erwartungsgemäß als 1:1 herausstellte. Dagegen ist HARRISON und LYTHGOE ein experimenteller Fehler unterlaufen; sie haben das ursprüngliche 1:1-Dienon-Epimerengemisch durch Chromatographie „gereinigt“ und eine Fraktion – 15% des Gesamtmaterials – verworfen, die mit dem α -Epimeren angereichert war. Hierdurch haben sie ungewollt einen nicht erkannten Überschuß am β -Epimeren erzeugt, der nur mit dieser Voraussetzung isoliert zu werden vermochte. Inwieweit auch bei anderen chromatographischen Operationen weitere Veränderungen im Epimeren-Gehalt mitspielen, ist nicht festzustellen.

Die behauptete Trennbarkeit der beiden epimeren Vitamin D₂-Ester durch einfache Kristallisation ist nicht möglich, wenn das Mischungsverhältnis 1:1 beträgt, wie es synthese-gemäß der Fall ist. Im strengen Sinn ist daher das Ergebnis von LYTHGOE nicht reproduzierbar, da die zufällige Änderung des 1:1-Verhältnisses der Epimeren nicht angegeben, also offensichtlich nicht erkannt worden ist.

Nach Abtrennung des überschüssigen Vitamin D₂-Esters wurde ein *epi*-Vitamin D₂-Ester mit der Drehung $[\alpha]_D^{20}$: +35° beschrieben. Unser *epi*-Vitamin D₂-Ester, aus einheitlichem α -Dienon erhalten, zeigt die Drehung $[\alpha]_D^{20}$: +4°. Der sogenannte *epi*-Vitamin D₂-Ester von LYTHGOE stellt somit ein Epimerengemisch α/β im Verhältnis von etwa 1:1 dar.

Schließlich behauptet LYTHGOE, daß unser seinerzeit beschriebenes *trans*-Vitamin D₂-Epimerengemisch mit $[\alpha]_D^{20}$: +74.8° praktisch einheitliches *epi*-Vitamin D₂ sei. Indem wir aus reinem α -Dienon einheitliches *epi-trans*-Vitamin D₂ mit $[\alpha]_D^{20}$: +52.5° darstellen konnten, folgt daraus im Vergleich zu der Drehung des β -Epimeren mit $[\alpha]_D^{20}$: +223°, daß unser damaliges Produkt wie behauptet ein Epimerengemisch gewesen ist; über das Mischungsverhältnis α/β , jetzt zu 87/13 errechenbar, waren seinerzeit keine Angaben gemacht worden.

VITAMIN D₃-(b)-REIHE

Während in der Vitamin D₂-Reihe das Ausgangsmaterial für die Partialsynthese, nämlich der Abbau-Aldehyd IIa, ein Literaturpräparat⁶⁾ darstellte, erforderte der Abbau des Vitamins D₃ eine genauere Durcharbeitung. Schon WINDAUS und RIEMANN⁶⁾ hatten als erstes Abbauprodukt des Vitamin D₃-Esters in guter Ausbeute ein 5.6-Dihydroxy-Vitamin D₃ vom Schmp. 156° isoliert, das in Blättchen kristallisierte. Dagegen erhielten wir aus im großen und ganzen ähnlich durchgeführten Bleitetraacetat-Abbau-Ansätzen als Hauptprodukt eine isomere, in Nadeln kristallisierende Substanz vom Schmp. 138°, während das von Windaus beschriebene Triol in nur kleiner Ausbeute aus den Mutterlaugen anfiel. Wir konnten jedoch zeigen (s. Versuchsteil), daß sich die beiden Substanzen nur in der sterischen Anordnung der Hydroxygruppen an C-5 und C-6 unterscheiden können. Auf welche Unter-

¹³⁾ J. T. HARRISON und B. LYTHGOE, J. chem. Soc. [London] 1958, 837.

schiede in den Reaktionsbedingungen es zurückzuführen ist, daß verschiedene Stereoisomere entstehen, haben wir nicht untersucht, da sich aus beiden Triolen durch weiteren Abbau mit Bleitetraacetat der C₂₀-Abbau-Aldehyd IIb gewinnen ließ und somit die Frage für uns ohne praktische Bedeutung war¹⁴⁾.

Der Aldehyd IIb war ein Öl, das jedoch bei den meisten Ansätzen rein genug anfiel, um für die Resynthese verwendet werden zu können. Unreinere Produkte ließen sich durch zweimalige Verteilung zwischen Petroläther und 90-proz. Methanol leicht reinigen. Die folgenden Stufen der Synthese ließen sich ohne weiteres aus der Vitamin D₂-Reihe übertragen. Die Aldolkondensation lieferte das analoge Epimerengemisch des Hydroxyketons IVb + Vb mit dem Schmp. 143–143.5° und der Drehung +143°. Dieses ließ sich mit der oben beschriebenen Methode der kombinierten Chromatographie und Kristallisation in die Epimeren auftrennen. Aus der Drehung des 3-β-Hydroxyketons IVb von +200° und der des 3-α-Hydroxyketons Vb von +88° erweist sich auch hier das Epimeren-Verhältnis als 1:1.

Die Wittig-Reaktion des 3-β-Hydroxyketons lieferte das *trans*-Vitamin D₃ (VIb), das mit dem von uns bereits beschriebenen, durch Jod-Isomerisierung nach HAVINGA erhaltenen Stoff in allen Eigenschaften identisch war. Da auch mit dem letzteren die UV-Photo-Isomerisierung bereits durchgeführt werden konnte, war mit dieser Reaktion auch die Vitamin D₃-Partialsynthese abgeschlossen.

Aus dem 3-α-Hydroxyketon Vb erhielten wir durch Wittig-Reaktion das bisher unbekannte, kristalline 3-α-*trans*-Vitamin D₃ (VIIb), das durch UV-Isomerisierung in das gleichfalls unbekannte *epi*-Vitamin D₃ (VIIIb) übergeführt wurde, das sich durch sein 3.5-Dinitrobenzoat charakterisieren ließ.

Auch in der Vitamin D₃-Reihe ist eine Epimeren-Trennung durch fraktionierte Kristallisation der 3.5-Dinitrobenzoate auf der *cis*-Vitamin D-Stufe nicht möglich. Sowohl aus synthetischen als auch aus nachträglich hergestellten Epimerengemischen kristallisierten die Ester im Verhältnis 1:1. Nur aus mit β-Ester angereicherten Gemischen gelang dessen Abtrennung.

Der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT danke ich für die Zuverfügungstellung der automatischen UV- und IR-Geräte sowie anderer Großgeräte, ohne die wir unsere Untersuchungen nicht hätten durchführen können. Besonders möchte ich der Fa. E. MERCK, Darmstadt, für die ständige und großzügige Förderung unserer Arbeiten sowie den FARBEN-FABRIKEN BAYER, Werk Elberfeld, für die physiologischen Untersuchungen und die Vitamin D₂-Substanz meinen aufrichtigen Dank aussprechen. Meinen Dank schulde ich ferner der AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN UND DER LITERATUR, Sitz Mainz, und dem FONDS DER CHEMIE. Der BADISCHEN ANILIN- & SODA-FABRIK, Ludwigshafen, und den FARBWERKEN HOECHST danke ich für Chemikalien und Lösungsmittel. H. H. I.

¹⁴⁾ S. jedoch Bemerkung im Versuchsteil, S. 2320.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Die spezifischen Drehungen wurden, wenn nicht anders angegeben, in Benzol gemessen.

Vitamin D₂-(a-)Reihe

Kondensation von p-Hydroxy-cyclohexanon mit dem Abbau-Aldehyd (IIa) vom Vitamin D₂ zum C₂₇-Keton-Epimerengemisch, IVa + Va: a) Eine Lösung von 4.31 g *IIa* in 55 ccm wasser- und sauerstofffreiem Äthanol, eine Lösung von 21 g *p-Hydroxy-cyclohexanon* in 55 ccm Äthanol sowie 110 ccm 2-proz. äthanolische Natriumäthylatlösung wurden im Tiefkühlschrank auf -20° gekühlt und anschließend unter Stickstoff zusammengegeben. Man ließ 135 Min. bei -20° stehen, neutralisierte dann mit 10-proz. äthanolischer Essigsäure, gab 50 ccm luft-freies Wasser zu und destillierte den Alkohol i. Vak. ab. Mit Äther, Hydrogencarbonat-lösung und Wasser wurde wie üblich aufgearbeitet. Nach dem Trocknen der äther. Lösung mit Natriumsulfat und Abdampfen des Äthers verblieb ein dunkelrotes Öl, das zur Entfernung von restlichem *p-Hydroxy-cyclohexanon* i. Hochvak. 30 Min. auf 75° und 30 Min. auf 110° erhitzt wurde. Den Rückstand, 5.12 g, chromatographierte man an 250 g Aluminiumoxyd (Fa. Woelm, neutral, mit 4% Wasser deaktiviert); der Säulendurchmesser betrug 27 mm. Benzol diente solange als Elutionsmittel, wie sich aus der spektralen Beobachtung der einzelnen Fraktionen ergab, daß das Dikondensationsprodukt ($\lambda_{\max} = 348 \text{ m}\mu$) eluiert worden war (Verbrauch 3 l Benzol). Mit 1 l Benzol/Äther 1:1 kam das *C₂₇-Keton-Epimerengemisch* vollständig von der Säule. Das Produkt (2.3 g) kristallisierte nach Entfernen des Lösungsmittels durch. Nach einmaligem Umkristallisieren aus Äther/Petroläther erhielt man 1.65 g vom Schmp. $137-140^{\circ}$ und $[\alpha]_D^{20} = +155^{\circ}$. $\lambda_{\max} = 300 \text{ m}\mu$, $\epsilon = 26400$ (in Äther).

b) Eine Lösung von 4.22 g *IIa* in 53 ccm 96-proz. Äthanol wurde bei Zimmertemp. mit 106 ccm einer 2-proz. absol. alkoholischen Natriumäthylatlösung sowie einer Lösung von 20.3 g *p-Hydroxy-cyclohexanon* in 53 ccm absol. Äthanol versetzt. Man ließ 15 Min. bei Zimmertemp. stehen und neutralisierte dann wie oben. Aufarbeitung und Chromatographie wurden in gleicher Weise durchgeführt. Nach einmaligem Umkristallisieren erhielt man 3.15 g *C₂₇-Keton-Epimerengemisch* (56.6% d. Th.) vom Schmp. $137-139^{\circ}$ und $[\alpha]_D^{20} = +156^{\circ}$. Ein anderer Ansatz gab 51.5% Ausb. Eine Probe wurde nochmals umkristallisiert und schmolz dann bei $141-141.5^{\circ}$; $[\alpha]_D^{20} = +161^{\circ}$ (in Benzol) und $\lambda_{\max} = 300 \text{ m}\mu$, $\epsilon = 24900$ (in Äther).

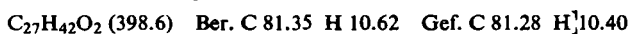
Trennung der beiden C-3-epimeren C₂₇-Ketone in IVa und Va

2.9 g *C₂₇-Keton-Epimerengemisch* (IVa + Va) wurden an einer Säule von 580 g Aluminiumoxyd (Fa. Woelm, neutral, Akt.-Stufe II; Säulendurchmesser 45 mm, Höhe der überstehenden Flüssigkeitssäule 150 cm) chromatographiert. Man zog mit Hilfe eines engen Rohres, das sich zentrisch in der Säule befand, die benzolische Lösung der Substanz auf und eluierte dann mit Benzol/Äther 85:15.

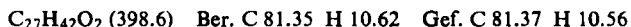
Fraktion	Eluatmenge	Menge	Rohrdrehung
1-2	3400 ccm	—	—
3-4	3000 ccm	1.23 g	+182°
5-8	2000 ccm	0.51 g	+115°
9	500 ccm	0.11 g	+99°
10-23	7500 ccm	0.70 g	
		<u>2.55 g</u>	

Die aus den Fraktionen 3-4 erhaltene Substanz ergab bei der Umkristallisation aus Äther/Petroläther 714 mg (24.6% d. Th.) 3β -6.7-*s-trans*-C₂₇-Keton (*IVa*) mit $[\alpha]_D^{20} = +208^{\circ}$;

nach mehrfachem Umkristallisieren $[\alpha]_D^{20}$: +218° und Schmp. 142.5–144°; λ_{\max} = 300 m μ , ϵ = 25 200; Kristallform: derbe, prismatische Blättchen.



Beim Umkristallisieren der Substanz aus den vereinigten Fraktionen 9–23 erhielt man 688 mg = 23.7% 3 α -6.7-*s-trans*-C₂₇-Keton (Va) mit $[\alpha]_D^{20}$: +106° (ein anderer Ansatz ergab $[\alpha]_D^{20}$: +108°) und Schmp. 132–133.5°; λ_{\max} = 300 m μ , ϵ = 26 200; Kristallform: Körner aus feinen Lamellen.



Aus den Mutterlaugen beider Stoffe kristallisierten Epimerengemische verschiedener Zusammensetzung, die nicht die charakteristischen Kristallformen der reinen Epimeren aufwiesen. Ein künstlich hergestelltes 1:1-Epimerengemisch schmolz nach Umkristallisieren gleichfalls bei 141–141.5°; der Misch-Schmp. gab keine Depression. Der für das 1:1-Gemisch berechnete Drehwert liegt bei +162°.

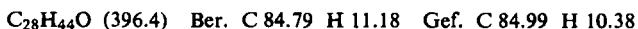
3 β -5.6-*trans*-6.7-*s-trans*-Vitamin D₂ (VIa): 5.63 mMol *n*-Butyl-lithium wurden mit absol. Äther auf 15 ccm verdünnt und unter Eiskühlung und Rühren unter Stickstoff portionsweise mit 2.7 g Methyl-triphenyl-phosphoniumbromid versetzt. Man rührte dann das Ylen bei Zimmertemperatur, ließ nach 2 Stdn. unter Eiskühlung eine äther. Lösung von 450 mg IVa zutropfen und rührte 1 Stde. bei Zimmertemperatur. Anschließend wurde 3 Stdn. im Ölbad zum gelinden Sieden erhitzt, wobei die Lösung nicht vollständig in das Bad eintauchte, um Überhitzungen zu vermeiden. Man arbeitete mit Äther, Kochsalzlösung und dest. Wasser auf und chromatographierte das Rohprodukt an 45 g Aluminiumoxyd (Fa. Woelm, neutral, Akt.-Stufe II). Man zog mit Petroläther/Äther 8:2 auf und eluierte mit diesem Gemisch zunächst das Triphenyl-phosphinoxid (Lösungsmittelbedarf 140–180 ccm). Anschließend wurde das β -*trans*-Vitamin D₂ (VIa) mit 700 ccm Petroläther/Äther 7:3 eluiert. Die Fraktion enthielt 244 mg mit λ_{\max} = 272–273 m μ , ϵ = 22 700 als farbloses Öl. Aus Äther/Petroläther kristallisierten

159 mg mit $[\alpha]_D^{20}$: +208°, Schmp. 99–101.5°;

41 mg mit $[\alpha]_D^{20}$: +215°, also

insgesamt 200 mg (44.6% d. Th.). Die 1. Fraktion zeigte nach 2maligem Umkristallisieren folgende Daten: $[\alpha]_D^{20}$: +216°, Schmp. 98.5–101° (vorh. Sintern); λ_{\max} = 272–273 m μ , ϵ = 23 900. Der Misch-Schmp. mit authent. Material zeigte keine Depression¹²⁾. Der früher angegebene Wert von $[\alpha]_D^{20}$: +223°¹²⁾ ist durch den neuen Wert +216° zu ersetzen.

3 α -5.6-*trans*-6.7-*s-trans*-Vitamin D₂ (VIIa): 450 mg Va wurden in gleicher Weise wie das β -Epimere der Wittig-Reaktion unterworfen, aufgearbeitet und chromatographiert. Aus dem Petroläther/Äther(7:3)-Eluat isolierte man 230 mg α -*trans*-Vitamin D₂ (VIIa), das sofort kristallisierte, mit λ_{\max} = 272–273 m μ , ϵ = 23 000. Aus Äther/Petroläther erhielt man 192 mg (42.8% d. Th.) weiße Nadeln mit folgenden Daten: $[\alpha]_D^{20}$: +63°, Schmp. 126.5–127.5° (122° Sintern). Nach 3maligem Umkristallisieren aus Äther/Petroläther zeigte das Produkt $[\alpha]_D^{20}$: +52.5°, Schmp. 129.5–131.5° (127.5° Sintern); λ_{\max} = 272–273 m μ , ϵ = 24 500.



3-*epi*-Vitamin D₂, VIIIa

940 mg 3 α -*trans*-Vitamin D₂ (VIIa) wurden in 2 Portionen in der schon beschriebenen Bestrahlungsapparatur (Glas)¹¹⁾, in Benzol gelöst, mit dem Quecksilber-Hochdruckbrenner Q 81 unter Luftkühlung 9 Stdn. bestrahlt. Durch Chromatographie an der 150fachen Menge Aluminiumoxyd (Fa. Woelm, neutral, Akt.-Stufe II) mit Petroläther/Äther 7:3 wurde das

nicht umgewandelte *trans*-Vitamin D₂ abgetrennt. Man erhielt 367 mg = 39% *epi*-Vitamin D₂ als farbloses Öl mit der UV-Absorption $\lambda_{\max} = 265 \text{ m}\mu$ und $\epsilon = 14800$.

Zur Veresterung löste man das *epi*-Vitamin D₂ in 4 ccm absol. Benzol und 1.5 ccm absol. Pyridin und setzte eine Lösung von 920 mg 3.5-Dinitrobenzoylchlorid in 2 ccm Benzol hinzu. Man ließ über Nacht stehen und erhitzte dann noch 15 Min. auf dem siedenden Wasserbad. Nach üblicher Aufarbeitung filtrierte man in Petroläther/Benzol 3:1 über 18 g Aluminiumoxyd (Fa. Woelm, neutral, Akt.-Stufe II). Aus dem Eluat erhielt man 412 mg (76% d. Th.) des Dinitrobenzoats als braunes Öl mit der Drehung $[\alpha]_D^{20} : +5^\circ$. Kristallisation aus Aceton ergab 215 mg mit $[\alpha]_D^{20} : +7^\circ$. Bei nochmaligem Umkristallisieren erhielt man (neben einer geringen Menge eines Produktes mit $[\alpha]_D^{20} : -22^\circ$) den *epi*-Ester mit $[\alpha]_D^{20} : +4^\circ$; Schmp. um 100–110°.



Die *epi*-Ester (auch *epi*-D₃-Ester) neigen zur Gelbfärbung und zeigen keine deutliche Kristallstruktur, die Schmp. sind sehr unscharf. Die Fehlergrenze der optischen Drehungen ist mit etwa $\pm 3^\circ$ anzunehmen*).

Mischungsversuche

1. 30 mg *epi*-Vitamin D₂-3.5-dinitrobenzoat wurden mit der gleichen Menge Vitamin-D₂-3.5-dinitrobenzoat gemischt und aus sehr wenig Aceton umkristallisiert. Man erhielt 41 mg gelbe Nadeln mit $[\alpha]_D^{20} : +34^\circ$. Abermalige Umkristallisation aus mehr Aceton ergab $[\alpha]_D^{20} : +29^\circ$.

2. 20 mg *epi*-Vitamin D₂-3.5-dinitrobenzoat wurden mit 60 mg Vitamin D₂-Ester gemischt und aus wenig Aceton umkristallisiert. Man erhielt 52 mg gelbe Nadeln mit $[\alpha]_D^{20} : +55^\circ$.

Darstellung von Vitamin D₂-3-Epimerengemisch: Wie vorher für die beiden Epimeren beschrieben, setzte man 800 mg C₂₇-Keton-Epimerengemisch (IVa + Va) mit einem Ylen aus 10 mMol *n*-Butyl-lithium und 4.8 g Methyl-triphenyl-phosphoniumbromid um und arbeitete in gleicher Weise auf. Die Chromatographie erfolgte an 65 g Aluminiumoxyd und ergab 440 mg krist. 5.6-*trans*-Vitamin D₂-3-Epimerengemisch.

Dieses wurde in der schon beschriebenen Bestrahlungsapparatur (Glas), in Benzol gelöst, mit einem luftgekühlten Quecksilber-Hochdruckbrenner Q 81 der Quarzlampengesellschaft Hanau 7 Std. bestrahlt. Man entfernte das Lösungsmittel i. Vak. und chromatographierte an 70 g Aluminiumoxyd (Fa. Woelm, neutral, Akt.-Stufe II) mit Petroläther/Äther 7:3 und 1:1.

Fraktion	Lösungsmittel	Menge	λ_{\max}	Substanz
1–3	300 ccm 7:3	227 mg	272 m μ	<i>trans</i> -Vitamin D ₂
4–5	200 ccm 7:3	—	—	—
6–9	350 ccm 7:3	148 mg	265 m μ	<i>cis</i> -Vitamin D ₂
10	200 ccm 1:1			
		375 mg		

Die 148 mg Vitamin D₂-3-Epimerengemisch = 33.6%, bez. auf *trans*-Vitamin D₂, zeigten $\lambda_{\max} = 265 \text{ m}\mu$, $\epsilon = 14300$. Sie wurden mit 160 mg frisch umkristallisiertem 3.5-Dinitrobenzoylchlorid in Pyridin verestert und wie üblich aufgearbeitet. Zur Reinigung filtrierte man den Ester in Petroläther/Benzol 3:1 über 7.5 g Aluminiumoxyd (Fa. Woelm, neutral,

*) Zusatz b. d. Korr.: Vorläufige physiologische Untersuchungen haben ergeben, daß das *epi*-Vitamin D₂ (durch Esterverseifung gewonnen; $\lambda_{\max} 265 \text{ m}\mu$, $\epsilon = 12000$) zwischen 4 und 25% der Wirksamkeit des Vitamins D₂ besitzt.

Akt.-Stufe II) und erhielt dabei 148 mg öligen Ester. Aus Aceton kristallisierten folgende Fraktionen:

64 mg Schmp. 146—146.5°	$[\alpha]_D^{20}$: +29°
$C_{35}H_{46}N_2O_6$ (590.7) Ber. C 71.16 H 7.85 N 4.74 Gef. C 71.00 H 7.72 N 4.89	
13 mg Schmp. 143—144°	$[\alpha]_D^{20}$: +32°
18 mg ölhaltige Kristalle	
Die Mutterlauge zeigte	$[\alpha]_D^{20}$: ±0°

Ein zweiter Ansatz von 800 mg C_{27} -Keton (IVa + Va) ergab 461 mg *trans*-Vitamin D_2 , daraus 275 mg = 59.7 % Vitamin D_2 -3-Epimerengemisch mit $\lambda_{max} = 265 m\mu$, $\epsilon = 13350$. Das 3.5-Dinitrobenzoat ergab bei der Kristallisation folgende Fraktionen:

162 mg Schmp. 143—144°	$[\alpha]_D^{20}$: +25°
33 mg Schmp. 134—136°	$[\alpha]_D^{20}$: +21°
17 mg Schmp. 135—137°	$[\alpha]_D^{20}$: +17°
Die Mutterlauge zeigte	$[\alpha]_D^{20}$: ±0°

Ein dritter Ansatz von 2.2 g C_{27} -Keton (IVa + Va) gab 1.31 g *trans*-Vitamin D_2 mit $\lambda_{max} = 272-273 m\mu$, $\epsilon = 22600$. Diese wurden in zwei Portionen bestrahlt. Zur Entfernung evtl. entstandenen Tachysterins ließ man das Produkt 6 Tage mit einer Lösung von 183 mg Citraconsäure-anhydrid in 20 ccm Äther stehen⁵). Danach wurde i. Vak. eingeeengt und mit überschüssiger 10-proz. methanol. Kalilauge 12 Stdn. bei Zimmertemp. stengelassen. Dann arbeitete man mit Äther und Wasser auf und chromatographierte den Neutralteil wie im ersten Ansatz an 150 g Aluminiumoxyd. Dabei erhielt man 160 mg *trans*-Vitamin D_2 zurück und 386 mg = 29.5 % Vitamin D_2 -3-Epimerengemisch. Dessen Veresterung mit 3.5-Dinitrobenzoylchlorid ergab nach chromatographischer Reinigung an 15 g Aluminiumoxyd 337 mg öligen Ester, den man aus Aceton kristallisierte:

125 mg Schmp. 129.5—134.5° (128.5° Sintern)	$[\alpha]_D^{20}$: +19°
27 mg Schmp. 134.5—136.5° (133° Sintern)	$[\alpha]_D^{20}$: +29°

Nach nochmaliger Filtration der Mutterlauge über Aluminiumoxyd:

12 mg Schmp. 134.5—139° (132.5° Sintern)	$[\alpha]_D^{20}$: +24°
--	--------------------------

Die erste Fraktion wurde nochmals fraktioniert kristallisiert:

43 mg Schmp. 141.5—143° (140.5° Sintern)	$[\alpha]_D^{20}$: +29°
41 mg Schmp. 131.5—135.5° (124.5° Sintern)	$[\alpha]_D^{20}$: +10°
5 mg Schmp. 127—131.5° (125.5° Sintern)	$[\alpha]_D^{20}$: +14°
Die Mutterlauge zeigte	$[\alpha]_D^{20}$: +20°

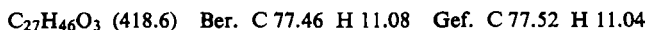
Vitamin D_3 -(b-)Reihe

Oxydation des Vitamin D_3 -3.5-dinitrobenzoats mit Bleitetraacetat: 30 g des Vitamin-Esters wurden in 300 ccm Chloroform und 300 ccm Eisessig gelöst. Die Lösungsmittel waren wie folgt gereinigt worden: Das Chloroform wurde am Tage des Ansatzes mit Natriumcarbonatlösung gewaschen, getrocknet und zweimal über P_2O_5 destilliert; der Eisessig wurde fraktioniert und i. Vak. über Chromtrioxyd destilliert. Man kühlte die Esterlösung in einem Eis/Methanol-Bad und versetzte sie im Laufe von 6 Stdn. in Abständen von 30 Min. portionsweise mit insgesamt 33 g Bleitetraacetat. Zwischen den Zugaben schüttelte man häufig um. Nach Beendigung des Zugebens blieb das Reaktionsgemisch bei Zimmertemperatur stehen. 20 Stdn. nach der ersten Zugabe wurde etwas Glycerin hinzugefügt. Man versetzte die Lösung mit viel Äther, wusch 2 mal mit reichlich dest. Wasser, neutralisierte mit Natriumcarbonatlösung, wusch nochmals mit Wasser, trocknete die organische Phase über Natrium-

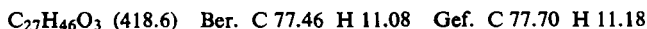
sulfat und destillierte die Lösungsmittel ab, zum Schluß i. Vak. Es verblieben 40 g eines honiggelben Öls, das nicht zur Kristallisation zu bringen war.

5.6-Dihydroxy-Vitamin D₃: 40 g des öligen *Tri-esters* wurden in 1160 ccm 5-proz. methanol. Kalilauge aufgenommen und die Lösung 2½ Stdn. auf dem Wasserbad unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Man filtrierte dann die Lösung und versetzte sie, nachdem sie abgekühlt war, mit 1600 ccm Wasser. Nach 2–3 Stdn. hatte sich ein schwarzbraunes Öl abgeschieden, von dem die Mutterlauge abgegossen wurde. Der Rückstand (16.5 g) wurde mit Wasser gewaschen, in Methanol aufgenommen und mit 4 Spatelspitzen Aktivkohle 5 Min. aufgekocht. Man ließ abkühlen und filtrierte über eine Säule von 100 × 35 mm Aluminiumoxyd nach BROCKMANN. Man spülte mit 500 ccm Methanol nach und verdampfte das gesamte Eluat zur Trockne, wobei ein gelbliches Öl hinterblieb. Dieses wurde in warmem Petroläther gelöst. Beim Abkühlen kam das Triol kristallin heraus. Es wurde zweimal aus Äther/Petroläther umkristallisiert. Die farblosen Kristalle schmolzen dann bei 126.5°; Ausb. 9.22 g (42.5 % d. Th.). Ein anderer Ansatz ergab 10.13 g (46.7 % d. Th., bez. auf Vitamin D₃-3.5-dinitrobenzoat) vom Schmp. 130°.

Bei der fraktionierten Kristallisation des Triols aus Äther/Petroläther fielen zuerst farblose Nadeln aus, die nach mehrfachem Umkristallisieren bei 138° (137° Sintern) schmolzen; $[\alpha]_D^{20}$: +57° (Chlf.). Die Substanz zeigte keine selektive UV-Absorption.



Aus der Mutterlauge erhielt man 1/12 der Menge des obigen Produkts in farblosen, glänzenden Blättchen, die nach mehrfachem Umkristallisieren bei 159° schmolzen und mit dem Triol vom Schmp. 138° eine Schmelzpunktsdepression gaben: Misch-Schmp. 134° (130° Sintern). Die Blättchen hatten $[\alpha]_D^{20}$: +30° (Chlf.) und zeigten ebenfalls keine selektive UV-Absorption.



Die IR-Spektren beider Substanzen unterschieden sich u. a. durch die Lage der OH-Bande, die beim Triol vom Schmp. 138° bei 3350 cm⁻¹ und beim Triol vom Schmp. 159° bei 3270 cm⁻¹ lag. Beide Spektren wiesen die Bande der exocyclischen Methylengruppe auf. Sie lieferten beide, wie nachstehend beschrieben, den C₂₀-Aldehyd und mußten daher Stereoisomere sein. Es konnte hierbei zunächst nicht ausgeschlossen werden, daß der Bildung des in geringer Menge anfallenden Triols vom Schmp. 159° unter den angewandten Reaktionsbedingungen eine Umlagerung des *cis*-Vitamins D₃ in sein *trans*-Isomeres vorausgegangen war.

Vitamin D₃-C₂₀-Abbau-Aldehyd Ib durch Glykolspaltung von 5.6-Dihydroxy-Vitamin D₃ mit Bleitetraacetat: Die Lösung von 10 g *Triol aus Ib* in 220 ccm Chloroform und 75 ccm Eisessig wurde im Lauf von 5 Stdn. wie bei der Oxydation des Vitamin D₃-3.5-dinitrobenzoats mit insgesamt 13.24 g Bleitetraacetat versetzt. Man ließ den Ansatz im Dunkeln bei Zimmertemp. 2½ Tage stehen, stoppte dann die Reaktion durch Zugabe von etwas Glycerin, wusch mit Wasser, neutralisierte mit Natriumcarbonatlösung, wusch nochmals mit Wasser, trocknete die organische Phase über Natriumsulfat und destillierte das Lösungsmittel ab, zuletzt i. Vak. Dabei erhielt man 8.61 g des Aldehyds als blaßgelbes Öl, das in Petroläther wie folgt absorbierte:

$$\lambda_{\max} = 237 m\mu, \quad \epsilon = 17800$$

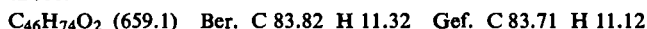
In einem anderen Ansatz zeigte das Oxydationsprodukt eine Extinktion von $\epsilon = 19600$. Durch 2maliges Verteilen zwischen Petroläther und 90-proz. Methanol ließ sich die Extinktion des Aldehyds auf $\epsilon = 21000$ steigern. Danach fanden sich je nach der Reinheit des Rohaldehyds 60–70 % der Ausgangsmenge als Reinaldehyd in der Petrolätherphase.

Mit methanol. Semicarbazidacetat-Lösung bildete der Aldehyd sofort ein weißes *Semicarbazon*, das nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Chloroform/Methanol bei 220 bis 221° schmolz; $\lambda_{\max} = 276 \text{ m}\mu$, $\epsilon = 34100$ (in Chlf.); $[\alpha]_D^{20} = +148^\circ$ (Chlf.).

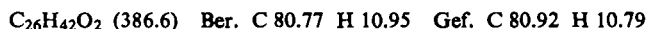
Die beiden isomeren Triole mit den Schmp. 138 und 159° lieferten bei der Glykolspaltung Aldehyde, die im UV-Spektrum übereinstimmten und zwei Semicarbazone gaben, deren UV-Spektren und Schmp. identisch waren; ihr Misch-Schmp. zeigte keine Depression.

Kondensation von p-Hydroxy-cyclohexanon mit dem Abbau-Aldehyd I Ib vom Vitamin D₃ zum C₂₆-Keton-Epimerengemisch, IVb + Vb: Zu einer Lösung von 4.7 g *I Ib* in 60 ccm 96-proz. Äthanol wurden 120 ccm 2-proz. Natriumäthylatlösung sowie eine Lösung von 22.6 g *p-Hydroxy-cyclohexanon* in 60 ccm absol. Alkohol gegeben. Man ließ unter Stickstoff 15 Min. bei Zimmertemp. stehen. Dann wurde die Reaktion durch Zugabe 10-proz. äthanolischer Essigsäure unterbrochen. Man zog den Alkohol i. Vak. ab, nahm in Äther auf und wusch mit Hydrogencarbonatlösung. Nach dem Abdestillieren des Äthers wurde i. Hochvak. das restliche *p-Hydroxy-cyclohexanon* entfernt. Man chromatographierte den Rückstand an 250 g Aluminiumoxyd (Fa. Woelm, neutral, mit 4 % Wasser desaktiviert). Dabei wurde zunächst mit 1.2 l Benzol wenig Dikondensationsprodukt eluiert, anschließend mit 300 ccm Benzol und 1200 ccm Benzol/Äther 1:1 3.85 g durchkristallisierendes *C₂₆-Keton-Epimerengemisch*.

Das Dikondensationsprodukt bildete aus Äther/Petroläther gelbe Kristalle vom Schmp. 220° und zeigte in Äther folgende UV-Absorption: $\lambda_{\max} = 238 \text{ m}\mu$, $\epsilon = 18800$; $\lambda_{\max} = 349 \text{ m}\mu$, $\epsilon = 42000$.



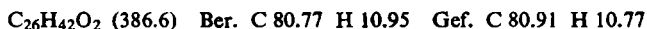
Das rohe *C₂₆-Keton-Epimerengemisch* wurde aus Äther/Petroläther umkristallisiert. Ausb. 3.04 g (55 % d. Th., bez. auf 6 g 5.6-Dihydroxy-Vitamin D₃) vom Schmp. 137–138° und $[\alpha]_D^{20} = +135^\circ$. Nach mehrmaligem Umkristallisieren war der Schmp. 143–143.5°, $[\alpha]_D^{20} = +143^\circ$ (Benzol), $\lambda_{\max} = 301 \text{ m}\mu$, $\epsilon = 26800$ (in Äther).



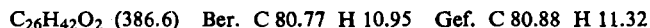
Trennung der beiden C-3-epimeren C₂₆-Ketone in IVb und Vb: 4 g *C₂₆-Keton-Epimerengemisch (IVb + Vb)* wurden an einer Säule von 800 g Aluminiumoxyd (Fa. Woelm, neutral, Akt.-Stufe II; Säulendurchmesser 45 mm; Höhe der überstehenden Flüssigkeitssäule 125 cm) chromatographiert. Man zog durch ein zentrisch in die Säule gehängtes, enges Rohr die Benzol-Lösung der Substanz auf und eluierte mit Benzol/Äther 85:15.

Fraktion	Eluatmenge	Menge
1–8	4500 ccm	—
9–17	4500 ccm	2.0 g
18–21	2000 ccm	0.1 g
22–25	2000 ccm	1.9 g
26	5000 ccm	

Aus den Fraktionen 9–17 erhielt man nach Umkristallisieren aus Äther/Petroläther 1.454 g (36.4 % d. Th.) *3β-6.7-s-trans-C₂₆-Keton (IVb)* mit $[\alpha]_D^{20} = +200^\circ$ (ein anderer Ansatz ergab $[\alpha]_D^{20} = +198^\circ$) und Schmp. 141–141.5°; $\lambda_{\max} = 300 \text{ m}\mu$, $\epsilon = 26300$ in langen Nadeln.



Die Fraktionen 22–26 gaben beim Umkristallisieren 1.53 g (38.2 % d. Th.) *3α-6.7-s-trans-C₂₆-Keton (Vb)* in sehr feinen Nadeln mit $[\alpha]_D^{20} = +88^\circ$ und Schmp. 125–126°; $\lambda_{\max} = 300 \text{ m}\mu$, $\epsilon = 26400$.



Ein künstlich hergestelltes 1:1-Epimerengemisch schmolz nach Umkristallisieren bei 142 bis 142.5°; der Misch-Schmp. gab keine Depression. Der für das 1:1-Gemisch berechnete Drehwert liegt bei +144°.

3β-5.6-trans-6.7-s-trans-Vitamin D₃ (VIb): 450 mg *IVb* wurden, wie in der D₂-Reihe beschrieben, der Wittig-Reaktion mit einem Ylen aus 5.63 mMol *n-Butyl-lithium* und 2.7 g *Methyl-triphenyl-phosphoniumbromid* unterworfen. Nach analoger Aufarbeitung und chromatographischer Reinigung erhielt man 248 mg öliges *trans-Vitamin D₃*, das aus Äther/Petroläther kristallisierte. Dabei erhielt man 162 mg farbloser Kristalle (36.2% d. Th.) mit $[\alpha]_D^{20}$: +210°. Durch Umkristallisation erhielt man die Substanz mit $[\alpha]_D^{20}$: +212°, Schmp. 88–92° (vorh. Sint.), λ_{\max} = 272–273 m μ , ϵ = 25 300. Der Misch-Schmp. mit authent. Material zeigte keine Depression¹⁾.

3α-5.6-trans-6.7-s-trans-Vitamin D₃ (VIIb): 750 mg *Vb* wurden wie das β-Isomere der Wittig-Reaktion mit einem Ylen aus 9.4 mMol *n-Butyl-lithium* und 4.5 g *Methyl-triphenyl-phosphoniumbromid* unterworfen. Nach analoger Aufarbeitung und chromatographischer Reinigung erhielt man 417 mg (55% d. Th.) krist. *α-trans-Vitamin D₃*, *VIIb*. Umkristallisation aus Äther/Petroläther gab 216 mg farblose Nadeln mit $[\alpha]_D^{20}$: +47°, Schmp. 114–116° (vorh. Sint.), λ_{\max} = 272–273 m μ , ϵ = 23 000, nach nochmaliger Umkristallisation ϵ = 25 800.

3-epi-Vitamin D₃ (VIIIb): 397 mg *α-trans-Vitamin D₃* (*VIIb*) wurden 8½ Stdn. in der Glasapparatur bestrahlt. Die Chromatographie an 75 g Aluminiumoxyd (Fa. Woelm, neutral, Akt.-Stufe II) ergab neben 67 mg Ausgangsmaterial 186 mg (47% d. Th.) *epi-Vitamin D₃* als farbloses Öl mit der UV-Absorption λ_{\max} = 265 m μ , ϵ = 14 000.

Die Substanz wurde mit 213 mg frisch umkristallisiertem *3.5-Dinitrobenzoylchlorid* in 8 ccm Benzol und 1 ccm absol. Pyridin über Nacht stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung filtrierte man mit Petroläther/Benzol 3:1 über 10 g Aluminiumoxyd (Fa. Woelm, neutral, Akt.-Stufe II) und erhielt aus dem Eluat 177 mg öligen Ester. Nach 2maligem Umkristallisieren aus Aceton/Methanol erhielt man 72 mg eines krist. Produkts mit $[\alpha]_D^{20}$: –1° (ein anderer Ansatz ergab –5°); Schmp. 95–100°*).

C₃₄H₄₆N₂O₆ (578.7) Ber. C 70.56 H 8.01 N 4.84 Gef. C 70.51 H 8.23 N 4.93

Mischungsversuch: 66 mg öliges *epi-Vitamin D₃-3.5-dinitrobenzoat* und 33 mg *Vitamin D₃-3.5-dinitrobenzoat* wurden gemischt und aus Aceton umkristallisiert. Man erhielt 44 mg kanariengelbe Nadeln vom Schmp. 145° und $[\alpha]_D^{20}$: +31°, die mit dem anschließend beschriebenen Epimerengemisch identisch waren.

Vitamin D₃-Epimerengemisch: 1. 1.15 g krist. *C₂₆-Keton-Epimerengemisch* ergaben bei der Wittig-Reaktion (ausführliche Beschreibung bei der Darstellung von VIa) mit einem Ylen aus 15.5 mMol *n-Butyl-lithium* und 7.2 g *Methyl-triphenyl-phosphoniumbromid* 570 mg chromatographisch gereinigtes *trans-Vitamin D₃-Epimerengemisch* als farbloses Glas mit der UV-Absorption λ_{\max} = 272–273 m μ und ϵ = 22 000; Ausb. 50%.

Dieses bestrahlte man in der Glasbestrahlungsapparatur, in Benzol gelöst, 8 Stdn. mit einem Quecksilber-Hochdruckbrenner (Q 81 der Quarzlampengesellschaft Hanau). Man entfernte das Lösungsmittel i. Vak. und chromatographierte mit Petroläther/Äther 7:3 an 80 g Aluminiumoxyd (Fa. Woelm, neutral, Akt.-Stufe II, Säulendurchmesser 16 mm). Dabei kam zuerst nicht umgewandeltes *trans-Vitamin D₃*, danach 227 mg (40% d. Th.) *Vitamin D₃-Epimerengemisch* von der Säule; UV-Absorption λ_{\max} = 265 m μ , ϵ = 16 500.

¹⁾ Zusatz b. d. Korr.: Vorläufige physiologische Untersuchungen haben ergeben, daß das *epi-Vitamin D₃* (durch Esterverseifung gewonnen; λ_{\max} 265 m μ , ϵ = 14 000) zwischen 10 und 31% der Wirksamkeit des Vitamins D₃ besitzt.

Sie wurden mit *3,5-Dinitrobenzoylchlorid* in Pyridin verestert und wie üblich aufgearbeitet. Zur Reinigung filtrierte man den Ester über Aluminiumoxyd und erhielt danach 269 mg eines gelben Glases. Aus Aceton kristallisierten daraus folgende Fraktionen:

	114 mg	Schmp. 145°	$[\alpha]_D^{20}$: +31°
$C_{34}H_{46}N_2O_6$ (578.7)	Ber. C 70.56 H 8.01 N 4.84	Gef. C 70.66 H 8.01 N 4.95	
	23 mg	Schmp. 142°	$[\alpha]_D^{20}$: +31°
	17 mg	Schmp. 141–141.5°	$[\alpha]_D^{20}$: +32°
	3 mg	Schmp. 140.5–141.5°	
Aus Aceton/Äthanol	15 mg		$[\alpha]_D^{20}$: +14° (halbkristallin)
Aus Petroläther	5 mg	Schmp. 135°	$[\alpha]_D^{20}$: +25°

Die Mutterlauge wurde nochmals chromatographiert. Dabei erhielt man 52 mg Ester, aus dem mit Aceton/Methanol noch eine weitere Fraktion gewonnen wurde:

	7 mg	Schmp. 132.5–138°
insgesamt:	184 mg	kristalliner Ester.

2. 6.08 g chromatographisch gereinigtes C_{26} -Keton-Epimerengemisch ($\epsilon = 17000$) ergaben bei der Wittig-Reaktion 1.76 g *trans-Vitamin D₃-Epimerengemisch* als farbloses Glas mit der UV-Absorption $\lambda_{max} = 272-273 m\mu$, $\epsilon = 22000$.

Dieses wurde in 3 Ansätzen 8 Stdn. wie oben bestrahlt. Die Chromatographie der vereinigten Bestrahlungsansätze an 280 g Aluminiumoxyd ergab 767 mg *trans-Vitamin D₃-Epimerengemisch* in 1200 ccm Eluat sowie 799 mg (45% d. Th.) *Vitamin D₃-Epimerengemisch* in 1800 ccm Eluat. Das Produkt war ein farbloses Glas mit der UV-Absorption $\lambda_{max} = 265 m\mu$ und $\epsilon = 16100$.

Man ließ mit 1 g *3,5-Dinitrobenzoylchlorid* in 10 ccm Pyridin über Nacht stehen, zog das Pyridin i. Vak. ab und arbeitete mit Äther, Hydrogencarbonatlösung und Wasser auf. Das Rohprodukt chromatographierte man an 30 g Aluminiumoxyd (Woelm, neutral, Akt.-Stufe II). Man zog mit Petroläther/Benzol 9:1 auf und eluierte zunächst auch damit, später den Ester mit Petroläther/Benzol 3:1. Dabei erhielt man 994 mg (83.5% d. Th.) des *Dinitrobenzoats*, das man aus Aceton fraktioniert kristallisierte:

468 mg, Schmp. 146°; 57 mg, Schmp. 145°; 53 mg, Schmp. 141–142°; 22 mg, Schmp. 139–140°; 18 mg, Schmp. 139–140° (138° Sintern).

Die Mutterlauge, 299 mg, wurde mit einer Lösung von 840 mg Kaliumhydroxyd in 17 ccm Methanol 2 Stdn. auf dem Wasserbad unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nach üblicher Aufarbeitung mit Äther erhielt man 195 mg eines gelblichen Öls, das an 32 g Aluminiumoxyd (Fa. Woelm, neutral, Akt.-Stufe II) mit Petroläther/Äther 7:3 chromatographiert wurde. Man eluierte folgende Fraktionen zu je 50 ccm:

Frakt. 1	gelblich	wenig unverseifter Ester
Frakt. 2–3	farblos	23 mg <i>trans-Vitamin D₃-Epimerengemisch</i>
Frakt. 4–6	farblos	125 mg <i>cis-Vitamin D₃-Epimerengemisch</i> , $\epsilon_{265} = 14200$

Die vereinigten *cis*-Fraktionen wurden wieder mit *3,5-Dinitrobenzoylchlorid* verestert und ergaben nach Chromatographie 167 mg Ester, der aus Aceton kristallisierte:

120 mg Schmp. 120–129° (110° Sintern)

Beim Umkristallisieren erhielt man hieraus

41 mg Schmp. 137–140° (135° Sintern)

und eine Mutterlauge, aus der sich bei Kristallisationsversuchen ein Gel abschied.

3.—9. Sieben weitere Ansätze lieferten bei der fraktionierten Kristallisation der 3,5-Dinitrobenzoate der Vitamin D₃-Epimerengemische ebenfalls nur Kristallfraktionen, deren Schmp. höher und deren Drehungen niedriger als die Daten des nativen Vitamin D₃-3,5-dinitrobenzoats lagen.

10. 2.03 g halbkristallines C₂₆-Keton-Epimerengemisch aus den *vorderen Fraktionen* einer Keton-Chromatographie ($\epsilon_{301} = 12500$) ergaben bei der Wittig-Reaktion 444 mg *trans-Vitamin D₃-Epimerengemisch* mit $\lambda_{\max} = 272-273 \text{ m}\mu$ und $\epsilon = 18150$ als grün gefärbtes Öl.

Dieses wurde in Benzol-Lösung 8 Stdn. in Glas bestrahlt und an 70 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Nach 32 mg zurückgewonnenem *trans-Vitamin D₃-Epimerengemisch* erhielt man in 320 ccm Eluat 201 mg Vitamin D₃-Epimerengemisch. Die Veresterung mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid bei Zimmertemperatur ergab 273 mg durch Filtration über Aluminiumoxyd gereinigten Ester. Aus Aceton erhielt man folgende Kristallfraktionen:

143 mg	Schmp. 143—144°	$[\alpha]_D^{20}$: +31°
47 mg	Schmp. 127—129°	$[\alpha]_D^{20}$: +57°

Die zweite Fraktion wurde aus Aceton/Methanol umkristallisiert. Dabei erhielt man 20 mg *Vitamin D₃-3,5-dinitrobenzoat* vom Schmp. 129.5—130.5° (128° Sintern). Der Misch-Schmp. mit nativem Ester gab keine Depression; $[\alpha]_D^{20}$: +65° (in Benzol).

IVAR UGI, HANS PERLINGER^{*)} und LISELOTTE BEHRINGER

Pentazole, III

Kristallisierte Aryl-pentazole

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität München
(Eingegangen am 14. Juli 1958)

Aus Aryl-diazoniumchloriden und Alkaliazid werden kristallisierte Aryl-pentazole dargestellt. Die UV-Absorptionsspektren zeigen, daß das Pentazol-System als Substituent stark elektronenziehend wirkt. Die Zerfallswärme von [*p*-Äthoxy-phenyl]-pentazol wird zu $5.4 \pm 0.2 \text{ kcal/Mol}$ gefunden. Mit zunehmender Polarität des Lösungsmittels sinkt die Zerfalls-RG von gelöstem Phenyl-pentazol.

In vorangehenden Arbeiten^{1,2)} wurde die *Bildung von Aryl-pentazolen aus Aryl-diazoniumsalzen und anorganischem Azid* bewiesen. Der Strukturbeweis sowie Untersuchungen über die Stabilität dieser Körper gelangen *ohne Isolierung*.

Bei der *Elementaranalyse*, der Aufnahme der *Absorptionsspektren*, der Bestimmung der *Zerfallswärme* und der Ermittlung der *Lösungsmittelabhängigkeit der Zerfalls-RG*

^{*)} Diplomarb. HANS PERLINGER, Univ. München 1958.

¹⁾ H. Mitteil.: I. UGI und R. HUISGEN, Chem. Ber. **91**, 531 [1958].

²⁾ R. HUISGEN und I. UGI, Chem. Ber. **90**, 2914 [1957].