

Achintya K. Sen Gupta

Notiz über die geometrische Isomerie der Δ^4 -Cholestenon-(3)-dinitrophenylhydrazone

Aus dem Unilever Forschungslaboratorium, Hamburg

(Eingegangen am 8. Juli 1966)

Die Konfigurationsstabilität der geometrischen Isomeren von Dinitrophenylhydrazonen ist gering, so daß meistens nur eine Molekülform im Kristall erhalten wird^{1,2}). Durch Anwendung der NMR-Spektroskopie konnte in der letzten Zeit gezeigt werden, daß bei der Reaktion von Carbonylverbindungen mit Dinitrophenylhydrazin in vielen Fällen die beiden geometrischen Isomeren als Gleichgewichtsgemisch entstehen^{3–7}). Die beiden Isomeren in reinem Zustand zu isolieren, ist wegen ihrer geringen Beständigkeit nur selten gelungen, z. B. bei den Dinitrophenylhydrazonen aus α -Ketosäuren^{8,9}), α -Ketoestern¹⁰), α -Alkoxyketonen¹¹), α -Acetoxyketonen¹¹) und α -Halogenketonen¹²). Das eine geometrische Isomere dieser Hydrazone kann über das H-Atom der Hydrazonogruppe mit der benachbarten Sauerstoff- oder einer anderen Funktion mit einem freien Elektronenpaar intramolekulare Wasserstoffbrücken bilden und dadurch — im Vergleich zu dem anderen Isomeren — beträchtliche Unterschiede in Stabilität und Löslichkeitseigenschaften aufweisen. Die isomeren Dinitrophenylhydrazone von Benzsuberon¹¹), die sich auch ohne die stabilisierende Wirkung einer α -Sauerstoff-Funktion in reine, stabile geometrische Isomere auftrennen lassen, bilden eine Ausnahme. Das π -Elektronensystem des in der α -Stellung ankondensierten Benzolkerns dürfte in diesem Fall für die Stabilität und die unterschiedlichen Eigenschaften verantwortlich sein.

In der vorliegenden Arbeit berichten wir über die Auftrennung und Konfigurationsermittlung der reinen geometrischen Isomeren der Δ^4 -Cholestenon-(3)-dinitrophenylhydrazone.

Eine dünnschichtchromatographische Trennung des Rohproduktes aus Δ^4 -Cholestenon-(3)¹³) und 2,4-Dinitrophenylhydrazin ergab zwei Flecke etwa gleicher Intensität, daneben Spuren von Dinitrophenylhydrazin. Nach dreimaliger Umkristallisation konnte aus dem Rohprodukt eine Substanz in reinem Zustand gewonnen werden, die im Schmp. (239–240°) und

- 1) F. Klages, Lehrbuch der organischen Chemie, Bd. 2, S. 550, W. de Gruyter u. Co., Berlin 1962.
- 2) Zusammenstellung der früheren Arbeiten über die Isomerie der 2,4-Dinitrophenylhydrazone siehe Dissertat. M. E. Umstead, Pennsylvania State Univ. 1957, C. A. 51, 11270 (1957).
- 3) G. J. Karabatsos, J. D. Graham und F. M. Vane, J. Amer. chem. Soc. 84, 753 (1962).
- 4) G. J. Karabatsos, B. L. Shapiro, F. M. Vane, J. S. Fleming und J. S. Ratka, J. Amer. chem. Soc. 85, 2784 (1963).
- 5) G. J. Karabatsos, R. A. Taller und F. M. Vane, J. Amer. chem. Soc. 85, 2326, 2327 (1963).
- 6) G. J. Karabatsos und R. A. Taller, J. Amer. chem. Soc. 85, 3624 (1963).
- 7) G. J. Karabatsos, F. M. Vane, R. A. Taller und N. Hsi, J. Amer. chem. Soc. 86, 3351 (1964).
- 8) F. A. Isherwood und R. L. Jones, Nature [London] 175, 419 (1955).
- 9) P. de Mayo und A. Stoessel, Canad. J. Chem. 38, 750 (1960).
- 10) H. van Duin, Recueil Trav. chim. Pays-Bas 73, 78 (1954).
- 11) F. Ramirez und A. F. Kirby, J. Amer. chem. Soc. 74, 4331 (1952); 75, 6026 (1953).
- 12) G. D. Johnson, J. Amer. chem. Soc. 73, 5888 (1951).
- 13) L. F. Fieser, J. Amer. chem. Soc. 75, 5421 (1953).

in der Lage des UV-Maximums ($\lambda_{\max} = 390 \text{ m}\mu$) dem von Reich und Mitarbb. beschriebenen¹⁴⁾ Δ^4 -Cholesteron-dinitrophenylhydrazone entsprach. In der Mutterlauge reichte sich der zweite Bestandteil an, der durch vorsichtige Chromatographie an einer Kieselgelsäule mit dem Schmp. 201° und $\lambda_{\max} = 387 \text{ m}\mu$ rein erhalten wurde. Beide Verbindungen sind in festem Zustand bei Raumtemperatur unbegrenzt haltbar. Daß es sich hierbei um ein Paar der geometrisch isomeren Dinitrophenylhydrazone handelt, beweisen die folgenden Befunde.

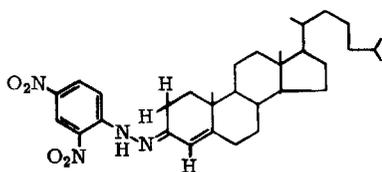
a) Elementaranalyse und osmometrisch sowie massenspektroskopisch bestimmte Molekulargewichte der beiden Produkte ergeben die gleiche Bruttoformel $\text{C}_{33}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_4$.

b) Die gereinigten Verbindungen lassen sich durch Erwärmen in Lösung ineinander überführen, wobei aus jeder dasselbe Gleichgewichtsgemisch entsteht. Die Verbindung mit dem Schmp. 239° macht mit 97% den Hauptanteil aus, muß also die stabilere Form sein. Die Umwandlungsgeschwindigkeit wird in bekannter Weise¹⁵⁾ durch Essigsäure stark beschleunigt.

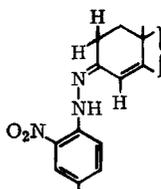
c) Beide Produkte lassen sich in Chloroform mit Lävulinsäure nach de Puy und Ponder¹⁶⁾ in 90-proz. Ausbeute zu Δ^4 -Cholesteron-(3) hydrolysieren.

d) Die Verbindung mit dem Schmp. 239° weist in Chloroform ein UV-Maximum bei $390 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4.46$) auf, die mit dem Schmp. 201° bei $387 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4.46$). Diese Werte sind charakteristisch für 2,4-Dinitrophenylhydrazone der Δ^4 -3-Ketosteroide^{14,17)}.

e) Eine Azo-Hydrizo-Isomerie¹⁸⁾ konnte durch das Auftreten der Hydrizo-NH-Bande bei 3.00μ in den IR-Spektren (KBr) der beiden Produkte ausgeschlossen werden. Die beiden Spektren stimmen nicht völlig überein, zeigen aber folgende gemeinsame Hauptbanden: 6.16 und 6.28μ (sehr stark, C=N); 6.57 , 6.65 , 7.00 – 7.06μ (alle stark, NO_2 -asymm.); 7.25μ (schwach, NO_2 -asymm.); 7.5 und 7.7μ (sehr stark, NO_2 -symm.); 7.95 und 8.85μ (stark, NO_2 -symm.); 9.3 , 12.0 und 13.45μ (mittelstark, NO_2 -symm.)¹⁹⁾.



1 (Schmp. 239°)



NO_2 2 (Schmp. 201°)

Aus der NMR-Spektroskopie von 2,4-Dinitrophenylhydrazonen unsymmetrischer Ketone ist bekannt, daß die der anisotropen Gruppe *cis*-ständigen Methylenprotonen gegenüber den *trans*-ständigen Resonanzsignale bei höherer Feldstärke aufweisen⁴⁻⁷⁾. Über die chemischen Verschiebungen der Vinylprotonen von 2,4-Dinitrophenylhydrazonen der α,β -ungesättigten Ketone ist nichts bekannt. Nach Shoppee und Mitarbb.²⁰⁻²²⁾ sind bei den Oximen der

14) H. Reich, K. F. Crane und S. J. Sanfilippo, J. org. Chemistry **18**, 822 (1953).

15) G. J. Karabatsos, F. M. Vane, R. A. Taller und N. Hsi, J. Amer. chem. Soc. **86**, 3355 (1964).

16) C. H. de Puy und B. W. Ponder, J. Amer. chem. Soc. **81**, 4629 (1959).

17) L. F. Fieser und M. Fieser, Steroide, S. 192, Verlag Chemie GmbH, Weinheim/Bergstr. 1961.

18) R. O'Connor, J. org. Chemistry **26**, 4375 (1961); F. Micheel und J. Dijong, Chem. Ber. **97**, 2409 (1964).

19) Die Zuordnung der Banden erfolgte nach W. Neudert und H. Röpke, Steroid-Spektrenatlas, S. 285, Springer-Verlag, Berlin 1965.

20) C. W. Shoppee, R. E. Lack und B. C. Newman, J. chem. Soc. [London] **1964**, 3388.

21) C. W. Shoppee, M. A. Akhtar und R. E. Lack, J. chem. Soc. [London] **1964**, 3392.

22) C. W. Shoppee, R. E. Lack, R. N. Mirring und L. R. Smith, J. chem. Soc. [London] **1965**, 5868.

Δ^4 - und Δ^1 -3-Ketosteroide die Resonanzsignale des der anisotropen Gruppe *cis*-ständigen α -Vinylprotons gegenüber denen der *trans*-ständigen bei niedrigerer Feldstärke zu finden. Da das Isomere vom Schmp. 239° im NMR-Spektrum²³⁾ die α -Methylenprotonen als Multiplett bei $\delta = 2.21$ bis 2.34 ppm und das α -Vinylproton bei $\delta = 6.01$ als unvollständig aufgelöstes Dublett anzeigt, muß es die Struktur **1** besitzen. Hingegen traten im Spektrum des anderen Isomeren (Schmp. 201°) in Übereinstimmung mit Formel **2** das Signal der α -Methylenprotonen bei $\delta = 2.35$ bis 2.48 als Multiplett und das des α -Vinylprotons bei $\delta = 6.18$ als unvollständig aufgelöstes Dublett auf.

Beschreibung der Versuche

Die Schmelzpunkte wurden im Kapillarröhrchen ermittelt und sind nicht korrigiert.

\Delta^4-Cholestenon-(3) wurde nach Fieser¹³⁾ dargestellt und sechsmal aus Äthanol umkristallisiert. Schmp. 82° ; λ_{\max} 241 m μ . ($\log \epsilon = 4.22$); $[\alpha]_D^{20}$: $+94^\circ$ ($c = 1.0$; Chloroform); das IR-Spektrum stimmte mit dem einer authent. Probe²⁴⁾ überein; dünnschichtchromatographisch einheitlich in:

- a) Äther/Petroläther/Eisessig (30 : 70 : 2 v/v/v)
- b) Chloroform
- c) Benzol/Essigester (9 : 1 v/v)

2,4-Dinitro-phenylhydrazone **1** und **2** von *\Delta^4*-Cholestenon-(3)

Zu einer Lösung von 3.84 g *\Delta^4*-Cholestenon-(3) in 100 ccm Äthanol bei 60° wurde ein Gemisch aus 100 ccm Äthanol, 3 ccm konz. Salzsäure und 3 g gereinigtem 2,4-Dinitro-phenylhydrazin unter Schütteln zugegeben, der Niederschlag nach 3 Min. abgesaugt, mit Äthanol nachgewaschen und i. Vak. über Phosphorpentoxid getrocknet. Ausb. 5.3 g. Das Dünnschichtchromatogramm (Kieselgel G, Merck; Benzol/Hexan 1 : 1 v/v) zeigte zwei Flecke etwa gleicher Intensität, daneben Spuren von Dinitrophenylhydrazin. R_F -Werte: **1** = 0.41; **2** = 0.33; Dinitrophenylhydrazin = 0.03.

1 g des rohen Dinitrophenylhydrazon-Gemisches wurde dreimal aus Benzol/Methanol umkristallisiert. Nach dem Dünnschichtchromatogramm war das Kristallisat einheitlich. Ausb. 0.23 g **1**. Schmp. = $239-240^\circ$. λ_{\max} (in Chloroform) = 390 m μ ($\log \epsilon = 4.46$).

$C_{33}H_{48}N_4O_4$ (564.8) Ber. C 70.18 H 8.57 N 9.92
Gef. C 69.92 H 8.61 N 9.91 Mol.-Gew. 557 (osmometr. in $CHCl_3$)
564 (massenspektroskop.)

In der Mutterlauge war die Substanz **2** stark angereichert; jedoch gelang es nicht, diese durch Auskristallisation in chromatographisch einheitlicher Form zu isolieren.

Die erste Mutterlauge des rohen Dinitrophenylhydrazon-Gemisches wurde bei 25° i. Vak. eingedampft. Der Rückstand (349 mg) wurde in 5 ccm Benzol gelöst, an 5 g trockenem Kieselgel (0.05–0.2 mm) adsorbiert und bei 25° i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Die an Kieselgel adsorbierte Substanz wurde auf eine mit 50 g Kieselgel und 80 ccm Hexan gefüllte Chromatographiesäule gegeben und mit Hexan/Benzol (1 : 1 v/v) eluiert. Nach einiger Zeit waren in der Säule 2 Zonen deutlich sichtbar, die nacheinander eluiert und getrennt aufgefangen wurden. Durch Eindampfen der Eluate bei 25° gewann man die beiden reinen 2,4-Dinitrophenylhydrazone: 110 mg **1** und 224 mg **2**.

²³⁾ Die Spektren wurden in $CDCl_3$ -Lösung mit einem Varian-A60-Gerät aufgenommen, Tetramethylsilan als innerer Standard.

²⁴⁾ Spektrum Nr. 877 in W. Neudert und H. Röpke, Steroid-Spektrenatlas, Springer-Verlag, Berlin 1965.

Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Benzol/Methanol schmolz *Dinitrophenylhydrazon* **2** konstant bei 199–201°. λ_{\max} (in CHCl_3) 387 m μ ($\log \epsilon = 4.46$).

$\text{C}_{33}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_4$ (564.8)

Ber. C 70.18 H 8.57 N 9.92

Gef. C 70.18 H 8.36 N 9.91 Mol.-Gew. 552 (osmometr. in CHCl_3)

564 (massenspektroskop.)

Eine durch präparative Schichtchromatographie auf Kieselgel G mit Hexan/Benzol (1:1) durchgeführte quantitative Auftrennung des rohen Dinitrophenylhydrazon-Gemisches zeigte, daß **1** und **2** im Verhältnis 56:44 vorlagen. Dieses Verhältnis ist wegen der kurzen Reaktionszeit bei der Herstellung des Gemisches nicht das unten genannte Gleichgewichtsverhältnis.

5 mg **1** bzw. **2** wurden in je 5 ccm Xylol gelöst, unter Rückfluß erhitzt und in bestimmten Zeitabständen dünn-schichtchromatographisch untersucht. Jeder Ansatz bestand nach 20 Stdn. aus 97% **1** und 3% **2**. Die quantitative Zusammensetzung wurde mittels präparativer Schichtchromatographie und nachfolgendem photometrischem Ausmessen der eluierten Substanzen ermittelt. Durch Zugabe einiger Tropfen Eisessig zu den Xylol-Lösungen von **1** bzw. **2** wurde das Gleichgewicht bereits nach 2 Stdn. erreicht.

Im festen Zustand waren **1** und **2** selbst nach 18 Monaten bei Raumtemperatur chromatographisch rein, während sie in Lösung auch bei Raumtemperatur langsam ineinander übergingen.

1 und **2** konnten durch Behandlung mit *Lävulinsäure* in Chloroform nach *de Puy* und *Ponder*¹⁶⁾ in 90-proz. Ausb. in Δ^4 -Cholestenon-(3) übergeführt werden, dessen Nachweis durch Schmp., Misch-Schmp., Dünnschichtchromatographie, IR- und UV-Spektroskopie erfolgte.

[289/66]