

- [4] *A. Hassner & F. W. Fowler*, J. Amer. chem. Soc. *90*, 2869 (1968).
[5] *N. J. Leonard & B. Zwanenburg*, *ibid.* *89*, 4456 (1967).
[6] *F. W. Fowler, A. Hassner & L. A. Levy*, *ibid.* *89*, 2077 (1967).
[7] *R. Huisgen, E. Funke, H. Gotthardt & V.-L. Panke*, Chem. Ber. *104*, 1532 (1971).
[8] *J. H. Bowie & B. Nussey*, Chem. Commun. *1970*, 1565.
[9] *E. Brunn, E. Funke, H. Gotthardt & R. Huisgen*, Chem. Ber. *104*, 1562 (1971).
[10] *D. L. Aldous, J. L. Riebsomer & R. W. Castle*, J. org. Chemistry *25*, 1151 (1960).

96. Photochemie in der Vitamin D-Reihe

I. Kinetik und Quantenausbeuten der Ergosterinbestrahlung bei $\lambda = 253,7$ nm

von **K. Pfoertner** und **J. P. Weber**

Aus der chemischen Forschungsabteilung und der Abteilung für Physik und physikalische Chemie
der *F. Hoffmann-La Roche & Co. AG*

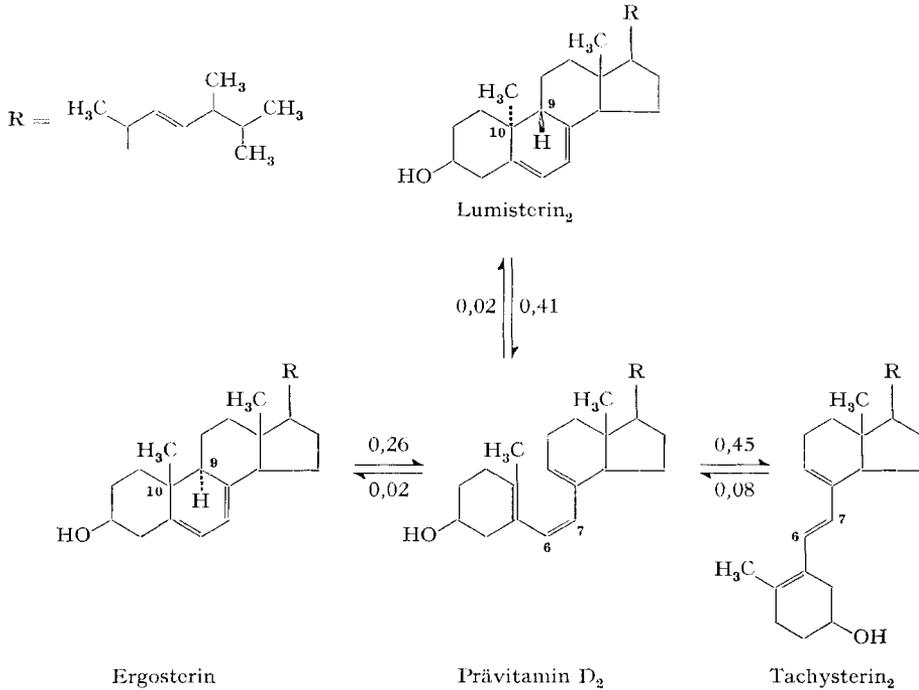
(21. 2. 72)

Summary. Irradiation of $A^{5,7-9\alpha,10\beta}$ -steroids in solution with $\lambda = 253,7$ nm yielded no $A^{5,7-9\beta,10\alpha}$ -steroids and *vice versa*. No back reaction from precalciferol₂ to ergosterol could be detected by kinetic measurements. This leads to the conclusion that with the mercury resonance line only ring opening and 6,7-*cis/trans* isomerization but no ring closure occurs.

Die fünfundvierzigjährige Geschichte der Photochemie der Vitamin-D-Reihe ist im wesentlichen durch die Bearbeitung von zwei Problemkreisen gekennzeichnet. Einerseits galt es, die Strukturen der bei den photochemischen Isomerisationen auftretenden Substanzen zu identifizieren, andererseits musste geklärt werden, aus welcher Verbindung eine jede entsteht. Das Problem der wechselseitigen Beziehungen wurde von *Velluz et al.* [1] durch die Entdeckung des Prävitamins und seiner zentralen Stellung in der Photochemie dieses Systems gelöst. *Sanders & Havinga* [2] haben dann die Quantenausbeuten für die auch von uns zur Bestrahlung verwendete Quecksilber-Resonanzlinie 253,7 nm angegeben, so dass sich uns das zu untersuchende System dem Schema 1 entsprechend präsentierte.

Da alle zu diesem System gehörenden Verbindungen durch Einwirkung von Licht, Luftsauerstoff usw. verändert werden, bereitet ihre quantitative Erfassung in den Bestahlungsgemischen Schwierigkeiten. Die im Schema 1 enthaltenen Quantenausbeuten beruhen auf Untersuchungen von *Rappoldt* [3], der sich im Jahre 1960 zur quantitativen Bestimmung der einzelnen Komponenten folgender Methode bediente: Das nicht umgesetzte Ergosterin wurde mit Digitonin gefällt, während zur Ermittlung der Prävitamin D-Menge ein Differenzverfahren zur Anwendung kam. Bei drei Wellenlängen wurde die Extinktion der verdünnten Reaktionslösung gemessen und die gleiche Messung nach thermischer Umwandlung des Prävitamins in das stärker absorbierende Vitamin D wiederholt. Aus der Zunahme der Extinktion wurde dann die Prävitamin D-Menge berechnet. Die Tachysterin-Menge ergab sich aus Extinktionsmessungen bei drei Wellenlängen oberhalb 300 nm, wo die Lichtabsorption der

Schema 1



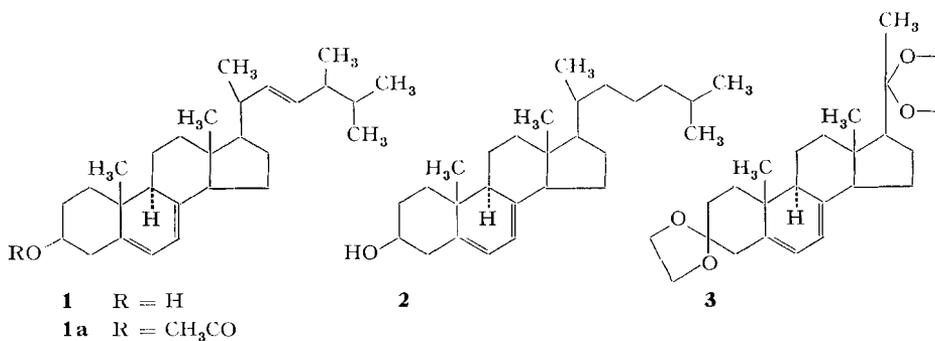
Reaktionsschema nach [1]. Quantenausbeuten, bei 253,7 nm, nach [2; 3]

übrigen Komponenten viel geringer ist. Für das Lumisterin stand damals überhaupt keine Messmethode zur Verfügung. Man musste durch Ergänzung der Summe der gemessenen Komponenten zu 100% darauf zurückschliessen. Zur Berechnung der Quantenausbeuten wurden die Anfangsgeschwindigkeiten der betreffenden Reaktionen verwendet, die durch graphische Extrapolation ermittelt wurden.

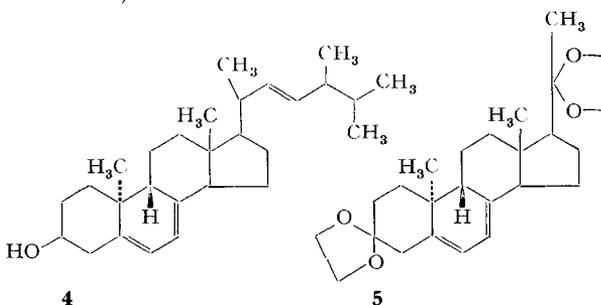
Die beschriebene Analysenmethode ist ebenso wie das Auswerteverfahren zur Ermittlung der Quantenausbeuten mit erheblichen Unsicherheiten behaftet, weshalb wir uns veranlasst sahen, das Problem mit den uns heute zur Verfügung stehenden Hilfsmitteln neu zu bearbeiten.

Nach der Bestrahlung von Ergosterin-Lösungen mit der Quecksilber-Resonanzlinie sollte man im Reaktionsgemisch, nach Schema 1, Lumisterin₂ finden und, umgekehrt, in bestrahlten Lumisterin₂-Lösungen, Ergosterin. Nachdem Vorversuche diese Voraussage nicht bestätigten, führten wir zu ihrer genauen Überprüfung eine ganze Reihe von Experimenten unter Verwendung von Licht der Wellenlänge 253,7 nm durch. Dabei benutzten wir

- als $\Delta^{5,7-9\alpha}, 10\beta$ -Steroide:
- Ergosterin **1**
 - 3-O-Acetyl-ergosterin **1a**
 - 7-Dehydrocholesterin **2**
 - 3,3;20,20-Bis-äthylendioxy-pregna-5,7-dien (Diketal) **3**



als $\Delta^{5,7-9\beta}, 10\alpha$ -Steroide: Lumisterin₂ **4**
 3,3;20,20-Bis-äthylendioxy-9 β ,10 α -pregna-5,6-dien
 (Retrodiketal) **5**



als Lösungsmittel: Methanol, Äthanol, Isopropylalkohol, Essigsäureäthylester, Isooctan, *n*-Hexan

als Analysenmethode: NMR.-Spektroskopie, Gas-Chromatographie, Dünnschichtchromatographie.

Bei Umsätzen bis zu 80% der bestrahlten Verbindungen konnten wir in keinem der untersuchten 13 Fälle das cyclische Dien mit der zum Ausgangsmaterial inversen Konfiguration an C(9) und C(10) nachweisen, sondern immer nur die durch Ringöffnung entstandenen *seco*-Steroide vom Prävitamin D- und Tachysterin-Typ.

Durch Analyse der nach Beendigung der Photoreaktion erhaltenen Gemische liess sich jedoch nicht entscheiden, ob während der Belichtung das betreffende Ausgangsmaterial teilweise zurückgebildet wird oder nicht. Zur Klärung dieser Frage nahmen wir kinetische Messungen vor. Dabei gingen wir vom Ergosterin aus, das uns in grösserer Menge zur Verfügung stand und sich leichter reinigen liess als Lumisterin₂.

Um die einzelnen Komponenten ohne Abtrennung aus dem Reaktionsgemisch quantitativ bestimmen zu können, wählten wir als Messverfahren die Computer-Analyse der UV.-Spektren der Bestahlungsgemische nach der Methode der kleinsten Fehlerquadrate, wie sie von Sternberg *et al.* [4] angegeben worden ist. In seiner ursprünglichen Form, nämlich zur Analyse des aus fünf Komponenten bestehenden Systems Ergosterin, Lumisterin₂, Prävitamin D₂, Vitamin D₂, Tachysterin₂ genügte dieses Verfahren jedoch nicht unseren Anforderungen. Mit unseren qualitativen Ver-

suchen hatten wir nachgewiesen, dass bei der Belichtung von Ergosterin mit der Quecksilber-Resonanzlinie kein Lumisterin₂ entsteht. Ausserdem liess sich durch geeignete Reaktionstemperaturen ($< 20^\circ$) verhindern, dass während der Dauer einer Kinetik-Messung Vitamin D₂ gebildet wurde. Dadurch reduzierte sich die Anzahl der quantitativ zu bestimmenden Komponenten von fünf auf drei und wir entgingen der Schwierigkeit, die sich daraus ergeben hätte, dass die Absorptionsspektren von P (Prävitamin D) und D (Vitamin D) einerseits sowie von E (Ergosterin) und L (Lumisterin) andererseits nach Form und Lage einander ähnlich sind (siehe Fig. 1).

Als wir dann auch noch die Anzahl der zur Extinktionsmessung verwendeten Wellenlängen von ursprünglich 12 auf 24 erhöhten, ergab sich eine reproduzierbare Analysenmethode von hinreichender Genauigkeit, um den Fortgang der photo-

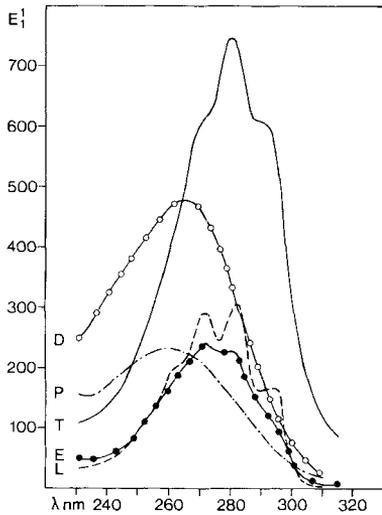


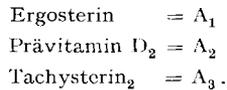
Fig. 1. Spektren von L, E, T, P und D nach [4] und nach eigenen Messungen

L = Lumisterin, E = Ergosterin, T = Tachysterin,
P = Prävitamin D, D = Vitamin D

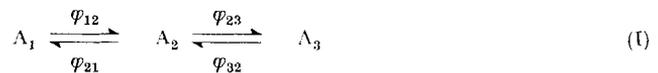
chemischen Reaktionen des Systems Ergosterin, Prävitamin D₂, Tachysterin₂ messend zu verfolgen.

Die derart gemessene Kinetik wurde durch Vergleich mit einem mathematischen Modell interpretiert, welches wir folgendermassen erhielten:

Um die Tatsache hervorzuheben, dass sich die Molekulargewichte bei den Photoreaktionen nicht verändern, wurden alle Komponenten in der gleichen Weise bezeichnet. Ihre Unterscheidung erfolgte durch Indices, welche sich auch dazu eignen, die Quantenausbeuten φ der einzelnen Reaktionen zu charakterisieren.



Unter Einbeziehung einer möglichen photochemischen Rückbildung des Ausgangsmaterials ergab sich damit folgender Ansatz:



$$\begin{aligned}\frac{dA_1}{dt} &= \varphi_{21} I_2 - \varphi_{12} I_1 \\ \frac{dA_2}{dt} &= \varphi_{12} I_1 + \varphi_{32} I_3 - \varphi_{21} I_2 - \varphi_{23} I_2 \\ \frac{dA_3}{dt} &= \varphi_{23} I_2 - \varphi_{32} I_3.\end{aligned}$$

I_1 , I_2 und I_3 sind die von den Komponenten A_1 , A_2 und A_3 pro Liter und Minute absorbierten, in Einstein (Mol Lichtquanten) gemessenen Lichtmengen. Nach *Kling, Nikolaishi & Schläfer* [5] gilt für die von der i -ten Komponente absorbierten Lichtmenge I_i eines aus n absorbierenden Komponenten bestehenden Systems folgende Beziehung:

$$I_i = \frac{\varepsilon_i A_i}{\sum_{n=1}^m \varepsilon_n A_n} I_0 \left(1 - 10^{-d \sum_{n=1}^m \varepsilon_n A_n} \right).$$

Der Exponentialterm kann vernachlässigt werden, wenn die Bedingung

$$10^{-d \sum_{n=1}^m \varepsilon_n A_n} \ll 1.$$

erfüllt ist. Das lässt sich durch geeignete Wahl der entsprechenden Parameter erreichen. Wir verwendeten als Schichtdicke $d = 1$ cm; als Anfangskonzentration des Ergosterins $A_1 = 1,26 \cdot 10^{-3}$ Mol \cdot l $^{-1}$; als molaren Extinktionskoeffizienten des Ergosterins bei $\lambda = 253,7$ nm $\varepsilon = 4831$ Mol $^{-1} \cdot$ l \cdot cm $^{-1}$.

Zu Beginn der Belichtung war dann

$$10^{-d \sum_{n=1}^m \varepsilon_n A_n} = 10^{-6,087} \ll 1.$$

Da die molaren Extinktionskoeffizienten der im Verlauf der Photoreaktion auftretenden Komponenten Prävitamin D_3 und Tachysterin $_2$ bei 253,7 nm wesentlich höher sind als der Extinktionskoeffizient des Ergosterins, wird bei konstanter Gesamtkonzentration der geringe Fehler, der durch die Vernachlässigung des Exponentialterms entsteht, mit fortschreitender Reaktion noch kleiner.

Die von der i -ten Komponente absorbierte Lichtmenge I_i lässt sich nun in den Differentialgleichungen durch folgenden Ausdruck ersetzen:

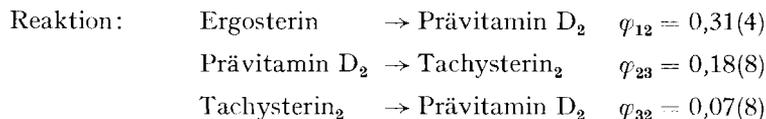
$$I_i = \frac{\varepsilon_i A_i}{\sum_{n=1}^m \varepsilon_n A_n} I_0.$$

Darin ist I_0 die aktinometrisch messbare, eingestrahelte Lichtmenge. Für vollständige Reversibilität nach der Gleichung (I) gilt dann

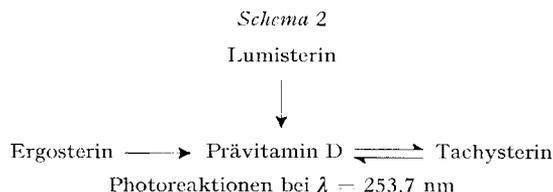
$$\begin{aligned}\frac{dA_1}{dt} &= \frac{I_0}{\sum_{n=1}^m \varepsilon_n A_n} (\varphi_{21} \varepsilon_2 A_2 - \varphi_{12} \varepsilon_1 A_1) \\ \frac{dA_2}{dt} &= \frac{I_0}{\sum_{n=1}^m \varepsilon_n A_n} (\varphi_{12} \varepsilon_1 A_1 + \varphi_{32} \varepsilon_3 A_3 - \varphi_{21} \varepsilon_2 A_2 - \varphi_{23} \varepsilon_2 A_2) \\ \frac{dA_3}{dt} &= \frac{I_0}{\sum_{n=1}^m \varepsilon_n A_n} (\varphi_{23} \varepsilon_2 A_2 - \varphi_{32} \varepsilon_3 A_3).\end{aligned}$$

Die Integration dieses Systems von Differentialgleichungen wurde numerisch mit Hilfe des CSMP¹⁾ des Computers IBM 1130 durchgeführt. Das von uns gewählte Suchverfahren nach denjenigen φ -Werten, welche eine optimale Anpassung der berechneten an die gemessene Kinetik gewährleisten, ist im experimentellen Teil beschrieben.

Für die Belichtung von Ergosterin in Isopropylalkohol mit $\lambda = 253,7$ nm bei $18,3^\circ$ bis zu einem Umsatz von 78,1% erhielten wir folgende Werte für die Quantenausbeuten:



Eine Rückreaktion von Prävitamin D₂ zum Ergosterin (Ringschluss), konnten wir innerhalb unserer Messgenauigkeit nicht feststellen. Da auch die Entstehung eines ringgeschlossenen Produktes mit der zum Ausgangsmaterial inversen Konfiguration an C(9) und C(10) in den eingangs beschriebenen Experimenten nicht nachgewiesen werden konnte, nehmen wir an, dass Licht der Wellenlänge 253,7 nm den Ring B der $\Delta^{5,7}$ -Steroide nur zu öffnen, aber nicht zu schliessen vermag. Wir schlagen daher vor, für diesen Spektralbereich die Reaktionen des Schemas 1 durch diejenigen des Schemas 2 zu ersetzen, bei dem sich die Reversibilität auf die 6,7-*cis/trans*-Isomerisation beschränkt.



Herrn Dr. W. Arnold danken wir für die Aufnahme und Interpretation der NMR.-Spektren, Herrn Dr. M. Vecchi und seinen Mitarbeitern für die zahlreichen Gas-chromatogramme, ferner Herrn Dr. A. Bolter für die Herstellung und Reinigung des 3,3;20,20-Bis-äthylendioxypregna-5,7-diens und Herrn K. Schaffner für die Durchführung der Versuche. Besonderen Dank schulden wir unserer feinmechanischen Werkstatt (Leitung Herr M. Rösch) für ihre Hilfe bei der Entwicklung und dem Bau der Teflon-Membranpumpen und des Photoreaktors sowie für zahlreiche andere Hilfeleistungen.

Experimenteller Teil

Allgemeines. – *Substanzen.* Ergosterin (*Philips*) wurde aus Äthanol/Essigsäureäthylester 2:1 umkristallisiert, während 3 β -O-Acetylergosterin nach der Herstellung aus Ergosterin und Acetanhydrid in Pyridin aus Äthanol/Essigsäureäthylester 1:1 kristallisierte. Lumisterin₂ (*Philips*) wurde aus Methanol umkristallisiert und zur Reinigung des 7-Dehydrocholesterins (*Roussel-Uclaf*) durch Kristallisation benutzten wir Äthanol/Wasser 9:1. Das 7-Dehydrocholesterin enthielt nach dem Trocknen noch 1% Wasser. In allen Fällen wiederholten wir die Kristallisation so oft bis sich das UV.-Spektrum nicht mehr veränderte. Nach 24-stg. Trocknen im Hochvakuum wurde dieses mit Argon gebrochen. Bis zum Gebrauch wurden die Substanzen unter Argon bei -18° aufbewahrt. Die Reinheitsprüfung erfolgte durch Elementaranalyse, NMR.-Spektroskopie, Dünnschicht- und Gas-Chromatographie sowie durch Bestimmung der E_1^1 -Werte bei 24 Wellenlängen zwischen 240 und 300 nm. Das gilt auch für das 3,3;20,20-Bis-äthylendioxypregna-5,7-dien, das in unserer Firma aus 5,16-Pregnadien-3 β -ol-20-on (*Fluka*) hergestellt worden war und aus dem wir durch

¹⁾ Continuous System Modelling Program.

UV.-Bestrahlung 3, 3; 20, 20-Bis-äthylendioxy-9 β , 10 α -pregna-5, 7-dien erhielten, das aus Acetonitril kristallisiert wurde.

Analytik. Zur NMR.-spektroskopischen Unterscheidung der 9 α , 10 β -Steroide von den 9 β , 10 α -Steroiden in den Reaktionsgemischen wurden die Protonen an C(18) und C(19) herangezogen. Um die Fehlermöglichkeiten zu eliminieren, die sich aus einer teilweisen Überlagerung ihrer Signale durch diejenigen der Seitenkette ergeben könnten, wurden zur Kontrolle die entsprechenden 3, 3; 20, 20-Bis-äthylendioxy-pregna-5, 7-diene (Diketale) eingesetzt.

Tabelle 1. NMR.-Signale der Methylprotonen in ppm (60 MHz, CDCl₃, interner Standard Tetramethylsilan)

Stoffpaare	H ₃ -C(18)	H ₃ -C(19)	H ₃ -C(21)
Ergosterin	0,633	0,942	
Lumisterin ₂	0,637	0,948	
7-Dehydrocholesterin	0,625	0,945	
Lumisterin ₃	0,625	0,745	
Diketal (3)	0,725	0,975	1,302
Retrodiketal (5)	0,708	0,770	1,298

Die gas-chromatographische Analyse (GC.) der Reaktionsgemische gestaltete sich schwieriger, da Prävitamin D im Gas-Chromatographen in Pyro- und Isopyrocalciferol umgewandelt wird und das Pyrocalciferol-Signal dasjenige des Lumisterins (bzw. Retrodiketals) überdeckt. Beim Auftreten von Lumisterin ändert sich daher nur das Flächenverhältnis der Signale für Isopyrocalciferol und Pyrocalciferol. Um Lumisterin im Reaktionsgemisch auf diese Weise identifizieren zu können, wurden quantitative Messungen unter Bezug auf einen internen Standard (Progesteron) durchgeführt.

Zu diesem Zweck wurden 10 ml der bestrahlten Lösung unter Argon und vermindertem Druck zur Trockne eingedampft, der Rückstand in 10 ml einer 0,1proz. Lösung von Progesteron in Dioxan (p.a. *Merck*) aufgenommen und gas-chromatographisch analysiert.

Gerät: *Perkin-Elmer* 900/2/B mit Integrator

Säule: 5% SE 30/2 m/2,2 mm (Trägergas: Helium)

Tabelle 2. Im Gas-Chromatographen verwendete Temperaturen in Grad Celsius

Stoffpaare	Temperatur		
	Säule	Einspritzblock	Detektor
Ergosterin/Lumisterin ₂	240°	260°	250°
7-Dehydrocholesterin/Lumisterin ₃	250°	270°	250°
Diketal/Retrodiketal	240°	260°	250°

Die vergleichende DC.-Kontrolle der Reaktionsgemische wurde mit Kieselgelplatten und mit Cyclohexan/Äther 1:1 als Laufmittel durchgeführt. Die Anfärbung erfolgte durch Erwärmen der mit verdünnter Schwefelsäure besprühten Platten. Ausserdem wurde nach der Anfärbung die Fluoreszenz im langwelligen UV. beobachtet.

Durchführung der Bestrahlungen. Zur Durchführung der UV.-Bestrahlungen bedienen wir uns eines Ringmantelgefässes mit einer wirksamen Schichtdicke von 1 cm, in welchem die zu belichtende Lösung mit Hilfe von Teflon-Membranpumpen²⁾ an der Lichtquelle vorbeibewegt wurde. Die Lösung zirkulierte zwischen Photoreaktor und externem Vorratsgefäss. Sie wurde vor der Belichtung mit 150 bis 200 l T-Argon (99,99proz.) von der *Carba AG* gespült. Während der Photo-reaktion zirkulierte das Schutzgas ebenfalls mit Hilfe von Teflon-Membranpumpen²⁾ und wurde

²⁾ Eigenentwicklung unserer Firma.

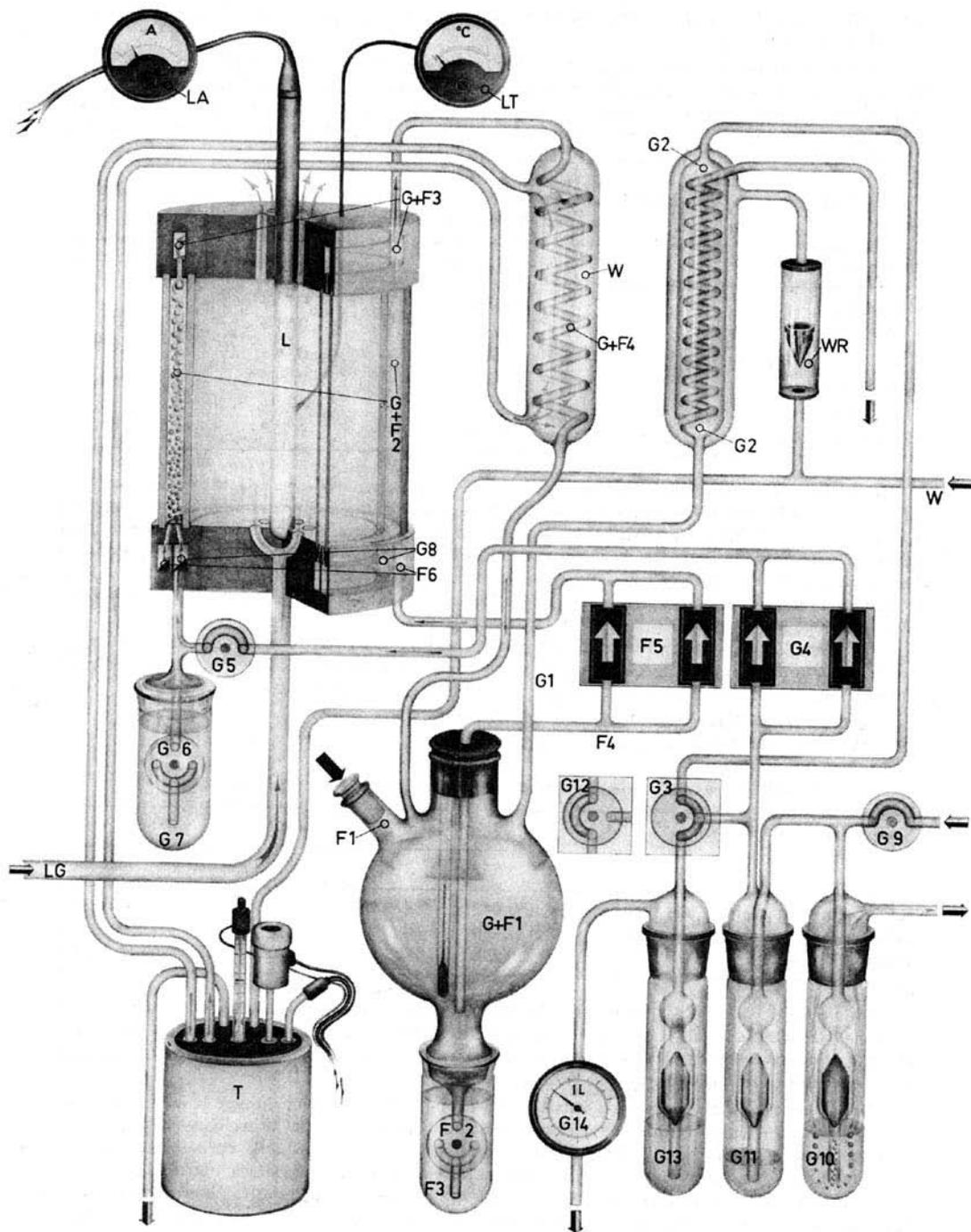


Fig. 2. Bestrahlungsapparatur

Legende zu Fig. 2

G = Gaskreislauf F = Flüssigkeitskreislauf

- G + F 1 Vorratsgefäß für die Flüssigkeit, welches gleichzeitig zur Trennung von Gas und Flüssigkeit dient.
- F 1 Einfüllstutzen.
- F 2 Abfüllstutzen zur Entleerung des Vorratsgefäßes.
- F 3 Absperrung des Abfüllstutzens gegenüber Luft durch Eintauchen in das betreffende Lösungsmittel während der Photoreaktion.
- F 4 Ansaugstutzen der Flüssigkeitspumpe.
- F 5 Zwei gemeinsam von einem elektronisch gesteuerten Elektromotor betriebene Flüssigkeitspumpen³⁾.
- F 6 Verteilerkammer für die Flüssigkeit vor dem Eintritt in den Reaktionsraum.
- G + F 2 Reaktionsraum (von Flüssigkeit und Inertgas durchflossen).
- G + F 3 Gemeinsamer Austritt von Gas und Flüssigkeit aus dem Reaktionsraum.
- G + F 4 Von Gas und Flüssigkeit gemeinsam durchflossener, mit dem Thermostaten verbundener Wärmeaustauscher.
- G 1 Ansaugstutzen zur Gasentnahme aus dem Vorratsgefäß (bei geschlossenem Gaskreislauf).
- G 2 Intensivkühler zum Auskondensieren mitgerissener Flüssigkeitsdämpfe.
- G 3 Bei dieser Hahnstellung: Geschlossener Gaskreislauf, Rückschlagventil G 13 wirkt als Überdruckventil für die Apparatur und als Absperrung gegenüber der Luft.
- G 4 Zwei gemeinsam von einem elektronisch gesteuerten Elektromotor betriebene Gaspumpen²⁾.
- G 5 Absperrhahn, um das Zurücksteigen der Flüssigkeit bei ausgeschalteter Gaspumpe zu verhindern.
- G 6 Abfüllstutzen zur Entleerung des Photoreaktors.
- G 7 Absperrung des Einfüllstutzens gegenüber Luft durch Eintauchen in das betreffende Lösungsmittel während der Photoreaktion.
- G 8 Verteilerkammer für das Inertgas vor dem Eintritt in den Reaktionsraum.
- G 9 Inertgaszufuhr.
- G 10 Überdruckventil für die Inertgaszufuhr³⁾.
- G 11 Einlassventil für das Inertgas³⁾.
- G 12 Bei dieser Hahnstellung: Spülen der Apparatur bzw. der Bestrahlungslösung mit Inertgas.
- G 13 Gasauslassventil bei Hahnstellung G 12, Überdruckventil bei Hahnstellung G 3.
- G 14 Gasuhr zur Kontrolle der Inertgasspülung der Apparatur und der Bestrahlungslösung.
- L Lichtquelle (Hg-Niederdrucklampe).
- LA Kontrolle des Lampenstromes.
- LT Kontrolle der Lampentemperatur.
- LG Beheizter Luftstrom zur Einstellung der optimalen Lampentemperatur.
- W Kühlwasser (für Intensivkühler und Thermostat).
- WR Kühlwasserkontrolle am Intensivkühler mit einem Rotameter.

dabei im Photoreaktor durch die Lösung gepresst, um zwecks Vermischung der schmalen photochemischen Reaktionszone mit dem übrigen Volumen innerhalb der strömenden Flüssigkeit Turbulenz zu erzeugen. Die gesamte Bestrahlungsapparatur war so beschaffen, dass das Bestrahlungsgut nur mit Pyrex-Glas, Quarzglas und Teflon in Berührung kam. Aufbau und Wirkungsweise der Apparatur sind aus Fig. 2 ersichtlich.

Als Lichtquelle verwendeten wir eine Hg-Niederdrucklampe (NK 6/20, Hanauer Quarzlampengesellschaft). 89,1% des von ihr emittierten Lichtes entfiel auf die Resonanzlinie 253,7 nm, 2,8% auf die Wellenlängen 302 und 313 nm, die bei den von uns verwendeten Steroid-Konzentrationen von diesem praktisch nicht mehr absorbiert wurden und 6,3% auf die hier photochemisch nicht mehr wirksamen Wellenlängen > 313 nm.

³⁾ Als Absperrflüssigkeit diente ein Silikonöl mit extrem niedrigem Dampfdruck.

Bei unseren Messungen der relativen spektralen Energieverteilung der Hg-Niederdrucklampe hatten wir festgestellt, dass diese sich im Bereich von 13°–60° (Oberflächentemperatur) nicht wesentlich ändert. Aktinometrische Messungen hatten dagegen ergeben, dass die Gesamtmenge der abgestrahlten Energie deutlich von der Lampentemperatur abhängt. Die Lichtquelle wurde daher bei der Durchführung von Photoreaktionen unterhalb 20° mit Hilfe eines Warmluftstromes auf ihrer optimalen Temperatur von 40° gehalten. Zur Temperaturkontrolle war auf der Lampenoberfläche ein Thermoelement aufgekittet.

Da bei der üblichen Verwendung des Hg-Niederdruckstrahlers als Tauchlampe die Bestrahlungslösung von der Lampenoberfläche nur durch eine Schicht von 1 mm Luft und 1 mm Quarzglas getrennt ist, dringt die Quecksilber-Linie 184,9 nm noch bis zum Bestrahlungsgut durch und verursacht an der Oberfläche des Tauchrohres lichtschwächende Beläge. Aus diesem Grunde hatten wir den Strahler so angeordnet, dass sich zwischen ihm und dem Reaktionsgemisch eine Schicht von 22 mm Luft und 2,2 mm Quarzglas befand. Hierdurch wurde die kurzwellige Quecksilber-Linie vollständig absorbiert und eine Belagbildung verhindert.

Versuche

1. 0,913 g ($2,30 \cdot 10^{-3}$ Mol) Ergosterin wurden in 1 l Methanol p.a. *Merck* bei 24,5° 120 Min. bestrahlt.

GC.: 47,3% Ergosterin, 25,6% Prävitamin D₂, 27,1% Tachysterin₂
DC.: Kein Lumisterin₂

2. 0,984 g ($2,48 \cdot 10^{-3}$ Mol) Ergosterin wurden in 1 l Äthanol p.a. *Merck* 120 Min. bestrahlt.

GC.: 57,4% Ergosterin, 20,8% Prävitamin D₂, 21,8% Tachysterin₂
DC.: Kein Lumisterin₂

3. 0,980 g ($2,47 \cdot 10^{-3}$ Mol) Ergosterin wurden in 1 l spektralreinem Isooctan (Uvasol *Merck*) bei 19,5° 120 Min. bestrahlt.

GC.: 56,1% Ergosterin, 23,1% Prävitamin D₂, 20,8% Tachysterin₂
DC.: Kein Lumisterin₂

4a. 0,953 g ($2,40 \cdot 10^{-3}$ Mol) Ergosterin wurden in 1 l Isopropylalkohol p.a. *Merck* bei 17,5° 70 Min. bestrahlt.

GC.: 57,4% Ergosterin, 28,6% Prävitamin D₂, 14% Tachysterin₂
DC.: Kein Lumisterin₂

4b. 1,907 g ($4,81 \cdot 10^{-3}$ Mol) Ergosterin wurden in 1 l Isopropylalkohol p.a. *Merck* bei 18,0° 120 Min. bestrahlt.

GC.: 77,2% Ergosterin, 15,2% Prävitamin D₂, 7,6% Tachysterin₂
DC.: Kein Lumisterin₂

5. 1,098 g ($2,77 \cdot 10^{-3}$ Mol) Ergosterin wurden in einer Mischung aus 910 ml spektralreinem *n*-Hexan (Uvasol *Merck*) und 90 ml Isopropylalkohol p.a. *Merck* bei 19,8° 120 Min. bestrahlt.

GC.: 43,5% Ergosterin, 30,6% Prävitamin D₂, 25,9% Tachysterin₂
DC. und NMR.: Kein Lumisterin₂

6. 1,00 g ($2,52 \cdot 10^{-3}$ Mol) Ergosterin wurde in 1 l Essigsäureäthylester p.a. *Merck* bei 17,0° 120 Min. bestrahlt.

DC. und NMR.: Kein Lumisterin₂

7. 1,00 g ($2,20 \cdot 10^{-3}$ Mol) 3 β -O-Acetyl-ergosterin wurde in 1 l Isopropylalkohol p.a. *Merck* bei 15,0° 240 Min. bestrahlt. Da die Acetate der zu erwartenden Produkte sich bei der DC.-Kontrolle trotz Einsatzes verschiedenster Laufmittel nicht vom Ausgangsmaterial trennen liessen, wurde der ganze Ansatz nach dem Abziehen des Isopropylalkohols bei 30° i.V. in Methanol mit Kaliumkarbonat unter Argon 12 Std. bei Raumtemperatur gerührt. Durch die dabei erfolgende Umesterung wurden das Ergosterin und seine Photoprodukte quantitativ in Freiheit gesetzt und liessen sich nun mit unserer üblichen DC.-Kontrolle nachweisen.

NMR. und DC.: Kein Lumisterin₂

8. 1,20 g ($3,02 \cdot 10^{-3}$ Mol) Lumisterin₂ wurden in 1 l Isopropylalkohol p.a. *Merck* bei 34,0° 150 Min. bestrahlt.

GC., DC. und NMR.: Kein Ergosterin

9. 1,00 g ($2,52 \cdot 10^{-3}$ Mol) Lumisterin₂ wurde in 1 l Isopropylalkohol p.a. *Merck* bei 14,0° 120 Min. bestrahlt.

GC., DC. und NMR.: Kein Ergosterin

10. 1,00 g ($2,60 \cdot 10^{-3}$ Mol) 7-Dehydrocholesterin wurde in 2,7 l spektralreinem *n*-Hexan (Uvasol *Merck*) bei 16,0° 240 Min. bestrahlt.

GC.: 26,4% 7-Dehydrocholesterin, 31,9% Prävitamin D₂, 39,2% Tachysterin₃, 2,5% unbekannte Produkte, aber kein Lumisterin₃

DC. und NMR.: Kein Lumisterin₃

11. 1,00 g ($2,50 \cdot 10^{-3}$ Mol) Diketal wurde in 1 l Isopropylalkohol p.a. *Merck* bei 20,1° 120 Min. bestrahlt.

GC.: 49,8% Ausgangsmaterial, 25,5% *seco*-Steroid vom Prävitamin D-Typ, 24,7% *seco*-Steroid vom Tachysterin-Typ.

NMR.: Kein Retrodiketal (Lumisterin-Typ)

12. 1,00 g ($2,50 \cdot 10^{-3}$ Mol) Retrodiketal wurde in 1 l Isopropylalkohol p.a. *Merck* bei 19,9° 120 Min bestrahlt.

NMR.: Kein Diketal (Ergosterin-Typ)

Kinetik

Bestrahlung. – Die Reaktion, deren Kinetik ermittelt werden sollte, lief ebenfalls in der beschriebenen Bestrahlungsapparatur ab. Zum Unterschied von den qualitativen Versuchen wurde in diesem Fall dem Streufeldtransformator der Hg-Niederdrucklampe noch ein Spannungsstabilisator vorgeschaltet.

0,50 g ($1,26 \cdot 10^{-3}$ Mol) Ergosterin wurden in 1 l Isopropylalkohol p.a. *Merck* bei 18,3° insgesamt 120 Min. bestrahlt. Proben wurden in Abständen von 20 Min. entnommen.

Methodik der UV.-Absorptionsmessungen. – Die Messung der Absorptionsspektren der Reaktionsgemische erfolgte mit einem Spektralphotometer *Beckman* DBG mit *W & W*-Schreiber. Zuvor wurde die Wellenlängenskala des Spektralphotometers mit dem Emissionsspektrum einer Quecksilberlampe geeicht und die Genauigkeit der Extinktionsmessung mit zu diesem Zweck von der

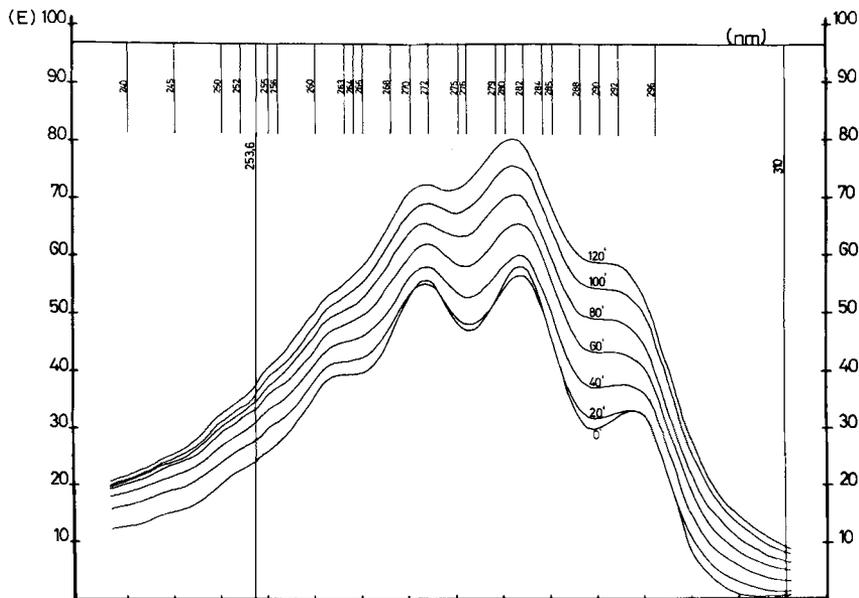


Fig. 3. Änderung des Absorptionsspektrums von Ergosterin bei Bestrahlung mit $\lambda = 253,7$ nm (Zeit in Min.)

Herstellerfirma gelieferten Filtern geprüft. Um uns von beobachteten Signalverzögerungen beim Anlaufen des Schreibers sowie von gemessenen Schwankungen der aufgedruckten Papiereinteilung unabhängig zu machen, brachten wir auf dem rotierenden Teller der Wellenlängeskala einen Nocken an, mit dessen Hilfe über einen Microswitch bei einer bestimmten Wellenlänge (310 nm) auf dem Schreiber ein Signal ausgelöst wurde, welches als Referenz diente.

Zur Ablesung der Extinktionen verwendeten wir nicht den Papierdruck, sondern eine 6 mm starke Plexiglas-Platte, auf der 24 den betreffenden Wellenlängen entsprechende Linien sowie eine für die Referenzwellenlänge über die ganze Papierbreite auf 0,01 mm genau eingraviert waren (Fig. 3). Die Platte wurde bei 310 nm an das Referenzsignal angelegt und durch eine genau rechtwinklig dazu eingravierte Linie auch in der zweiten Dimension justiert. Um die Extinktionen in den steilen Flanken des Absorptionsspektrums besser ablesen zu können, hatten wir den Antriebsmotor des Wellenlängenvorschubs durch einen solchen mit geringerer Drehzahl ausgewechselt. Die Kombination mit dem maximalen Papiervorschub des Schreibers ergab dann die gewünschte Dehnung des Spektrums auf 10 nm gleich 4 cm. Der Küvettenraum des Spektralphotometers war thermostatisiert und als Kriterium für den Temperatureausgleich in der Küvette diente die zeitliche Konstanz des Absorptionsspektrums.

Durchführung und Computerauswertung der UV.-Absorptionsmessungen. Jede während der Photoreaktion entnommene Probe wurde in 3×2 ml aufgeteilt. Zur Messung des UV.-Spektrums mussten die 2 ml-Proben mit Äthanol p.a. Merck auf 50 ml verdünnt werden. Auf jedes Zeitintervall der Kinetik entfielen somit drei voneinander unabhängige Messungen des Absorptionsspektrums des Reaktionsgemisches mit je 24 Extinktionen. Aus den Mittelwerten der Extinktionen wurden die Konzentrationen der einzelnen Komponenten in Prozent der Konzentration A_1 (zur Zeit $t = 0$) mit Hilfe des Computers IBM 1130 nach der von Sternberg *et al.* [4] entwickelten und von uns modifizierten Methode der kleinsten Fehlerquadrate in Matrizenform ermittelt, nachdem die Methode zuvor an künstlichen Mischungen erprobt worden war. Die dabei von uns verwendeten E_1^0 -Werte der Komponenten bei den betreffenden Wellenlängen hatten wir (in Äthanol) mit der gleichen weiter oben beschriebenen Methodik bestimmt. Sie wichen geringfügig von den E_1^0 -Werten ab, die Sternberg *et al.* [4] für Isopropylalkohol angegeben haben.

Die auf diese Weise in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit erhaltenen Analysen der Reaktionsgemische sind in Tab. 3 angegeben.

Tabelle 3. Zusammensetzung des Reaktionsgemisches in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit

Bestrahlungszeit in Min.	Ergosterin %	Prävitamin D ₂ %	Tachysterin ₂ %
0	100,0	–	–
20	71,4	23,4	5,2
40	51,7	35,2	13,1
60	40,9	38,4	20,7
80	32,8	39,8	27,4
100	24,6	41,3	34,1
120	21,9	39,4	38,7

Vergleich der theoretischen Kinetik mit der gemessenen. Zum Vergleich mit der gemessenen Kinetik mussten die gekoppelten Differentialgleichungen des theoretischen Ansatzes integriert werden. Zu diesem Zweck wurden sie zunächst so umgeformt, dass sich wie bei den Messwerten die Konzentrationen A_1, A_2, A_3 zur Zeit t in Prozent von A_1^0 (zur Zeit $t = 0$) ausdrücken liessen:

$$\frac{dA_1}{dt} = \frac{I_0}{A_1^0 \sum_{n=1}^{m-3} \epsilon_n A_n} (\varphi_{21} \epsilon_2 A_2 - \varphi_{12} \epsilon_1 A_1)$$

$$\frac{dA_2}{dt} = \frac{I_0}{A_1^0 \sum_{n=1}^{m-3} \varepsilon_n A_n} (\varphi_{12} \varepsilon_1 A_1 + \varphi_{32} \varepsilon_3 A_3 - \varphi_{21} \varepsilon_2 A_2 - \varphi_{23} \varepsilon_2 A_2)$$

$$\frac{dA_3}{dt} = \frac{I_0}{A_1^0 \sum_{n=1}^{m-3} \varepsilon_n A_n} (\varphi_{23} \varepsilon_2 A_2 - \varphi_{32} \varepsilon_3 A_3).$$

Die schrittweise Integration erfolgte dem Fließbild Fig. 4 entsprechend mit dem CSMP¹⁾ der IBM 1130 (und Plotter) unter Verwendung folgender Werte:

$$\begin{aligned} A_1^0 &= 1,26 \cdot 10^{-3} && \text{Mol. l}^{-1} \\ \text{Für } \lambda = 253,7 \text{ nm: } \varepsilon_1 &= 4831 && \text{Mol.}^{-1} \text{ l} \cdot \text{cm}^{-1} \\ \varepsilon_2 &= 8853 && \text{Mol.}^{-1} \text{ l} \cdot \text{cm}^{-1} \\ \varepsilon_3 &= 11423 && \text{Mol.}^{-1} \text{ l} \cdot \text{cm}^{-1} \end{aligned}$$

Die Werte $\varphi_{ik} \cdot I_0/A_1^0$ wurden von Hand in den Computer eingegeben, wobei wir ausgehend von Quantenausbeuten φ_{ik} aus der Literatur [2] und unter der Annahme einer irreversiblen Ringöffnung in wenigen Schritten zu einer guten Übereinstimmung der berechneten mit der gemessenen Kinetik kamen. (Siehe Fig. 5 und Tab. 4).

Tabelle 4. Vergleich der berechneten Kinetik mit der gemessenen bei Annahme einer irreversiblen Reaktion $A_1 \rightarrow A_2$

t [Min.]	gem. A_1^g [%]	ber. A_1^b [%]	$(A_1^g - A_1^b)^2$	gem. A_2^g [%]	ber. A_2^b [%]	$(A_2^g - A_2^b)^2$	gem. A_3^b [%]	ber. A_3^g [%]	$(A_3^g - A_3^b)^2$
0	100	100	—	—	—	—	—	—	—
20	71,4	70,4	1,00	23,4	24,6	1,44	5,2	5,0	0,04
40	51,7	52,6	0,81	35,2	34,3	0,81	13,1	13,1	0,00
60	40,9	40,6	0,09	38,4	38,5	0,01	20,7	20,9	0,04
80	32,8	31,9	0,81	39,8	40,2	0,16	27,4	27,9	0,25
100	24,6	25,4	0,64	41,3	40,7	0,36	34,1	33,9	0,04
120	21,9	20,4	2,25	39,4	40,6	1,44	38,7	38,9	0,04
s_t			5,60			4,22			0,41

Der zugehörige Parametersatz⁴⁾ lautet:

$$x_1 = \frac{I_0}{A_1^0} \cdot \varphi_{12} = 0,020$$

$$x_2 = \frac{I_0}{A_1^0} \cdot \varphi_{21} = 0,000$$

$$x_3 = \frac{I_0}{A_1^0} \cdot \varphi_{23} = 0,012$$

$$x_4 = \frac{I_0}{A_1^0} \cdot \varphi_{32} = 0,005$$

⁴⁾ Um die Notation zu erleichtern, bezeichnen wir die Parameter im weiteren Verlauf dieses Abschnittes mit x_l ($l = 1, 2, 3, 4$).

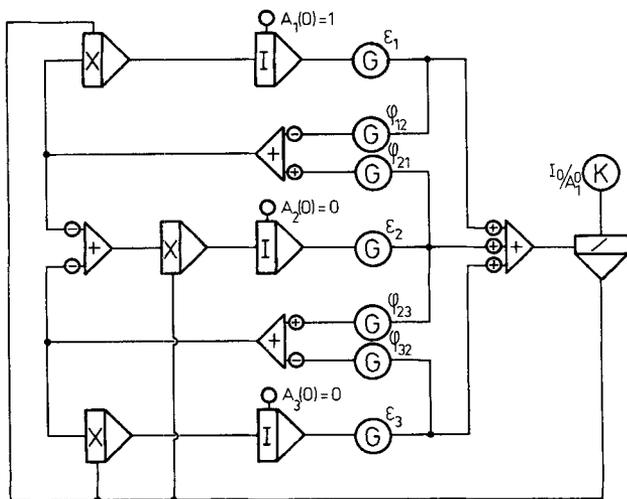


Fig. 4. Fließbild für die Integration mit der IBM 1130 CSMP¹⁾

Legende zu Fig. 4:

- I = Integrator,
- X = Multiplikator,
- / = Divisor,
- + = Summator,
- G = Verstärker mit einstellbarem Faktor (gain),
- K = Konstanteneingabe

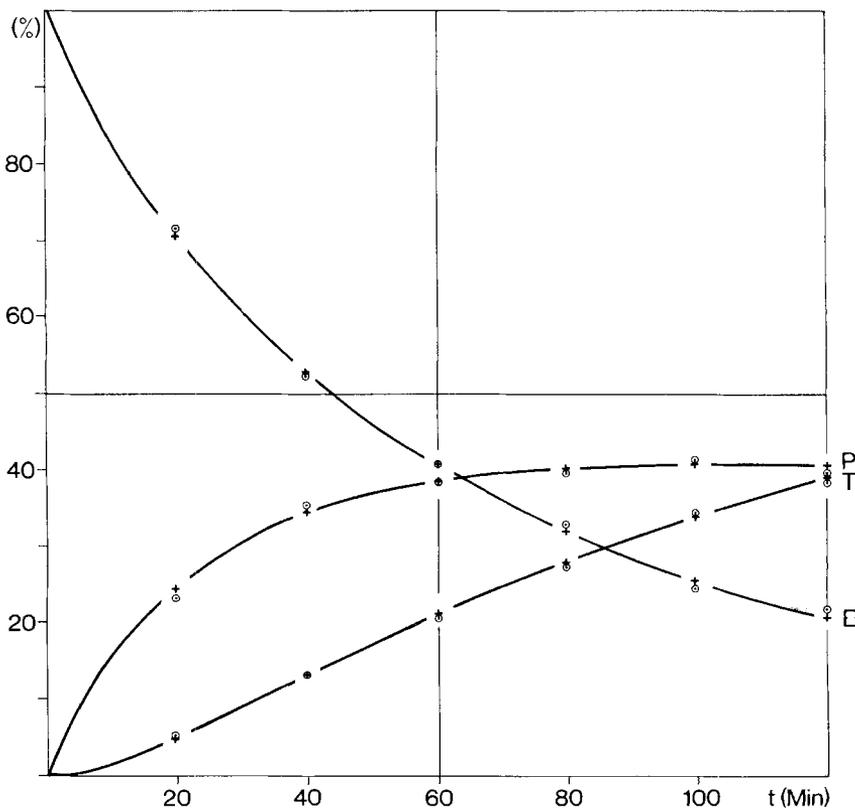


Fig. 5. Vergleich der berechneten Kinetik (vom Plotter ausgezogene Linien und Kreuze) mit der gemessenen (Punkte)

Als Mass für die Güte der Anpassung dient üblicherweise eine Linearkombination S der den einzelnen Konzentrationen A_i zugeordneten Summen s_i der Abweichungsquadrate. Letztere betreffen die Abweichungen der berechneten von den gemessenen Werten.

Also $S = \sum_1 \alpha_i s_i$, worin $s_i = \sum_k (A_{ik}^g - A_{ik}^b)^2$ ist.

Nachdem wir über die Vertrauensgrenzen für die A_i^g keine zuverlässige Aussage machen konnten, haben wir die s_i in S auch nicht mit unterschiedlichen Gewichten α_i versehen, sondern den arithmetischen Mittelwert der s_i als Mass für die Anpassung gewählt.

$$S = \frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 \sum_k (A_{ik}^g - A_{ik}^b)^2.$$

Als Funktion der Parameter x_1 stellt S im Parameterraum eine Hyperfläche dar, deren analytische Beschreibung unbekannt ist. Die geometrischen Eigenschaften dieser Fläche, die auch «Antwortfläche» genannt wird, sind nur durch die Bestimmung einer Vielzahl von S -Werten zugänglich.

Um die Koordinaten x_1^0 eines zu erwartenden Minimums von S zu finden, stehen geeignete Suchmethoden zur Verfügung [7] [8], mit deren Hilfe sich die neuen Koordinaten x_1 aus den bereits bekannten Punkten der Antwortfläche zielgerecht auf iterativem Wege ermitteln lassen. Mit solchen Suchmethoden gelangt man automatisch in das Gebiet, in welchem die Antwort stationär ist.

Befindet man sich aber, wie wir in unserem Fall vorausgesetzt haben, bereits von Anfang an in der Nähe eines stationären Punktes, so hat der Versuch, zu einer genaueren Kenntnis der Antwortfläche zu kommen, Aussicht auf Erfolg. Dazu wird angenommen, dass $S(x_1)$ örtlich durch seine im zweiten Grade begrenzte *Taylor*-Entwicklung dargestellt werden kann [8].

$$S(x_1) \simeq b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 \cdots + b_{11} x_1^2 + b_{22} x_2^2 + \cdots + b_{12} x_1 x_2 + b_{13} x_1 x_3 + \cdots$$

Geschätzte Werte β für die Regressionskoeffizienten b können wieder durch Anpassung mit Hilfe der Methode der kleinsten Abweichungsquadrate ermittelt werden. Hierzu werden die Koordinaten $(S, x_1)_j$ von N Punkten der Antwortfläche als Stützpunkte benötigt und N muss grösser als die Anzahl der Regressionskoeffizienten sein. Gelingt die Anpassung, so hat man ein analytisches Modell

$$y = \beta_0 + \sum_1 \beta_1 x_1 + \sum_{k \geq 1} \beta_{1k} x_1 x_k \quad \text{II}$$

für die Antwortfläche gewonnen.

Durch Ableitung von (II) nach jeder Variablen x_1 erhält man ein System von linearen Gleichungen, dessen Lösung die Koordinaten (y^0, x_1^0) des stationären Punktes angibt. Die geometrischen Eigenschaften unserer quadratischen Hyperfläche kann man sofort erkennen, wenn man an Stelle des ursprünglichen Koordinatensystems ein solches (Y, X_1) verwendet, in welchem (II) durch seine kanonische Form beschrieben wird.

$$Y = \sum_1 \lambda_1 X_1^2.$$

Hierbei lassen sich folgende Fälle unterscheiden:

a) Alle $\lambda_1 > 0$: Die Fläche (II) ist ein elliptisches Paraboloid und der stationäre Punkt ist ein Minimum.

b) Alle $\lambda_1 < 0$: Die Fläche (II) ist ein elliptisches Paraboloid und der stationäre Punkt ist ein Maximum.

c) Alle $\lambda_1 \neq 0$, haben aber verschiedene Vorzeichen: Die Fläche (II) ist ein hyperbolisches Paraboloid und der stationäre Punkt ist ein Sattelpunkt.

d) Ein oder mehrere $\lambda_1 = 0$: Das Paraboloid ist degeneriert. Die Antwort Y bleibt entlang der betreffenden X_1 -Achsen konstant.

Für die Umgebung des Punktes

$$x_1 = 0,020; \quad x_2 = 0,003; \quad x_3 = 0,012; \quad x_4 = 0,005$$

haben wir einen orthogonalen Versuchsplan [9] aufgestellt und für jedes x_1 eine Schritt-länge von 0,002 eingesetzt. Damit erhielten wir 25 Parametersätze und nach den zu-gehörigen Simulationen entsprechend 25 S-Werte. Die Durchführung der Regres-sionsrechnung auf dem Computer IBM 370-155 lieferte folgende Werte:

Koordinaten des stationären Punktes:

$$x_1^0 = 0,0178 \quad x_2^0 = -0,0025 \quad x_3^0 = 0,0116 \quad x_4^0 = 0,0046$$

y-Wert am stationären Punkt:

$$y^0 = -0,32$$

Koeffizienten der kanonischen Form:

$$\lambda_1 = 4,86 \quad \lambda_2 = 3,87 \quad \lambda_3 = 0,19 \quad \lambda_4 = 0,05$$

Dazu ist zu bemerken:

a) Das analytische Modell (II) liefert einen stationären Punkt, welcher ein Mini-mum ist.

b) Der auf diese Weise vorausgesagte ideale Parametersatz liegt in der Nähe des Versuchsplans, ist aber nicht zugänglich, da φ_{21} nicht negativ werden kann.

c) Die quadratische Fläche ist ein elliptisches Paraboloid mit sehr ausgeprägter Exzentrizität. Die zwei Koeffizienten λ_3 und λ_4 sind von gleicher Grössenordnung bzw. kleiner als ihre auf Grund der Regression geschätzten Standard-Fehler. Somit ist ihr Vorzeichen unsicher.

Wir haben daher versucht, das positive Vorzeichen für λ_3 und λ_4 zu bestätigen, indem wir zusätzliche S-Bestimmungen für Punkte vornahmen, die auf der X_3 - und X_4 -Achse sowie auf der Winkelhalbierenden in der X_3, X_4 -Ebene lagen. Dabei zeigte sich, dass die S-Werte mit zunehmender Entfernung vom stationären Punkt grösser wurden.

Es ist also nicht zu erwarten, dass in der Umgebung unseres Versuchsplanes ein Satz von Quantenausbeuten existiert, der innerhalb unserer Messgenauigkeit zu einer besseren Übereinstimmung der berechneten mit der gemessenen Kinetik führt als der auf S. 926 bzw. auf S. 937 angegebene.

Ermittlung der Quantenausbeuten φ_{1k} . Zur Ermittlung der Quantenausbeuten φ_{1k} wurde die eingestrahlte Lichtmenge I_0 nach Hatchard & Parker [6] mit dem Kaliumferrioxalat-Aktinometer bestimmt. Da das Aktinometer auch die Strahlung bis zu

den Quecksilber-Linien 405/8 nm noch teilweise erfasst, wurde die aktinometrische Messung nach Zwischenschaltung eines Benzolfilters mit steiler Absorptionskante bei 280 nm wiederholt und die so bestimmte Lichtmenge für $\lambda > 280$ nm von der ohne Benzolfilter gemessenen in Abzug gebracht.

Ohne Filter: $8,47 \cdot 10^{-5}$ Einstein l^{-1} Minute $^{-1}$

Mit Filter: $0,45 \cdot 10^{-5}$ Einstein l^{-1} Minute $^{-1}$

I_0 : $8,02 \cdot 10^{-5}$ Einstein l^{-1} Minute $^{-1}$

Damit errechneten sich folgende Quantenausbeuten:

$$\varphi_{12} = 0,31(4) \quad \varphi_{23} = 0,18(8) \quad \varphi_{32} = 0,07(8)$$

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] L. Velluz, G. Amiard & B. Goffinet, Bull. Soc. chim. France 1955, 1341.
- [2] G. M. Sanders & E. Havinga, Rec. Trav. chim. Pays-Bas 83, 665 (1964).
- [3] M. P. Rappoldt & E. Havinga, *ibid.* 79, 369 (1960); M. P. Rappoldt, Rec. Trav. chim. Pays-Bas 79, 392, 1012 (1960).
- [4] J. C. Sternberg, H. S. Stillo & R. H. Schwendemann, Anal. Chem. 32, 84 (1960).
- [5] O. Kling, E. Nikolaishi & H. L. Schläfer, Ber. Bunsenges. physik. Chem. 67, 883 (1963).
- [6] C. G. Hatchard & C. A. Parker, Proc. Roy. Soc. A 235, 518 (1956).
- [7] N. Spendley, G. R. Hext & F. R. Himsworth, Technometrics 4, 441 (1962).
- [8] G. E. P. Box & K. B. Wilson, J. Roy. Stat. Soc. B 13, 1 (1951).
- [9] O. L. Davies, The Design and Analysis of Industrial Experiments, Oliver and Boyd, London 1956.

97. Photochemie in der Vitamin D-Reihe

II. Die Wellenlängenabhängigkeit der Photoisomerisationen des Präcalciferols

von K. Pfoertner

Aus der chemischen Forschungsabteilung der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG

(21. II. 72)

Summary. In addition to the known ring opening at shorter wavelengths it was found that ring opening in $\Delta^{5,7}$ -steroids occurs also at $\lambda > 300$ nm. Ring closure of the corresponding *secosteroids* in this region was confirmed. The existence of three rotational isomers with respect to the 5,6-bond is assumed to be responsible for the observed wavelength dependency of the photoisomerizations of previtamin D. In this case the 5,6-*s-trans* isomer should absorb uv light at shorter wavelengths yielding tachysterol whereas the two 5,6-rotational isomers with skew conformation should absorb at longer wavelengths yielding lumisterol and ergosterol, respectively.

Mit Hilfe der uns heute zur Verfügung stehenden Analysemethoden konnten wir zeigen [1], dass Licht der Wellenlänge 253,7 nm den Ring B der $\Delta^{5,7}$ -Steroide Ergosterin und Lumisterin zwar zu öffnen, aber ausgehend vom Provitamin D nicht zu schliessen vermag. Velluz *et al.* [2] hatten dagegen angenommen, dass sämtliche Photoreaktionen des aus den vier Komponenten Ergosterin, Lumisterin, Prävitamin