

**219. Beiträge zur Kenntnis des chromophoren Systems der Corrine:
XII [1]. Chemische Eigenschaften des Reaktionsproduktes aus
Dicyanocobyrinsäure-heptamethylester mit hypochloriger Säure**

von Ernst Michael Sauer, Klaus Broschinski, Ludger Ernst und Hans Herloff Inhoffen¹⁾

Institut für Organische Chemie der Technischen Universität Braunschweig, Schleinitzstrasse,
D-3300 Braunschweig

und Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH, Mascheroder Weg 1,
D-3300 Braunschweig-Stöckheim

Leopold Horner zum 70. Geburtstag in Freundschaft gewidmet

(3. XI. 80)

**Contributions to the Knowledge of the Corrin Chromophore: XII [1]. Chemical Behaviour of the
Reaction Product of Heptamethyl Dicyano-cobyrinate with Hypochlorous Acid**

Summary

Heptamethyl chloro-cyano-5*a*, 10, 15-trichloro-6*a*, 14-dihydroxy-5, 6, 14, 15-tetrahydrocobyrinate (**2**) in CH₃OH/H₂SO₄ yields with RuO₂ under 50 bar hydrogen and at 100° during 2 h a mixture of heptamethyl dicyanocobyrinate (**1**) with an epimeric ester. Using deuterium instead of hydrogen in this reaction, C(13) comes out as the probable epimerization center.

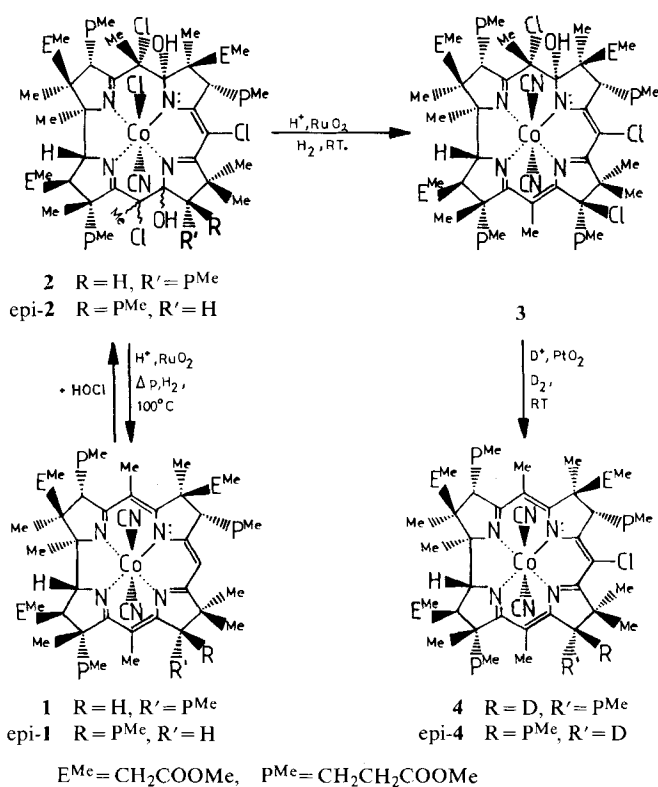
Wie bereits in Mitteilung X [2] berichtet, führt die Umsetzung von Dicyanocobyrinsäure-heptamethylester (**1**) – im folgenden kurz als Dicyano-cob(III)ester bezeichnet – im Zweiphasensystem Wasser/Tetrachlorkohlenstoff mit einem Überschuss an wässriger HOCl-Lösung zu einem HOCl-Additionsprodukt. Während es einerseits schliesslich gelang, die Gesamtstruktur einer neuen, aus dem HOCl-Addukt durch eine relativ milde Säure-Behandlung gewonnenen, kristallinen Folgeverbindung mittels Röntgenstrukturanalyse zu beweisen [1] und damit die Struktur des primären HOCl-Addukts weitgehend festzulegen, liessen sich andererseits aus dem letzteren durch chemische Reaktionen weitere, jedoch nicht kristalline Verbindungen herstellen, mit deren analytischen und spektroskopischen Ergebnissen die Struktur des HOCl-Addukts bis auf die Konfiguration an den C-Atomen 14 und 15 zusätzlich belegt wurden.

Mit dem Fernziel, die Konfiguration an C(14) und C(15) des HOCl-Addukts zu bestimmen, wurde vorerst ein neues Verfahren zu dessen Herstellung entwickelt. In der Literatur [3] wird für eine vereinfachte Gewinnung von hypochloriger Säure

¹⁾ Korrespondenz bitte an diesen Autor richten.

Chloramin T in saurer Lösung angegeben. Wird also Dicyano-cob(III)ester **1** in $\text{CH}_3\text{OH}/\text{HCl}/\text{H}_2\text{O}$ mit einem Überschuss (10 Mol-Äquiv.) an Chloramin T unter Rühren umgesetzt, so entfärbt sich die weinrote Lösung innerhalb von 30 Sek. nach gelb²⁾. Nach Aufarbeitung und Isolierung des hellgelben Produkts **2** lässt sich spektroskopisch eine grundsätzliche Übereinstimmung mit dem durch Umsetzung mit wässriger HOCl-Lösung erhaltenen HOCl-Addukt feststellen [2]. Die aus der Elementaranalyse von **2** erhaltenen Werte lassen aber eindeutig 4 Cl-Atome und nur 5 N-Atome erkennen, im Vergleich zum Reaktionsprodukt von **1** mit wässriger HOCl also 1 Cl-Atom mehr bzw. 1 N-Atom weniger. Hiermit verbunden ist die Abspaltung des β -CN-Liganden von **1** im sauren Medium. Die durch die Aufarbeitung bedingte Entfernung von überschüssigem HCl ermöglicht dann in $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ die Anlagerung eines Chlorid-Ions als β -Ligand durch das in der Reaktionslösung dissoziiert vorhandene NaCl. Insgesamt lässt sich also für die homogene Umsetzung von Dicyano-cob(III)ester **1** mit Chloramin T in saurem Medium zu **2** der gleiche Reaktionsmechanismus vorschlagen wie bei der heterogenen Umsetzung von **1** mit wässriger HOCl-Lösung im Zweiphasensystem [2].

Figure



²⁾ Die «normale» Farbänderung einer rotviolettten Dicyano-cob(III)ester-Lösung nach weinrot wird durch Abspaltung des β -CN-Liganden in saurem Medium hervorgerufen.

Weiterhin wurde in Mitteilung X [2] berichtet, dass die 2stündige Umsetzung des HOCl-Addukts in $\text{CH}_3\text{OH}/\text{HCl}$ mit RuO_2 als Katalysator unter H_2 bei 50 bar und 120° zu 38% Dicyano-cob(III)ester **1** sowie zu ca. 22% ein Epimeres von **1** ergibt. Es galt nun festzustellen, ob die Verwendung von HCl als Säure die von *Bonnett* [4] gefundene Epimerisierung an C(13) hervorruft.

Zu diesem Zweck wurde in einer Reihe von Vorversuchen das Verhalten von **1** gegenüber HCl unter Regenerierungsbedingungen (H_2/RuO_2) untersucht. Es konnte anhand der Aufspaltung des Signals für H–C(10) im ^1H -NMR.-Spektrum festgestellt werden, dass auch bei schrittweiser Herabsetzung der Reaktionstemperatur von 120 auf 100 , 80 und schliesslich 60° eine Epimerisierung erfolgte. Jedoch mit methanolischer *Schwefelsäure* anstelle von HCl sowie bei 100° unter sonst gleichen Bedingungen war nach 2 Std. am Dicyano-cob(III)ester **1** praktisch keine Epimerisierung festzustellen³).

Die so erarbeiteten Reaktionsbedingungen ermöglichten eine analytisch aussagefähige Regenerierung von **1** aus dem HOCl-Addukt **2**. Eine unter den neuen Bedingungen ($\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{SO}_4$, RuO_2 , H_2) durchgeführte Behandlung des HOCl-Addukts ergab nach der Aufarbeitung ebenfalls ein Epimerengemisch **1/epi-1**, was sowohl anhand des ^1H - als auch des ^{13}C -NMR.-Spektrums nachweisbar war. Eine fraktionierte Kristallisation des Gemisches führte zur Abtrennung des natürlich konfigurierten Dicyano-cob(III)esters **1**, dessen Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt und UV.-Spektrum die Identität mit authentischem Material erwiesen.

Dieser erste Hinweis auf ein bei der Regenerierung von **1** aus **2** intermediär entstehendes Zwischenprodukt sollte sich dadurch erhärten lassen, dass sich durch Variation der Versuchsbedingungen a) ein Endprodukt ergibt, dessen spektroskopische Untersuchung diese Annahme bestätigt, bzw. b) sich ein entsprechendes Zwischenprodukt abfangen und isolieren lässt.

Zur Klärung dieser Problematik bot sich die Verwendung deuterierter Reagenzien an. Mit Hilfe der ^{13}C -NMR.-Spektroskopie wäre aufgrund des Isotopeneffektes von Deuterium eine Substitution an einem der drei Chiralitätszentren C(3), C(8) oder C(13) von **2** grundsätzlich möglich sowie danach eindeutig erkennbar, da eines der drei Signale im Produkt nicht mehr auftreten würde.

In einem Vorversuch wurde **1** in $\text{CH}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{SO}_4$ gelöst, mit RuO_2 versetzt und unter $^2\text{H}_2$ bei 50 bar 2 Std. auf 100° erhitzt. Die anschliessend aufgenommenen ^1H - und ^{13}C -NMR.-Spektren zeigten eindeutig, dass **1** nur an C(10) quantitativ deuteriert war. An C(3), C(8) oder C(13) hatte keine Deuterierung stattgefunden. Daraufhin wurde das HOCl-Addukt **2** unter denselben Bedingungen umgesetzt. Nach Aufarbeitung und Trennung des Substanzgemisches wurde nach Aussage des ^{13}C -NMR.-Spektrums erneut ein deuteriertes Gemisch **1/epi-1** festgestellt. Das Fehlen des Signals für C(10) sowie eines Signals entweder für C(3), C(8) oder C(13) in diesem Spektrum zeigte den quantitativen Einbau von Deuterium an zwei C-Atomen an. Damit wurde die Annahme bestätigt, dass die Regenerierung von **1** aus **2** über ein Zwischenprodukt mit einem anderen Substituenten als Wasserstoff an einem weiteren C-Atom ablaufen muss.

³) Dies sind praktisch die Bedingungen der Herstellung von Dicyano-cob(III)ester aus Vitamin B₁₂ nach *Werthemann* [7]: statt 100° und 2 Std., 80° und 100 Std. Es wird angenommen, dass die erheblichen Mengen an konz. Schwefelsäure die CH_3OH -Lösung absolut wasserfrei halten.

Da diese Regenerierungsbedingungen relativ energisch waren, erschien es sinnvoll, **2** unter milderen Bedingungen zu behandeln und hierbei eventuell das gesuchte Zwischenprodukt zu isolieren. Das Addukt **2** wurde daher bei Raumtemperatur unter H_2 bei Normaldruck in CH_3OH/H_2SO_4 mit RuO_2 als Katalysator geschüttelt. Nach Trennung des Substanzgemisches wurde eine orange Substanz isoliert, die sich anhand der folgenden spektroskopischen Daten als Dicyano-5, 10, 13 (?) -trichloro-6-hydroxy-5, 6-dihydro-cob(III)ester **3** identifizieren liess.

Die stark hypsochromen Verschiebungen der UV.-Absorptionsbanden methanolischer Lösungen von **3** um 106 nm (α -Bande von 608 nach 502 nm), 98 nm (β -Bande von 570 nach 472 nm) und 47 nm (γ -Bande von 371 nach 324 nm) im Vergleich zu Dicyano-10-chlor-cob(III)ester [5] sprechen eindeutig für eine nur partielle Verkürzung der Konjugation des Corrin-Chromophors. Wird die Konjugation, wie z. B. bei der Addition von überschüssigem $HOCl$ an **1** weitergehend verkürzt, so sind im UV.-Spektrum bis 230 nm keine Absorption mit einem sichtbaren Schwerpunkt zu beobachten. Die allmählich ansteigende Kurve führt lediglich zur Endabsorption und beinhaltet den restlichen 9(10), 11(N(23))-Dien-Chromophor.

Im IR.-Spektrum ist neben den üblichen Signalen das Auftreten einer OH-Bande bei 3460 cm^{-1} festzustellen. Das 1H -NMR.-Spektrum zeigt ausser dem fehlenden Signal für das C(10)-Methinproton, entsprechend der Substitution des H- durch ein Cl-Atom, ein Signal bei 4,68 ppm, das sich einer OH-Gruppe zuordnen lässt.

Im ^{13}C -NMR.-Spektrum kann die Aufhebung der Doppelbindung zwischen C(5) und C(6) belegt werden. Die damit verbundene Addition eines Restes sowohl an C(5) als auch C(6) verursacht eine Verschiebung der ^{13}C -Resonanz für C(5) von 105,2 nach 76,0 ppm sowie des Signals für C(4) von ca. 175 nach 190,1 ppm und eine Verschiebung der ^{13}C -Resonanz für C(6) von ca. 163 nach 103,5 ppm. Da im 'off-resonance'- 1H -entkoppelten Spektrum sowohl das Signal für C(10) als auch für C(13) (?) die ursprüngliche Dublettstruktur verloren hat und weiterhin eine Resonanz aus dem Bereich von 54–57 nach 80,9 ppm verschoben ist, kann die Substitution der H-Atome an C(10) sowie an C(13) (?) durch Cl-Atome belegt werden. Die chemischen Verschiebungen von **3** sind jeweils mit denen von Dicyano-10-chlor-cob(III)ester [6] verglichen.

Die vollständige Umsetzung von **3** zu **4** gelang in CH_3OD/D_2SO_4 mit PtO_2 und Schütteln bei Raumtemperatur unter Deuterium bei Normaldruck. Nach Aufarbeitung und Trennung wurde eine Substanz isoliert, die sich anhand ihrer spektroskopischen Daten als ein Epimerengemisch **4/epi-4** des Dicyano-10-chlor-13-deuterio-cob(III)esters identifizieren liess.

Die bathochrome Verschiebung der UV.-Absorptionen methanolischer Lösungen von **4/epi-4** um 102 nm (α -Bande von 502 nach 604 nm), 95 nm (β -Bande von 472 nach 567 nm) und 47 nm (γ -Bande von 324 nach 371 nm) steht im Einklang mit bekannten Werten für Dicyano-10-chlor-cob(III)ester [5]. Das IR.-Spektrum zeigt neben den üblichen Signalen das Fehlen einer OH-Bande, entsprechend der Wiedereinführung der Doppelbindung zwischen C(5) und C(6).

Im 1H -NMR.-Spektrum fehlt die HO-Resonanz bei 4,68 ppm. Das fehlende Signal für H–C(10) spricht für die bestehende Substitution des H- durch ein Cl-Atom an C(10). Im 'off-resonance'-entkoppelten ^{13}C -NMR.-Spektrum ist für C(10) kein Dublett festzustellen. Die Lage des Signals von C(10) stimmt mit der von authentischem Dicyano-10-chlor-cob(III)ester [6] überein und sichert somit den Ersatz von H an C(10) durch Cl. Das Fehlen der Resonanz für C(13) entspricht dem infolge Ersatz des 1H - durch ein 2H -Atom verschwundenen Kern-Overhauser-Effekt. Die Lage der Signale für C(5) und C(6) ist identisch mit der von authentischem Dicyano-10-chlor-cob(III)ester [6] und sichert die Wiedereinführung der Doppelbindung zwischen C(5) und C(6) sowie die vorgeschlagene Struktur.

Durch Isolierung des Zwischenproduktes **3** konnte somit nachgewiesen werden, dass die Umwandlung von **2** zu Dicyano-cob(III)ester **1** über mindestens zwei Reaktionsschritte zu formulieren ist. Die Festlegung des Epimerisierungszentrums an C(13) wurde letztlich durch das «Endergebnis» der Röntgenstrukturanalyse von

W. Sheldrick, wiedergegeben in der Formel 3, bestätigt [1]. Es bleibt also dabei, dass auch im Falle unserer HOCl-Chemie das von *Bonnett* aufgefundene und bewiesene C-Atom 13 für die Umlagerung verantwortlich zu machen ist.

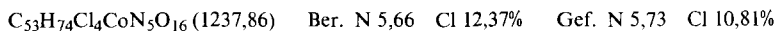
Wir danken der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* sowie dem *Fonds der Chemischen Industrie* für stete Förderung. Ferner sagen wir Dank der *Hoechst AG*, der *BASF AG* sowie der *Akademie der Wissenschaften und der Literatur*, Mainz.

Experimenteller Teil

Allgemeines. Die Smp. wurden mit einem *Kofler*-Heiztisch-Mikroskop (Fa. *C. Reichert*, Wien) bestimmt und sind nicht korrigiert. Für die präp. Dünnschichtchromatographie (präp. DC.) wurde Kieselgel 60 nach *Stahl* (Fa. *Merck*) verwendet (Platten: 20×100 cm, Schichtdicke 1,25 mm, max. Substanzbeladung: 250 mg). – Übliche Isolierung bedeutet: Eluieren der Substanz von Trägermaterial mit CH₃OH, Entfernen von CH₃OH i.V., Aufnehmen in CH₂Cl₂, Filtrieren durch Watte, Entfernen des CH₂Cl₂ i.V. und 60 Min. Trocknen der Substanz im Ölpumpenvakuum bei RT., sowie gegebenenfalls Nachcyanisierung mit KCN. – UV./VIS.-Spektren (SP 800 (B) Fa. *Leitz-Unicam*): Angaben der Maxima in nm (ϵ), *S*=Schulter; Lösungsmittel: *Uvasol* CH₃OH mit 0,01% KCN. – IR.-Spektren (Spektralphotometer IR 157, Fa. *Perkin-Elmer*): Angaben der Maxima in cm⁻¹, *s*=stark, *br.*=breit; Lösungsmittel: *Uvasol* CHCl₃. – ¹H-NMR.-Spektren (*Bruker* HFX-90, *Varian* XL-100-12): Angabe der chemischen Verschiebungen in ppm gegenüber Tetramethylsilan als internem Standard (=0 ppm), *s*=Singulett, *d*=Dublett, *t*=Triplett, *qa*=Quadruplett, *m*=Multiplett; Lösungsmittel: CDCl₃. – ¹³C-NMR.-Spektren (*Varian* XL-100-12): s. ¹H-NMR.; interner Standard: CDCl₃ (=77,05 ppm). Die Methoxycarbonyl-substituierten Seitenketten, beginnend bei C(2), sind mit *a* bis *g* gekennzeichnet; die Indices ' bzw. '' geben das erste bzw. zweite Methylen-C-Atom der jeweiligen Kette an. – Die Elementaranalysen führten die Analytischen Laboratorien, D-5270 Gummersbach 1-Elbach, sowie *I. Beetz*, D-8640 Kronach, aus.

Herstellung von Dicyano-cobyrinsäure-heptamethylester (1). Im wesentlichen wurde nach [7] verfahren. Aus 50 g Vitamin B₁₂ wurden 35 g **1** erhalten.

Herstellung von Chloro-cyano-5a,10,15ξ-trichlor-6a,14ξ-dihydroxy-5,6,14,15-tetrahydrocobyrinsäure-heptamethylester (2)⁴. Eine Lösung von 5 g (4,59·10⁻³ mol) **1** in 50 ml CH₃OH/HCl 9:1 (Gew.-%) und 50 ml dest. H₂O wurde mit 10,4 g (4,59·10⁻² mol) Chloramin T, gelöst in 25 ml CH₃OH, versetzt und 5 Min. bei RT. gerührt. Innerhalb der ersten Min. wurde die weinrote Lösung gelb. Das Lösungsmittel wurde i.V. weitgehend abgedampft, der wässrig-ölige Rückstand 3mal mit je 100 ml Äther gewaschen, und das in der wässrigen Phase verbliebene organische Material in ca. 100 ml CH₂Cl₂ aufgenommen. Nach Trocknen über ein doppeltes Faltenfilter wurde die CH₂Cl₂-Lösung i.V. auf ca. 20 ml eingeengt und das Reaktionsprodukt durch Eintropfen der Lösung in 1000 ml Äther unter kräftigem Rühren ausgefällt. Nach Abnutschen über einen *Büchner*-trichter, reichlichem Waschen mit Äther sowie nach 2 Std. Trocknen i.HV. bei RT. wurden 4,37 g (82,1%) **2** in hellbeiger, pulveriger Form isoliert, Smp. 123–125°. – UV.: <230. – IR.: 2940 *br.*, 2120_s, 1730_s, 1430_s, 1365_s, 1355_s. – ¹H-NMR.: wenig informativ.



Regenerierung von 1 aus 2. Eine Lösung von 2 g (1,62·10⁻³ mol) **2** (gemäß vorstehender Vorschrift erhalten) in 100 ml CH₃OH/H₂SO₄ 92:8 (Vol.-%) wurde mit 1 g RuO₂·xH₂O (60% Ru) versetzt und im Autoklaven 2 Std. unter 50 bar H₂ und unter Rühren auf 100° erhitzt. Dann wurde vom Katalysator abfiltriert und die Lösung bei 0° mit Na₂CO₃ (wasserfrei) neutralisiert. Nach Abnutschen der ausgefallenen Salze wurde das Lösungsmittel i.V. entfernt, der Rückstand in CH₂Cl₂ aufgenommen, 2mal mit dest. H₂O gewaschen, mit 2proz. wässriger KCN-Lösung geschüttelt, erneut 2mal mit dest. H₂O gewaschen, danach die organische Phase über ein doppeltes Faltenfilter getrocknet und schliesslich das Lösungsmittel i.V. abgedampft. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte durch präp. DC. (Benzol/Essigsäure-methylester 2:3). Die violette Zone mit dem grössten Rf-Wert wurde

⁴) Das Symbol ξ bezieht sich auf die Unkenntnis der Konfiguration an C(14) und C(15).

als Gemisch aus **1** und dessen 13-Epimeren **epi-1** identifiziert (^1H - und ^{13}C -NMR.) und wie üblich isoliert; 1,14 g (65,1%) **1/epi-1**. Durch fraktionierte Kristallisation aus Benzol/Hexan wurde der überwiegende Anteil an **1** abgetrennt und nochmals aus Benzol/Hexan umkristallisiert: 688 mg (37,5%) **1**, Smp. 181–182°: Misch-Smp. mit authentischem Material 181–182°. - UV.: 584 (10200), 545 (8700), 369 (28800), 314 (10700), 278 (11700). - Das ^1H - und ^{13}C -NMR. wurde mit dem Rückstand der Mutterlauge der fraktionierten Kristallisation gemessen. ^1H -NMR. (90 MHz): 1,22, 1,26, 1,35 (2 \times), 1,51 und 1,58 (5s, anguläre und geminale CH_3 -Gruppen); 2,19 und 2,24 (2s, $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(5)$ und $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(15)$); 2,00–3,17 (*m*, 7 Carbonsäureester-Seitenketten); 3,33–4,48 (*m*, 7 COOCH_3 sowie allylische H-Atome); 5,52 und 5,58 (2s, H–C(10), **1/epi-1**). - ^{13}C -NMR. (es sind nur solche Signale aufgeführt, in welchen sich **1** und **epi-1** deutlich unterscheiden [6]): 18,1 (*qa*, $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(17)$, **epi-1**); 18,4 (*qa*, $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(17)$, **1**); 21,5 (*qa*, $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(1)$, **epi-1**); 22,0 (*qa*, $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(1)$, **1**); 45,6 (s, C(2), **1**); 45,9 (s, C(2), **epi-1**); 46,6 (s, C(12), **epi-1**); 46,9 (s, C(12), **1**); 48,6 (s, C(7), **1**); 48,8 (s, C(7), **epi-1**); 53,6 (*d*, C(13), **1**); 55,8 (*d*, C(3), **epi-1**); 56,6 (*d*, C(3), **1**); 82,5 (s, C(1), **1**); 83,3 (s, C(1), **epi-1**); 91,2 (*d*, C(10), **1/epi-1**). Der Integration gemäss beträgt in der Mutterlauge das Verhältnis **epi-1/1** 3:1.

Regenerierung von deuteriertem 1 aus 2 unter Verwendung deuterierter Reagenzien. Eine Lösung von 200 mg ($1,62 \cdot 10^{-4}$ mol) **2** in 50 ml $\text{CH}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{SO}_4$ 92:8 (v/v), wurde mit 100 mg $\text{RuO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (60% RuO_2) versetzt und unter $^2\text{H}_2$ bei 50 bar im Autoklaven unter Rühren 3 Std. auf 100° erhitzt. Aufarbeitung wie in vorstehender Vorschrift (abweichend davon: Trocknen über Watte statt doppeltem Faltenfilter): 109 mg (62,2%) amorphes Gemisch aus normal konfigurierterem *Dicyano-10,13-dideuterio-cob(III)ester* und dessen 13-Epimeren, Smp. 138–140°. - UV.: 584 (10000), 545 (8500), 369 (29500), 315 (11200), 278 (11500). - ^1H -NMR. (90 MHz): Wie für nicht deuteriertes **1/epi-1** beschrieben, H–C(10) aber abwesend. - ^{13}C -NMR.: Wie für nicht deuteriertes **1/epi-1** beschrieben, Signale für C(10) und C(13) aber wegen des fehlenden Kern-Overhauser-Effektes abwesend.

Herstellung von Dicyano-5a,10,13 β -trichlor-6a-hydroxy-5,6-dihydrocobyrynsäure-heptamethylester (3)⁵. Eine Lösung von 1 g ($8,08 \cdot 10^{-4}$ mol) **2** in 40 ml $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{SO}_4$ 94:6 (v/v) wurde mit 300 mg $\text{RuO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (60% RuO_2) versetzt und 20 Min. bei RT. unter H_2 -Normaldruck geschüttelt. Es wurde vom Katalysator abfiltriert und wie vorstehend aufgearbeitet. Nach Trennung des Gemisches durch präp. DC. ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 98:2) wurden 265 mg (27,6%) **3** als orange Substanz wie üblich isoliert, Smp. 120–123°. - UV.: 502 (10500), 472 (9100), 356 (3500) S, 334 (3900) S, 324 (9100). - IR.: 3460 br., 2940s, 2100s, 1730s, 1585s, 1525s, 1430s. - ^1H -NMR. (90 MHz): 1,18, 1,25, 1,29, 1,33, 1,58 und 1,63 (6s, anguläre und geminale CH_3 -Gruppen); 2,18 und 2,35 (2s, $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(5)$ und $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(15)$); 2,00–3,44 (*m*, 7 Carbonsäureester-Seitenketten); 3,60, 3,62, 3,64, 3,66, 3,68, 3,71 und 3,73 (7s, 7 COOCH_3); 4,68 (s, HO–C(6)). - ^{13}C -NMR.: 14,3, 16,2, 18,2, 19,4, 19,8 und 20,2 (6 *qa*, $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(15)$, $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(2)$, $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(17)$, $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(1)$, $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(7)$, α - $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(12)$); 23,7 (*t*, C(*b'*)); 25,9 (*qa*, $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(5)$); 26,5 (*t*, C(*d'*)); 27,4 (*qa*, β - $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(12)$); 29,6, 30,2, 31,8, 32,5, 33,4 und 33,9 γ *t*, C(*f'*, *d''*, *g'*, *e''*, *f'*, *b''*)); 35,8 (*t*, C(*e'*)); 38,9 (*d*, C(18)); 40,7 (*t*, C(*a'*)); 43,0 (*t*, C(*e'*)); 47,2 (s, C(2)); 51,5 (s, C(7)); 51,4, 51,7 (4 \times), 52,0 und 52,3 (4 *qa*, 7 COOCH_3); 55,2 (s, C(12)); 55,8 (*d*, C(8)); 57,6 (*d*, C(3)); 60,0 (s, C(17)); 75,96 (s, C(5)); 76,02 (*d*, C(19)); 80,9 (s, C(13)); 85,6 (s, C(1)); 97,6 (s, C(10)); 100,2 (s, C(15)); 103,5 (s, C(6)); 130,6 und 131,6 (2s, 2 CN); 157,9, 164,8, 176,8 und 179,5 (4s, C(9), C(11), C(14), C(16)); 170,9, 171,2, 171,4, 172,2, 172,37, 172,43 und 172,8 (7s, 7 COOCH_3); 190,1 (s, C(4)).

Herstellung von Dicyano-10-chlor-13-deuterio-cobyrynsäure-heptamethylester (4/epi-4). Eine Lösung von 200 mg ($1,65 \cdot 10^{-4}$ mol) **3** in 30 ml $\text{CH}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{SO}_4$ 92:8 (v/v) wurde mit 100 mg PtO_2 versetzt und bei RT. unter H_2 bei Normaldruck 5 Min. geschüttelt. Nach dem Abfiltrieren des Katalysators wurde wie vorstehend aufgearbeitet und das Gemisch durch präp. DC. ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 98:2) aufgetrennt. Der Inhalt der blauen Hauptzone wurde wie üblich isoliert und lieferte 117 mg (62%) amorphes Gemisch von normal konfigurierterem **4** und dessen 13-Epimeren **epi-4**, Smp. 112–114°. - UV.: 604 (8500), 567 (6800), 371 (25100), 318 (7000), 306 (6600), 289 (8100). - IR.: 2960s, 2120s, 1730s, 1560s, 1530s, 1435s. - ^1H -NMR. (90 MHz): 1,26, 1,30, 1,33, 1,50, 1,63 und 1,69 (6s, anguläre und geminale CH_3 -Gruppen); 1,90–3,30 (*m*, 7 Carbonsäureester-Seitenketten); 3,35–4,20 (*m*, 7 COOCH_3 sowie allylische H). - ^{13}C -NMR.: 15,7, 16,0, 16,7, 18,5 und 19,0 (5 *qa*, $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(15)$, $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(5)$, $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(2)$, $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(17)$, $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(7)$); 21,6 (*qa*, $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(1)$, **epi-4**); 22,1 (*qa*, $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(1)$, **4**); 22,5 (*qa*, α - $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(12)$, **4**); 24,7 und 25,4 (2 \times) (2 *t*, C(*b'*, *d'*, *e'*)); 28,4 (*qa*, β - $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(12)$, **4**); 29,3, 30,2, 30,4, 31,7, 32,5 und 33,5 (6 *t*, C(*f''*, *e''*, *d''*, *g'*, *f'*, *b''*)); 39,0 (*d*, C(18)); 40,8 (*t*, C(*a'*)); 42,5 (*t*, C(*e'*));

⁵) Experimentell mitbearbeitet von F. Dehnad.

45,4 (s, C(2), 4); 45,7 (s, C(2), epi-4); 47,2 und 49,98 (2 s, C(7) und C(12), 4); 48,0 und 50,04 (2 s, C(7) und C(12), epi-4); 51,4 (2×) und 51,7 (4×) (2 qa, 6 COOCH₃, a-f); 52,5 (qa, COOCH₃, g); 54,2 und 56,6 (2 d, C(8), C(3)); 58,4 (s, C(17), 4); 58,9 (s, C(17), epi-4); 74,9 (d, C(19)); 82,5 (s, C(1), 4); 83,2 (s, C(1), epi-4); 101,0, 103,1 und 105,2 (3 s, C(10), C(15), C(5)); 162,9, 163,5, 170,6, 171,4, 171,5, 171,7, 172,5, 172,6 (2×), 173,3, 173,8, 175,1 und 175,2 (12 s, C(4), C(6), C(9), C(11), C(14), C(16) und 7 COOCH₃). Verhältnis 4/epi-4 laut ¹³C-NMR. 4:1.

Herstellung von Dicyano-cobyrinsäure-heptamethylester (1) im halbertechnischen Maßstab. In einem 4-l-Einhalskolben werden bei RT. in 2100 ml Methanol/konz. H₂SO₄ 20:1 (v/v) 50 g Vitamin B₁₂ gelöst. Die Lösung wird in einem Ölbad unter N₂ 96 Std. unter Rückfluss erhitzt (empfohlene Ölbadtemp. 80–85°). Dann wird die Lösung im Eisbad auf 0° abgekühlt und unter Rühren mit 219 g Na₂CO₃ (wasserfrei, 10% Überschuss, Vorsicht!!, schäumt!!) neutralisiert (Endprodukt der Neutralisation durch Farbumschlag der Lösung von orangerot nach weinrot zu erkennen). Durch Filtration über eine Nutsche werden die ausgefallenen anorganischen Salze entfernt. Das Filtrat wird i.V. bis fast zur Trockne eingengt und der Rückstand in ca. 1000 ml dest. H₂O aufgenommen. Es wird solange mit CH₂Cl₂ extrahiert, bis die organische Phase nur noch eine schwache Färbung zeigt, die wässrige Phase wird verworfen. Die vereinigten CH₂Cl₂-Phasen werden auf ca. 1000 ml eingengt und mit 265 ml dest. H₂O, dem 5,3 g KCN zugesetzt werden, im Scheidetrichter überschichtet und kräftig geschüttelt (Cyanisierung, Farbumschlag von weinrot nach rotviolett). Dann wird die organische Phase abgetrennt, 2mal mit je 100 ml dest. H₂O gewaschen und über ein doppeltes Faltenfilter trockenfiltriert. Das Lösungsmittel wird i.V. entfernt, der Rückstand in ca. 100 ml Laufmittel Benzol/Essigsäure-methylester 2:3 (v/v) aufgenommen und das Lösungsmittel erneut i.V. abgezogen. Das Substanzgemisch wird wieder in Laufmittel gelöst und auf eine Säule (Durchmesser: 9 cm, Füllhöhe: ca. 12 cm, Füllmaterial: Kieselgel 60 (Fa. Merck, Porengröße 0,063–0,02 mm) unter Zusatz von 2% feinerriebemem KCN) gegeben. Der Vorlauf (gelbe und orange Produkte) wird verworfen (Produktenkontrolle durch Chromatographie auf DC.-Fertigplatten, Kieselgel 60 (Merck) mit gleichem Laufmittel wie oben). Die nach vollständiger Eluierung erhaltenen Produktlösungen werden i.V. vom Laufmittel befreit und, in 1000 ml Benzol gelöst, in einem 4-l-Dreihalskolben vorgelegt. Unter Rühren werden ca. 600–700 ml Hexan zugetropft. Dann wird mit ca. 1 g kristallinem 1 angeimpft. Durch Zutropfen weiterer 2000 ml Hexan wird unter konstantem Rühren die Substanz zur Kristallisation gebracht: 34,7 g (86,75%) 1, Smp. 180–181° (über Nacht).

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] XI. Mitt.: E. M. Sauer, N. Bedorf & H. H. Inhoffen, Liebigs Ann. Chem. 1980, 1632.
- [2] X. Mitt.: E. M. Sauer, H. Laas, H. H. Inhoffen, Helv. Chim. Acta 63, 2320 (1980).
- [3] Organikum, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften Berlin 1971, S. 343.
- [4] R. Bonnett, J. M. Godfrey & V. B. Math, J. Chem. Soc. 1971, 3736.
- [5] II. Mitt.: A. Gossauer, K.-P. Heise, H. Laas & H. H. Inhoffen, Justus Liebigs Ann. Chem. 1976, 1150.
- [6] L. Ernst, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [7] L. Werthemann, Dissertation ETH Zürich 1968.

⁶⁾ Bei der Redaktion am 24.XII.80 eingegangen.