

206. Synthese von β -D-Glucopyranosiden einiger hydroxylierter Vitamin-D-Verbindungen

von Andor Fürst, Ludvik Labler und Werner Meier*

Pharmazeutische Forschungsabteilung F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, CH-4002 Basel

(12.VII.83)

Synthesis of β -D-Glucopyranosides of some Hydroxylated Vitamin-D Compounds

Summary

Cholesta-5,7-diene-1 α ,3 β -diol (**1a**) was glycosylated with ' α -acetobromoglucose' (**2**) as well as with ' α -acetobromocellobiose' (**4**) to yield the 3-(glycosides) **1b** and **1c**, respectively. Irradiation of these products with UV light followed by thermal isomerization led to the corresponding vitamin-D derivatives **3a** and **3c**. Direct glycosylation of vitamin D₃ (**3f**) and vitamin D₂ (**5a**) with **2** gave the derivatives **3g** and **5b**, respectively. With 25-hydroxycholecalciferol (= calcidiol; **6a**) as substrate, besides the 3-(glucoside) **6b** small amounts of the C(25)-analog **6c** were formed. The reaction of 1 α ,25-dihydroxycholecalciferol (= calcitriol; **6e**) with **2** furnished the 3- and the 1-(glucoside) (**6f** and **6g**, respectively) as the major components and the C(25)-analog **6h** in minor quantity. From the acetylated 3-(glucosides) **3a**, **3g**, **5b**, **6b**, and **6f**, the free glucopyranosides **3b**, **3h**, **5c**, **6d**, and **6i**, respectively, were prepared as well as the free glucopyranosyl-glucopyranoside **3d** from the acetylated disaccharide **3c**.

Der hormonal wirksame und biologisch bedeutendste Metabolit von Vitamin D₃ (= Cholecalciferol oder Calcil; **3f**)¹⁾, 1 α ,25-Dihydroxycholecalciferol (= Calcitriol; **6e**)¹⁾ [1a], tritt auch im Pflanzenreich auf [1b]. Die Verbindung wurde in glykosidischer Form in Extrakten aus *Solanum malacoxylon* (*S.m.*), auch *S. glaucophyllum* genannt, und *Cestrum diurnum* nachgewiesen [2–4] bzw. [5]. Diese in Argentinien bzw. Florida verbreiteten Solanaceen verursachen die für die Intoxikation mit Vitamin D₃ bzw. Calcitriol charakteristischen Calcinosen, welche bei Weidetieren gefürchtet sind. Auf die Gegenwart glykosidischer Konjugate wird aus der enzymatischen Spaltung mit Glykosidasegemischen, bei *S.m.* auch mit β -Glucosidase, der Wasserlöslichkeit und Farbreaktionen [6] geschlossen. Angaben über die chemische Natur der Zucker und ihre Bindungsstelle(n) am Aglykon fehlen bis jetzt. Im Rahmen biosynthetischer Untersuchungen konnte kürzlich gezeigt werden [7], dass *S.m.* auch wasserlösliche Bestandteile ent-

¹⁾ Strukturformel s. weiter unten.

hält, welche mit β -Glucosidase Cholecalciferol und 25-Hydroxycholecalciferol (= Calcidiol; **6a**)¹⁾ freisetzen.

Berichte über qualitative Unterschiede in der biologischen Wirkung des calcinogenen Prinzips von *S. m.* im Vergleich mit Calcitriol [8] [9] veranlassten uns, β -D-Glucopyranoside einiger hydroxylierter Vertreter der Vitamin-D-Reihe für die biologische Prüfung zu synthetisieren. Zu Beginn unserer Arbeiten lagen in der Literatur keine Angaben zur Herstellung von solchen Konjugaten vor. Erst vor kurzem ist in Gegenwart von Silbercarbonat ein Derivat von Vitamin D₂ (**5a**)¹⁾ mit 1-Brom-2,3,4-tri-*O*-acetyl-1-desoxy- α -D-glucopyranuronsäure-methylester erhalten worden [10]. Auch wir führten die Zuckerreste in Anlehnung an *Koenigs & Knorr* [11] mit peracetylierten α -Bromzuckern ein, wobei als Substrate sowohl ein Provitamin-D-Derivat (Steroid-5,7-dien) als auch Vitamin-D-Verbindungen ((*5Z,7E*)-9,10-Secosteroid-5,7,10(19)-triene) erfolgreich eingesetzt wurden.

Die Umsetzung von Cholesta-5,7-dien-1 α ,3 β -diol (**1a**) mit 2,5 Moläquiv. « α -Acetobromglucose» (**2**) und 2,75 Moläquiv. Silber-4-hydroxyvalerat in Äther nach einer von *Wulff et al.* [12] beschriebenen Variante der *Koenigs-Knorr*-Reaktion führte zum 3-(Tetraacetylglucosid) **1b**, welches in 6,3% Ausbeute neben ca. 65% **1a** isoliert wurde. Dabei ergaben sich keine Anzeichen für eine Reaktion an der axialen, sterisch gehinderten 1 α -Hydroxygruppe des Steroids²⁾. Das Produkt **1b** wurde in Dioxanlösung mit einer Quecksilberdampfampe bis zur ca. 40proz. Umsetzung bestrahlt und das dabei gebildete, hier nicht formulierte Präcalciol-Isomere durch Erwärmen der Bestrahlungslösung zum entsprechenden Calciol-Derivat **3a** isomerisiert [13], welches sich chromatographisch vom nicht umgesetzten **1b** abtrennen liess.

Die Herstellung eines Disaccharids wurde durch Reaktion von **1a** mit « α -Acetobromglucose» (**2**) versucht. Während mit der obigen Variante keine Glykosylierung des Steroids eintrat, konnte sie nach [14] in Gegenwart von Silber-trifluormethansulfonat und Tetramethylharnstoff in CH₂Cl₂ leicht erzielt werden. Dabei stellten auch wir partielle Entacetylierung fest [14]³⁾, weshalb eine Nachacetylierung nötig war⁴⁾. Das erwartete Heptaacetyl-cellobiosid **1c** konnte in 20% Ausbeute neben 28% des nicht voll charakterisierten, bei der Nachacetylierung aus **1a** gebildeten 3-*O*-Acetylderivats **1d**⁵⁾ isoliert werden. Die analog jener von **1b** ausgeführte Bestrahlung von **1c** und nachfolgende thermische Isomerisierung, welche hier nach der chromatographischen Abtrennung vom Ausgangsmaterial erfolgte, führten zum Calciol-Derivat **3c**.

Wie in einem Kleinversuch mit (1*S*)-1-Hydroxycholecalciferol (**3e**) und « α -Acetobromglucose» (**2**) festgestellt wurde, eignet sich das schonende Verfahren [12] auch vortrefflich zur *O*-Glucosylierung von hydroxylierten Vitamin-D-Verbindungen. In den nachfolgenden Beispielen, welche Substrate mit unterschiedlicher Anzahl Hydroxy-

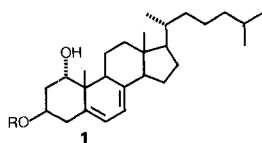
²⁾ Bei dieser wie auch allen weiteren Glucosylierungen nach [12] wurde keine Bildung von α -Anomeren festgestellt.

³⁾ Bei einem Vorversuch wurde im MS ein Hexaacetylcellobiosyl-Derivat von **1a** nachgewiesen und durch Dünnschichtchromatographie (DC) die Zunahme an **1c** bei der Acetylierung beobachtet.

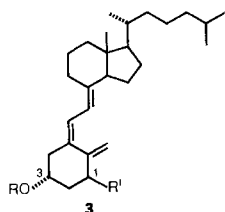
⁴⁾ Diese erfolgte unter Bedingungen, die nicht zur Veresterung der 1 α -Hydroxygruppe führen.

⁵⁾ Die Struktur von **1d** ergab sich aus der zu **1a** führenden alkalischen Verseifung⁶⁾ und der Verschiedenheit vom 1,3-Di-*O*-acetylderivat [15].

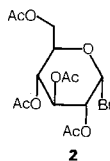
⁶⁾ Im *Exper. Teil* nicht beschrieben.



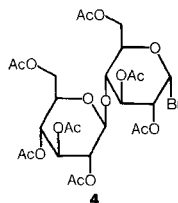
- 1**
a R = H
b R = (Ac)₄-β-D-Glucopyranosyl
c R = (Ac)₇-β-D-Cellobiosyl
d R = Ac



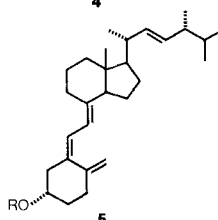
- 3**
a R = (Ac)₄-β-D-Glucopyranosyl, R' = OH
b R = β-D-Glucopyranosyl, R' = OH
c R = (Ac)₇-β-D-Cellobiosyl, R' = OH
d R = β-D-Cellobiosyl, R' = OH
e R = H, R' = OH
f R = R' = H; Vitamin D₃ (= Calcitriol)
g R = (Ac)₄-β-D-Glucopyranosyl, R' = H
h R = β-D-Glucopyranosyl, R' = H



2



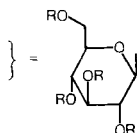
4



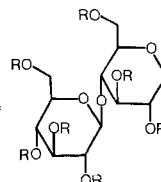
5

- a** R = H; Vitamin D₂
b R = (Ac)₄-β-D-Glucopyranosyl
c R = β-D-Glucopyranosyl

(Ac)₄-β-D-Glucopyranosyl (R = Ac)
 β-D-Glucopyranosyl (R = H)

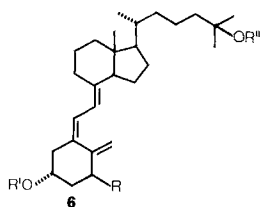


(Ac)₇-β-D-Cellobiosyl (R = Ac)
 β-D-Cellobiosyl (R = H)



gruppen einschliessen, wurden durchwegs die vorstehend für das 5,7-Dien **1a** angegebenen Molverhältnisse angewandt. Vitamin D₃ (**3f**) und Vitamin D₂ (**5a**) ergaben dabei die Tetraacetylglucoside **3g** bzw. **5b** in Ausbeuten von rund 20% neben jeweils *ca.* 50% Ausgangsvitamin. Die Reaktion mit Calcidiol (**6a**) lieferte das erwartete 3-(Glucosid) **6b** in ähnlicher Ausbeute und etwas überraschend auch wenig (1,5%) 25-(Glucosid) **6c**. Calcitriol (**6e**) schliesslich, welches in der allylischen Hydroxygruppe eine weitere reaktionsfähige Funktion aufweist, reagierte zu einem Gemisch, dessen Zusammensetzung wegen der schwierigen und verlustreichen Auftrennung nicht bestimmt werden konnte. Immerhin gelang es, sowohl die beiden augenscheinlich zur Hauptsache gebildeten Glucosylierungsprodukte **6f** und **6g** als auch das als Nebenprodukt aufgetretene 25-(Glucosid) **6h** in reiner Form zu isolieren⁷⁾. Die in analytischem

⁷⁾ Bei den Umsetzungen von **6a** und **6e** mit **2** lagen keine Anzeichen für das Auftreten diglucosylierter Produkte vor.



- a R = R' = R'' = H; Calcidiol
- b R = R'' = H, R' = (OAc)₄-β-D-Glucopyranosyl
- c R = R' = H, R'' = (OAc)₄-β-D-Glucopyranosyl
- d R = R'' = H, R' = β-D-Glucopyranosyl
- e R = OH, R' = R'' = H; Calcitriol
- f R = OH, R' = (OAc)₄-β-D-Glucopyranosyl, R'' = H
- g R = (Ac)₄-β-D-Glucopyranosyloxy, R' = R'' = H
- h R = OH, R' = H, R'' = (OAc)₄-β-D-Glucopyranosyl
- i R = OH, R' = β-D-Glucopyranosyl, R'' = H
- k R = β-D-Glucopyranosyloxy, R' = R'' = H

Maßstab ausgeführte Oxydation dieser drei Reaktionsprodukte mit Mangandioxid, welche erwartungsgemäss beim 1-(Glucosid) **6g** ausblieb, liess erste Rückschlüsse bezüglich ihrer Struktur zu.

Die im Zuckerrest peracetylierten 3-(Glykoside) **3a**, **3c**, **3g**, **5b**, **6b** und **6f** wurden in MeOH unter Katalyse mit NaOMe in die freien Glykopyranoside **3b**, **3d**, **3h**, **5c**, **6d** bzw. **6i** übergeführt. Diese Acetatspaltungen verliefen gemäss DC jeweils einheitlich und praktisch quantitativ.

Von den in unterschiedlichen Ausbeuten isolierten, harzigen Produkten bildeten **3b**, **3d**, **3h** und **5c** nach der Zugabe von wenig Lösungsmittel zwar feine Kristalle, die jedoch nicht umkristallisiert werden konnten. Die als Lyophilisate gewonnenen Produkte **6d** und **6i** waren amorph. Die Trocknung der entacetylierten Glykoside führte nicht in allen Fällen zu vollständiger Entfernung von Wasser und/oder Lösungsmittel.

Die Einwirkung von β-Glucosidase⁸⁾ auf das 1α,25-Dihydroxy-3-(glucosid) **6i** und das 1α-Hydroxy-3-(cellobiosid) **3d** in wässriger Suspension bei pH 4,8 während 24 Std. bei Raumtemperatur führte nur beim Monosaccharid **6i** zur Freisetzung des Aglykons, wie durch DC der Ätherextrakte festgestellt wurde⁶⁾.

Die den synthetisierten Produkten zugeordneten Strukturen sind durch spektrale Daten, im besonderen die mit Ausnahme von **3c** gut umzukristallisierenden acetylierten Glykoside durch UV-, ¹H-NMR-, meist auch IR- und Massenspektrum belegt.

Im ¹H-NMR-Spektrum zeigen sämtliche Zuckerderivate das die β-glykosidische Bindung beweisende *d* des axialen Protons an C(1'), und alle Vitamin-D-Verbindungen die für die Vinylprotonen des (5Z,7E)-5,7,10(19)-Triensystems charakteristischen Signale [16]. Im UV-Spektrum wird mit Ausnahme des 1-(Glucosids) **6g**⁹⁾ bei allen Vitamin-D-Derivaten das die D-Vitamine [17] und ihre hydroxylierten Abkömmlinge kennzeichnende Maximum bei 264–265 nm gefunden. Jenes von **6g** zeigt überraschenderweise zwei Maxima ähnlicher Extinktion bei 241 und 274 nm. Da die Maskierung der 1-OH-Gruppe ((1*S*)-Konfiguration) mit einem Acetylrest die übliche Lage des Maximums nicht verändert [18], muss die Ursache für die Abweichung im raumbeanspruchenden Zuckerrest gesucht werden¹⁰⁾.

Ein UV-Maximum bei 274 nm wurde auch mit einer weitgehend gereinigten, biologisch aktiven Fraktion aus *S. m.* gemessen [6]. Unser Befund legt nahe, dass es sich dabei ebenfalls um ein 1-*O*-Konjugat handeln könnte.

⁸⁾ β-Glucosidase aus Mandeln von *Fluka*.

⁹⁾ Die Einheitlichkeit dieses Produkts wurde zusätzlich durch ein in CDCl₃ mit dem Gerät der Fa. *Bruker* bei 100,6 MHz aufgenommenes ¹³C-NMR-Spektrum⁶⁾ belegt.

¹⁰⁾ Die bemerkenswert starke Beeinflussung der sterischen Anordnung des Trien-Chromophors durch *O*-Substitution der 1-Hydroxygruppe ((1*S*)-Konfiguration) mit einem sperrigen Rest liess sich an zwei weiteren Beispielen zeigen. So weist 1-Adamantancarbonsäure-[(5Z,7E,1*S*,3*R*)-3,25-dihydroxy-9,10-*seco*-5,7,10(19)-cholestatrien-1-yl]ester, über dessen Herstellung zu einem späteren Zeitpunkt berichtet werden soll, in EtOH Maxima bei 240 ($\epsilon = 11\,000$) und 270 nm ($\epsilon = 11\,300$) auf sowie das aus **6g** durch Desacetylierung gewonnene freie Glucosid **6k**⁶⁾ ein Maximum bei 269 nm ($\epsilon = 14\,000$) und eine flache Schulter bei 249 nm ($\epsilon = 12\,600$).

Über die biologische Prüfung der freien 3-(Glykoside) wird an anderer Stelle berichtet.

Für die Ausführung und Mitarbeit bei der Interpretation analytischer Arbeiten danken wir Frau Dr. M. Grosjean (UV, IR), den Herren Dr. W. Arnold (¹H- und ¹³C-NMR), Dr. A. Dirscherl (Mikroanalysen), W. Meister (MS) und Dr. K. Noack ($[\alpha]_D$ und $[\alpha]_{589}$). Herrn Dr. K.-H. Pfoertner danken wir für die Mithilfe bei den Bestrahlungen, den Herren H. Frei und H.-J. Krebs für geschickte und fleissige experimentelle Mitarbeit.

Experimenteller Teil

Allgemeines. Siehe [19] sowie folgende Ergänzungen: 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid (= « α -Acetobromglucose»; **2**) von Fluka vor Verwendung aus Et₂O umkristallisiert; Silber-4-hydroxyvalerat jeweils frisch zubereitet. Wo nichts anderes vermerkt, wurden Reaktionen bei RT. ausgeführt. Sämtliche Umsetzungen erfolgten unter Ar und Lichtausschluss. Bei Arbeiten mit Vitamin-D-Derivaten wurde weitgehend vor Licht geschützt und Vakuum durch Ar behoben. $[\alpha]_{589}$ -Werte wurden in Dioxan bei 20° mit einem in unserer Firma gebauten, photoelektrischen Polarimeter bestimmt. ¹H-NMR: für aufgespaltene Signale (*d*, *m*) angegebene chemische Verschiebungen beziehen sich, wo nichts anderes vermerkt, auf die geometrische Mitte. Die 400-MHz-Spektren wurden mit dem Gerät der Fa. Bruker aufgenommen.

1. ((5 Z, 7 E, 1 S, 3 R)-1-Hydroxy-9,10-seco-5,7,10(19)-cholestatrien-3-yl)- β -D-glucopyranosid (**3b**). 1.1. (1 α -Hydroxy-5,7-cholestadien-3 β -yl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosid (**1b**) aus Cholesta-5,7-dien-1 α ,3 β -diol (**1a**). Zu einer Suspension von 5 g (12,5 mmol) **1a** [15] in 190 ml Et₂O wurden 12,81 g (31,2 mmol) **2** und 7,74 g (34,3 mmol) Silber-4-hydroxyvalerat gefügt. Nach 4 Std. Rühren wurde die Suspension genutscht, das Filtrat i.V. eingedampft und dessen Rückstand in 50 ml EtOH gelöst. Aus der Lösung schied sich innert 2 Std. bei -20° 2,79 g (55%) kristallines **1a** ab. Weitere 0,23 g (4,6%) resultierten aus der eingeengten Mutterlauge. Deren Rückstand wurde zusammen mit dem aus einer gleichen Glucosylierung an 480 g Kieselgel chromatographiert. Eluierung mit Hexan/Et₂O 1:1 ergab zuerst 1,53 g Harz¹¹⁾, dann 1,86 g laut DC (Et₂O) im UV nur **1b** anzeigendes Material, gefolgt von weiteren 10,1 g Harz¹¹⁾. Anschliessende Eluierung mit Et₂O lieferte noch 10,1 g, welche aus EtOH 0,75 g (7,5%) **1a** ergaben. Die 1,86 g wurden aus Et₂O umkristallisiert: 1,14 g (6,3%) **1b**, Smp. 190,5–192,5°, $[\alpha]_D = -18^\circ$ (*c* = 0,5) und -9° (*c* = 0,5, MeOH). UV: 271 (11700), 282 (12750), 294 (7350). IR: 2876*m*, 2962*s*, 1763*s*, 1370*m*, 1231*s*, 1045*s*, 909*w*. ¹H-NMR (270 MHz): 0,62 (*s*, H₃C(18)); 0,856, 0,88 (2 *d*, *J* = 2, 2 H₃C-C(25)); 0,91 (*s*, H₃C(19)); 0,93 (*d*, *J* = 7, H₃C(21)); 2,0, 2,02, 2,05, 2,08 (4 *s*, 4 AcO); 3,67 (*m*, H-C(5')); 3,77 (*m*, H-C(1)); 4,04 (*m*, H-C(3)); 4,13, 4,26 (2 *dd*, *J*_{gem} = 13, *J*_{vic} = 2, 4,5, 2 H-C(6')); 4,61 (*d*, *J* = 8, H-C(1')); 4,97, 5,08, 5,2 (3 *dd*, *J* = 9, H-C(2'), H-C(3'), H-C(4')); 5,4, 5,7 (2 *m*, H-C(6), H-C(7)). MS: 730 (5, M⁺), 381 (22), 364 (100), 341 (19), 331 (12), 251 (26), 197 (31), 169 (68), 157 (44), 109 (43), 43 (> 100).

C₄₁H₆₂O₁₁ (730,94) Ber. C 67,37 H 8,55% Gef. C 67,48 H 8,52%

1.2. ((5 Z, 7 E, 1 S, 3 R)-1-Hydroxy-9,10-seco-5,7,10(19)-cholestatrien-3-yl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosid (**3a**) aus **1b**. Eine Lösung von 0,678 g (0,93 mmol) **1b** in 350 ml Dioxan wurde mit einer Hg-Hochdrucklampe (TQ 150 Z2, Hanau) bis zur laut DC (Et₂O) ca. 40proz. Umsetzung (*R_f* von **1b** 0,48) bestrahlt, dann i.V. auf ca. 50 ml eingeengt. Durch 30 Min. Erwärmen bei 80° wurde das gebildete Prävitamin-D-Derivat (*R_f* 0,30) zu **3a** (*R_f* 0,43) isomerisiert, dann i.V. eingedampft. Säulenchromatographie an 35 g Kieselgel/AgNO₃ 5:1¹²⁾ ergab mit Hexan/Et₂O 1:1 0,255 g Rohprodukt mit **3a**, anschliessend mit Et₂O 0,355 g (50,9%) laut DC einheitliches **1b**. Umkristallisation des Rohprodukts aus Et₂O/Hexan lieferte 0,121 g (37,5%¹³⁾ **3a**, Smp. 160,5–161,5°, $[\alpha]_D = 0^\circ$ (*c* = 0,1). UV: 264 (18350). IR: 3470*w*, 2950*m*, 2868*m*, 1758*s*, 1645*w*, 1435*w*, 1365*m*, 1229*s*, 1040*s*, 910*m*. ¹H-NMR (270 MHz): 0,53 (*s*, H₃C(18)); 0,853, 0,878 (2 *d*, *J* = 2, 2 H₃C-C(25)); 0,916 (*d*, *J* = 5,6, H₃C(21)); 3,68 (*m*, H-C(5')); 4,13, 4,25 (2 *dd*, *J*_{gem} = 12,5, *J*_{vic} = 2,5, 4, 2 H-C(6')); 4,38 (*m*, H-C(1)); 4,4 (*m*,

¹¹⁾ Laut DC im UV leer.

¹²⁾ Bereitet durch Vermischen von Kieselgel und 20proz. wässr. AgNO₃, dann Eindampfen i.V. bei 30° und 18 Std. Trocknen an der Luft unter Lichtausschluss.

¹³⁾ Zurückgewonnenes Ausgangsmaterial ist berücksichtigt.

H-C(3)); 4,59 (*d*, *J* = 7,5, H-C(1')); 4,95, 5,13, 5,2 (3 *dd*, *J* = 9, H-C(2'), H-C(3'), H-C(4')); 4,98, 5,31 (2 *s* (kleine Kopplungen unaufgelöst), 2 H-C(19)); 5,98, 6,3 (2 *d*, *J* = 11,5, H-C(6), H-C(7)). MS: 730 (2, *M*⁺), 712 (2), 399 (6), 381 (10), 364 (10), 331 (5), 251 (4), 169 (22), 109 (18), 43 (100).

C₄₁H₆₂O₁₁ (730,94) Ber. C 67,37 H 8,55% Gef. C 67,10 H 8,38%

1.3. **3a** aus (5*Z*, 7*E*, 1*S*, 3*R*)-9, 10-*Seco*-5, 7, 10 (19)-*cholestatrien*-1, 3-*diol* (**3e**). Eine Suspension aus 50 mg (0,125 mmol) **3e** [15], 110 mg (0,49 mmol) Silber-4-hydroxyvalerat, 70 mg (0,17 mmol) **2** und 2 ml Et₂O wurde 20 Std. gerührt, dann auf eine in Et₂O bereitete Säule aus 50 g Kieselgel gegeben. Eluierung mit Et₂O lieferte nach Abtrennung einer Mischfraktion 18 mg mit **3a**, welche aus Et₂O/Hexan umkristallisiert wurden: 6,5 mg, Smp. 159,5–160,5°, identisch mit dem Produkt aus 1.2.

1.4. **3b** aus **3a**. Zu 0,3 g (0,41 mmol) **3a** in 8 ml MeOH wurden 2 ml 0,1 M NaOMe in MeOH gefügt. Es wurde 10 Min. gerührt, die gebildete Lösung 90 Min. belassen, mit 5 ml H₂O versetzt, das MeOH i.V. entfernt, dann mit Et₂O extrahiert und wie üblich aufgearbeitet. Das laut DC (CH₂Cl₂/MeOH 5:1) einheitliche Rohprodukt (0,24 g) begann nach der Zugabe von 3 ml HCOOMe zu erstarren. Belassen während 18 Std. bei –20°, Verreiben und Nutschen ergaben 0,204 g (68%) **3b**, Smp. 118–128° (Zers.), [α]_D = 0° (*c* = 0,1). UV: 265 (16050). IR: 3430s, 2956s, 2872s, 1654w, 1468w, 1450m, 1377m, 1080s, 1052m, 897w. ¹H-NMR (270 MHz): 0,53 (*s*, H₃C(18)); 4,99, 5,31 (2 *m*, 2 H-C(19)); 6,02, 6,38 (2 *d* (zusätzliche Feinkopplung), *J* = 10, H-C(6), H-C(7)). Mikroanalyse: Bei den unter Gef. angegebenen Werten sind 1,48% H₂O aus der H₂O-Bestimmung berücksichtigt.

C₃₃H₅₄O₇ (562,79) Ber. C 70,43 H 9,67% Gef. C 69,69 H 9,45%

2. ((5*Z*, 7*E*, 1*S*, 3*R*)-1-Hydroxy-9, 10-*seco*-5, 7, 10 (19)-*cholestatrien*-3-yl)-4-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (**3d**). 2.1. (1α-Hydroxy-5, 7-*cholestadien*-3-β-yl)-4-*O*-(2, 3, 4, 6-*tetra-O*-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-2, 3, 6-*tri-O*-acetyl-β-D-glucopyranosid (**1c**) aus **1a**. Eine gerührte Suspension aus 8 g (20 mmol) **1a**, 5,14 g (20 mmol) Silber-trifluormethansulfonat, 2,9 g (25 mmol) Tetramethylharnstoff und 50 ml CH₂Cl₂ wurde innert 2,5 Std. mit 14 g (20 mmol) 4-*O*-(2, 3, 4, 6-Tetra-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-2, 3, 6-*tri-O*-acetyl-α-D-glucopyranosylbromid (= «α-Acetobromcellobiose»; **4**) [20] in 80 ml CH₂Cl₂ versetzt und noch 75 Min. gerührt. Die Mischung wurde über *Dicalite* genutscht, das Filtrat wie üblich aufgearbeitet und das Produkt 1 Std. in 170 ml Pyridin/Ac₂O 10:7 belassen. Die Lösung wurde in Eis/H₂O gegossen, vom festen Material abgesaugt und dieses in CH₂Cl₂-Lösung wie üblich aufgearbeitet. Säulenchromatographie an 100 g Kieselgel (AcOEt/CH₂Cl₂ 1:1) ergab vorerst 2,26 g (28%) (5, 7-*cholestadien*-1α, 3β-*diol*)-3-*acetat* (**1d**), gefolgt von 11 g, welche im DC¹⁴) (Hexan/AcOEt/CH₂Cl₂ 3:3:1, 3mal entwickelt) 3 Streifen mit *R*_f 0,32, 0,34 bzw. 0,38 anzeigten. Säulenchromatographie in Portionen von 1 g an jeweils 100 g Kieselgel (Hexan/AcOEt/CH₂Cl₂ 3:3:1, Säulen in CH₂Cl₂ bereitet) lieferte zuerst **1c** (*R*_f 0,38), total 4,31 g (20%), dann **1c** im Gemisch mit den beiden anderen Produkten¹⁵). Umkristallisation der 4,31 g aus CH₂Cl₂/Et₂O ergab 3,54 g, Smp. 243–246° (Zers.), [α]_D = –20,2° (*c* = 0,5). UV: 271 (11 250), 282 (12 000), 293 (7050). IR: 3445*m*, 2953*m*, 2871*m*, 1755*s*, 1639*w*, 1432*w*, 1368*m*, 1327*w*, 1232*s*, 1169*m*, 1130*w*, 1047*m*, 986*w*. ¹H-NMR (400 MHz): 0,618 (*s*, H₃C(18)); 0,859, 0,877 (2 *d*, *J* = 2, 2 H₃C-C(25)); 0,908 (*s*, H₃C(19)); 0,937 (*d*, *J* = 6,5, H₃C(21)); 1,982, 2,009, 2,014, 2,031, 2,042, 2,086, 2,123 (7 *s*, 7 AcO); 3,57 (*m*, H-C(3)); 3,65 (*m*, H-C(1)); 4,51, 4,57 (2 *d*, *J* = 7, 6, H-C(1'), H-C(1'')); 5,36, 5,7 (2 *m*, H-C(6), H-C(7)).

C₅₃H₇₈O₁₉ · H₂O (1037,20) Ber. C 61,37 H 7,77 H₂O 1,74% Gef. C 61,42 H 7,68 H₂O 1,65%

2.2. ((5*Z*, 7*E*, 1*S*, 3*R*)-1-Hydroxy-9, 10-*seco*-5, 7, 10 (19)-*cholestatrien*-3-yl)-4-*O*-(2, 3, 4, 6-*tetra-O*-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-2, 3, 6-*tri-O*-acetyl-β-D-glucopyranosid (**3c**) aus **1c**. In Analogie zu 1.2 wurden 1,5 g (1,44 mmol) **1c** in 350 ml Dioxan bestrahlt (DC¹⁴): CH₂Cl₂/AcOEt 1:1), dann i.V. eingedampft. Zufügen von 15 ml Et₂O, 45 Min. Rühren und Absaugen ergaben 0,708 g (47%) **1c** (*R*_f 0,45). Säulenchromatographie des Filtratrückstandes an 40 g Kieselgel (CH₂Cl₂/Et₂O 4:1 und 1:1) lieferte zuerst 0,125 g (8%) **1c**, dann 0,55 g **3c** (*R*_f 0,35) im Gemisch mit seinem Prävitamin-D-Isomerem (*R*_f 0,32). Dieses Gemisch wurde in 10 ml Dioxan 1 Std. bei 85° erwärmt. Eindampfen i.V. und Säulenchromatographie an 110 g Kieselgel (CH₂Cl₂/Et₂O 4:1) ergaben 0,308 (46,2%¹³) laut DC einheitliches **3c**, Smp. 158–160°, [α]_D = –25,4° (*c* = 1, MeOH). UV: 264 (17900). IR: 3455*m*, 2952*m*, 2871*w*, 1748*s*, 1642*w*, 1434*w*, 1368*m*, 1232*s*, 1170*w*, 1132*w*, 1045*s*, 936*w*. ¹H-NMR

¹⁴) Auf Merck-Fertigplatten *KG F254* mit Konzentrationszone.

¹⁵) In jenem mit *R*_f 0,34, welches im UV absorbiert, vermuten wir das α-Anomere von **1c**; jenes mit *R*_f 0,32 ist im UV leer.

(270 MHz): 0,53 (*s*, H₃C(18)); 0,862, 0,867 (2 *d*, *J* = 7, 2 H₃C–C(25)); 0,915 (*d*, *J* = 6, H₃C(21)); 1,71 (*d*, *J* = 4,5, HO–C(1)); 1,934, 1,985, 2,007, 2,012, 2,034, 2,087, 2,136 (7 *s*, 7 AcO); 3,56 (*m*, H–C(5′)); 3,66 (*m*, H–C(5′′)); 3,74 (*dd*, *J* = 10, H–C(4′)); 4,0 (*dd*, 1. Teil von *ABX*, *J*_{gem} ≈ 13, *J*_{vic} = 5); 4,04, 4,3 (2 *dd*, *J*_{gem} = 13, *J*_{vic} = 2, 4, H–C(6′), H–C(6′′)); *ca.* 4,15 (*m*, H–C(1′)); 4,5, 4,54 (2 *d*, *J* = 8, H–C(1′), H–C(1′′)); verdeckt 2. Teil von *ABX* H–C(6′) oder H–C(6′′)); 4,97, 5,31 (2 *br. s.*, 2 H–C(19)); 5,99, 6,29 (2 *d*, H–C(6), H–C(7)).

C₅₃H₇₈O₁₉ (1019,19) Ber. C 62,46 H 7,71% Gef. C 62,62 H 7,85%

2.3. **3d** aus **3c**. In Analogie zu *1.4* wurden 0,308 g (0,3 mmol) **3c** desacetyliert (Reaktionszeit 100 Min.). Eindampfen i. V., Versetzen mit BuOH, Waschen der BuOH-Phase mit H₂O, dann Eindampfen i. V. ergaben ein laut DC (AcOEt/MeOH/H₂O 35:7,5:7) einheitliches Harz, welches sich in Gegenwart von wenig Et₂O verfestigte. Verreiben und Absaugen lieferten 0,126 g (58%) **3d**, Smp. 196° (Zers., sintert bei 160°), [α]_D = +11° (*c* = 0,1, MeOH). UV: 265 (17150).

C₃₉H₆₄O₁₂ (724,93) Ber. C 64,62 H 8,90% Gef. C 64,59 H 9,03%

3. ((5*Z*, 7*E*, 3*S*)-9,10-*Seco*-5,7,10(19)-cholestatrien-3-yl)-β-D-glucopyranosid (**3h**). 3.1. ((5*Z*, 7*E*, 3*S*)-9,10-*Seco*-5,7,10(19)-cholestatrien-3-yl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosid (**3g**) aus (5*Z*, 7*E*, 3*S*)-9,10-*Seco*-5,7,10(19)-cholestatrien-3-ol (= Vitamin D₃; **3f**). In Analogie zu *1.1* wurden 5 g (13 mmol) **3f**¹⁶ während 2,5 Std. glucosyliert, dann abgesaugt. Säulenchromatographie des Filtratrückstands an 200 g Kieselgel (Hexan/Et₂O 9:1 und 4:1) lieferte zuerst 2,6 g (52%) **3f**, dann 0,3 g **3f/3g** und letztlich 2,2 g (21,5%) kristallines, laut DC (CH₂Cl₂/AcOEt 3:1) einheitliches **3g**. Anal. Probe aus Et₂O/Hexan, Smp. 139–140°, [α]_D = +18,5° (*c* = 0,4). UV: 265 (19100). IR: 2956*s*, 2876*m*, 1760*s*, 1646*w*, 1441*w*, 1366*m*, 1231*s*, 1041*s*, 910*w*. ¹H-NMR (270 MHz): 0,536 (*s*, H₃C(18)); 0,853, 0,877 (2 *d*, *J* = 1,3, 2 H₃C–C(25)); 0,917 (*d*, *J* = 6,2, H₃C(21)); 1,963, 2,006, 2,029, 2,088 (4 *s*, 4 AcO); 3,67 (*m*, H–C(5′)); 4,9 (*m*, H–C(3)); 4,12, 4,26 (2 *dd*, *J*_{gem} = 12, *J*_{vic} = 2,5, 4,5, 2 H–C(6′)); 4,62 (*d*, *J* = 7,5, H–C(1′)); 4,8, 5,02 (2 *d* (zusätzliche Feinkopplung), *J* = 2, 2 H–C(19)); 4,6, 5,07, 5,22 (3 *dd*, *J* = 10, H–C(2′), H–C(3′), H–C(4′)); 6,0, 6,19 (2 *d*, *J* = 10,5, H–C(6), H–C(7)). MS: 714 (10, *M*⁺), 366 (40), 351 (26), 331 (15), 325 (11), 253 (12), 169 (84), 145 (22), 109 (48), 43 (100).

C₄₁H₆₂O₁₀ (714,94) Ber. C 68,88 H 8,74% Gef. C 68,62 H 8,81%

3.2. **3h** aus **3g**. In Analogie zu *1.4* wurden 0,3 g (0,41 mmol) **3g** während 100 Min. desacetyliert. Dann wurde bei 0° innert 15 Min. mit 6 ml H₂O versetzt und zentrifugiert. Lösen der festen Anteile in Et₂O und übliche Aufarbeitung ergaben 0,202 g laut DC (AcOEt) einheitliches Harz, welches nach Versetzen mit 2 ml HCOOMe zu erstarren begann. Belassen für 6 Std., dann 1,5 Std. bei –20°, Verreiben und Absaugen lieferten 0,148 g (64%) **3h**, Smp. 125–127°, [α]_D = 0° (*c* = 0,2). UV: 265 (18100). IR: 3426*s*, 2954*s*, 2874*m*, 1645*w*, 1467*w*, 1441*w*, 1377*w*, 1079*s*, 1026*m*, 894*w*. ¹H-NMR (270 MHz): 0,525 (*s*, H₃C(18)); 0,854, 0,878 (2 *d*, *J* = 1, 2 H₃C–C(25)); 0,912 (*d*, *J* = 5,6, H₃C(21)); 4,8, 5,02 (2 *s* (kleine Kopplungen unaufgelöst), 2 H–C(19)); 5,98, 6,23 (2 *d*, *J* = 10,5, H–C(6), H–C(7)). Mikroanalyse: Bei den unter Gef. angegebenen Werten sind 1,45% H₂O aus der H₂O-Bestimmung berücksichtigt.

C₃₃H₅₄O₆ (546,79) Ber. C 72,49 H 9,95% Gef. C 72,07 H 9,97%

4. ((5*Z*, 7*E*, 22*E*, 3*S*)-9,10-*Seco*-5,7,10(19),22-ergostatetraen-3-yl)-β-D-glucopyranosid (**5c**). 4.1. ((5*Z*, 7*E*, 22*E*, 3*S*)-9,10-*Seco*-5,7,10(19),22-ergostatetraen-3-yl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosid (**5b**) aus (5*Z*, 7*E*, 22*E*, 3*S*)-9,10-*Seco*-5,7,10(19),22-ergostatetraen-3-ol (= Vitamin D₂; **5a**). In Analogie zu *1.1* wurden 5 g (12,6 mmol) **5a**¹⁶ innert 3 Std. glucosyliert. Dann wurde abgesaugt und der Filtratrückstand an 200 g Kieselgel chromatographiert. Eluierung mit Hexan/Et₂O 9:1, 4:1 und 7:3 lieferte 2,7 g (54%) **5a**, dann 2 g **5a/5b** und letztlich 1,6 g (17,4%) laut DC (CH₂Cl₂/AcOEt 3:1) einheitliches **5b**. Umkristallisation der 1,6 g aus Et₂O/Hexan führte zu 1,1 g, Smp. 155–156°, [α]_D = +16,4° (*c* = 0,25). UV: 265 (18450). IR: 2962*m*, 2876*w*, 1759*s*, 1647*w*, 1480*w*, 1378*m*, 1231*s*, 1041*s*, 910*m*. ¹H-NMR (270 MHz): 0,561 (*s*, H₃C(18)); 0,814, 0,839, 0,913, 1,015 (4 *d*, *J* = 4, 4,7, 6,5, 2 H₃C–C(25), H₃C–C(24), H₃C(21)); 1,92, 2,006, 2,029, 2,088 (4 *s*, 4 AcO); 3,69 (*m*, H–C(5′)); 3,92 (*m*, H–C(3)); 4,12, 4,26 (2 *dd*, *J*_{gem} = 12, *J*_{vic} = 2,5, 4, 2 H–C(6′)); 4,62 (*d*, *J* = 8, H–C(1′)); 4,8, 5,03 (2 *d*, *J* = 2, 2 H–C(19)); 4,96, 5,07, 5,22 (3 *dd*, *J* = 9, H–C(2′), H–C(3′), H–C(4′)); *ca.* 5,2 (*m*, H–C(22), H–C(23)); 6,02, 6,2 (2 *d*, *J* = 10, H–C(6), H–C(7)). MS: 726 (8, *M*⁺), 378 (26), 364 (18), 253 (28), 169 (68), 109 (35), 69 (45), 43 (100).

C₄₂H₆₂O₁₀ (726,88) Ber. C 69,39 H 8,60% Gef. C 69,55 H 8,73%

¹⁶) Aus unserer Firma bezogen.

4.2. **5c** aus **5b**. In Analogie zu 3.2 desacetyliert (Reaktionszeit 2,5 Std.) und aufgearbeitet: 0,3 g (0,42 mmol) **5b**, gemäss DC (CH₂Cl₂/MeOH 4:1) einheitliches Harz. Behandlung in Analogie zu 3.2 lieferte 0,197 g (85%) **5c**, Smp. 154–156° (Zers.), [α]_D = –4° (c = 0,5). UV: 265 (18450). IR: 3118s, 2960s, 2872m, 1635w, 1459m, 1372m, 1080s, 1025s, 896w. ¹H-NMR (270 MHz): 0,536 (s, H₃C(18)); 0,814, 0,839, 0,912, 1,01 (4 d, J = 4, 4,7, 6,5, 2 H₃C–C(25), H₃C–C(24), H₃C(21)); 4,42 (d, J = 7, H–C(1')); 4,8, 5,01 (2 s (kleine Kopplungen un aufgelöst), 2 H–C(19)); 5,1–5,25 (m, H–C(22), H–C(23)); 6,0, 6,2 (2 d, J = 10, H–C(6), H–C(7)).

C₃₄H₅₄O₆ (558,80) Ber. C 73,08 H 9,74% Gef. C 72,70 H 9,84%

5. ((5 Z, 7 E, 3 S)-25-Hydroxy-9, 10-seco-5, 7, 10 (19)-cholestatrien-3-yl)-β-D-glucopyranosid (**6d**). 5.1. ((5 Z, 7 E, 3 S)-25-Hydroxy-9, 10-seco-5, 7, 10 (19)-cholestatrien-3-yl)-2, 3, 4, 6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosid (**6b**) aus ((5 Z, 7 E, 3 S)-9, 10-Seco-5, 7, 10 (19)-cholestatrien-3, 25-diol (**6a**)). Eine Lösung von 0,628 g (1,5 mmol) Monohydrat von **6a**¹⁷⁾ in 5 ml MeOH wurde zusammen mit 20 ml Toluol i.V. stark eingeeengt, restliches H₂O durch 3maliges Eindampfen mit jeweils 20 ml Toluol i.V. entfernt, dann der Rückstand in Analogie zu 1.1 glucosyliert (Reaktionszeit 60 Min.). Nach Absaugen wurde das Filtrat mit 130 ml Et₂O verdünnt, die Lösung durch 2stdg. kräftiges Rühren zusammen mit 100 ml ges. NaHCO₃ von H₂O-löslichen Anteilen befreit und dann wie üblich aufgearbeitet. Säulenchromatographie an 80 g Kieselgel (Hexan/Et₂O 3:1, 2:1 und 1:1) ergab vorerst 0,41 g Rückstand mit **6a** (DC: Et₂O), dann 0,27 g mit **6b**, gefolgt von 0,305 g **6b/6c**. Aus dem letzteren liessen sich durch 3malige Säulenchromatographie, jeweils an 300 g Kieselgel mit Et₂O, weitere 0,136 g mit **6b**¹⁸⁾ und 78 mg mit **6c** abtrennen. Umkristallisation obiger 0,27 g aus Et₂O/Hexan lieferte 0,145 g (13%) **6b**, Smp. 137,5–138°, [α]₅₈₉ = +39° (c = 0,06). UV: 265 (17800). IR: 3416m, 2942m, 2871m, 1754s, 1634w, 1436w, 1366m, 1227s, 1038s, 908w, 891w. ¹H-NMR (400 MHz): 0,538 (s, H₃C(18)); 0,909 (d, J = 6, H₃C(21)); 1,21 (s, 2 H₃C–C(25)); 1,96, 2,0, 2,023, 2,082 (4 s, 4 AcO); 3,69 (m, H–C(5')); 3,91 (m, H–C(3)); 4,127, 4,26 (2 dd, J_{gem} = 12, J_{vic} = 2,5, 5, 2 H–C(6')); 4,621 (d, J = 7,5, H–C(1')); 4,807, 5,04 (2 d (zusätzliche Feinkopplung), J = 2, 2 H–C(19)); 4,96, 5,07, 5,19 (3 dd, J = 10, H–C(2'), H–C(3'), H–C(4')); 6,01, 6,18 (2 d, J = 12, H–C(6), H–C(7)). ¹H-NMR ((D₆)DMSO, 270 MHz): 4,04 (s, HO–C(25)). MS: 730 (35, M⁺), 382 (51), 367 (24), 331 (37), 169 (100), 109 (47), 43 (80).

C₄₁H₆₂O₁₁ (730,94) Ber. C 67,37 H 8,55% Gef. C 67,49 H 8,88%

Umkristallisation der obigen 78 mg aus Et₂O/Hexan ergab 16 mg (1,5%) ((5 Z, 7 E, 3 S)-3-Hydroxy-9, 10-seco-5, 7, 10 (19)-cholestatrien-25-yl)-2, 3, 4, 6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosid (**6c**), Smp. 117,5–118,5°, [α]₅₈₉ = +35° (c = 0,062). UV: 264 (14400). ¹H-NMR ((D₆)DMSO, 270 MHz): 0,481 (s, H₃C(18)); 0,882 (d, J = 4, H₃C(21)); 1,112, 1,123 (2 s, 2 H₃C–C(25)); 1,932, 1,972, 1,981, 1,99 (4 s, 4 AcO); 3,64 (m, H–C(5')); 3,88–4,2 (m, 2 H–C(6'), H–C(3)); 4,64–4,7 (m, 1 H–C(19), H–C(3'), HO–C(3)); 4,82 (d, J = 10, H–C(2')); 4,97 (d, J = 7,5, H–C(1')); 5,02 (d, J = 2, 1 H–C(19)); 5,27 (d, J = 10, H–C(4')); 5,95, 6,18 (2 d (zusätzliche Feinkopplung), J = 11, H–C(6), H–C(7)). MS: 730 (12, M⁺), 712 (5), 382 (29), 331 (18), 271 (15), 169 (43), 109 (24), 43 (100).

C₄₁H₆₂O₁₁ (730,94) Ber. C 67,37 H 8,55% Gef. C 66,77 H 8,54%

5.2. **6d** aus **6b**. In Analogie zu 1.4 wurden 100 mg (0,14 mmol) **6b** desacetyliert (Reaktionszeit 90 Min.), dann i.V. cingedampft und restliches MeOH mittels Dioxan i.V. entfernt. Säulenchromatographie des gemäss DC (CH₂Cl₂/MeOH 9:1) einheitlichen Rohprodukts an 10 g Kieselgel (Dioxan) und Lyophilisierung mit 5 ml Dioxan bei 0,01 mbar ergaben 71 mg (92%) **6d** als weisse Flocken, [α]₅₈₉ = +55° (c = 0,032). UV: 265 (17150). IR: 3410m, 2942s, 2871m, 1631w, 1440w, 1376w, 1077m, 1027m, 892w. ¹H-NMR (400 MHz): 0,537 (s, H₃C(18)); 0,935 (d, J = 6, 4, H₃C(21)); 1,213 (s, 2 H₃C–C(25)); 4,42 (d, J = 8, H–C(1')); 4,82, 5,05 (d, br. s, J = 2, 2 H–C(19)); 6,02, 6,22 (2 d, J = 11, H–C(6), H–C(7)). MS: 562 (2, M⁺), 382 (56), 367 (42), 349 (24), 253 (29), 159 (67), 145 (70), 118 (96), 95 (67), 81 (84), 69 (100), 55 (89), 41 (74). Gemäss ¹H-NMR (Signal bei 4,7 ppm) enthielt das Produkt ca. 2% Dioxan, laut Titration nach Karl Fischer 2,43% H₂O. In den unter Gef. angegebenen Daten sind H₂O und 0,1 mol Dioxan berücksichtigt.

C₃₃H₅₄O₇ (562,79) Ber. C 70,43 H 9,67% Gef. C 70,18 H 9,66%

¹⁷⁾ Die Verbindung stand uns aus früheren Arbeiten zur Verfügung. Ihre Herstellung erfolgte ausgehend von Cholest-5-en-3β,25-diol in ganz ähnlicher Weise wie in [21].

¹⁸⁾ Diese entsprachen laut DC qualitativ den 0,27 g.

6. ((5 Z, 7 E, 1 S, 3 R)-1, 25-Dihydroxy-9, 10-seco-5, 7, 10 (19)-cholestatrien-3-yl)- β -D-glucopyranosid (**6i**).
 6.1. ((5 Z, 7 E, 1 S, 3 R)-1, 25-Dihydroxy-9, 10-seco-5, 7, 10 (19)-cholestatrien-3-yl)-2, 3, 4, 6-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosid (**6f**) aus (5 Z, 7 E, 1 S, 3 R)-Seco-5, 7, 10 (19)-cholestatrien-1, 3, 25-triol (**6e**). Eine Suspension aus 0,625 g (1,5 mmol) **6e**¹⁹), 30 ml Et₂O, 1,542 g (3,75 mmol) **2** und 0,928 g (4,12 mmol) Silber-4-hydroxyvalerat wurde 22 Std. bei 3° gerührt, dann in Analogie zu 5.1 aufgearbeitet. Säulenchromatographie an 70 g Kieselgel (Et₂O/Hexan 1:1, 2:1 und 3:1, dann AcOEt) ergab in den Et₂O/Hexan-Eluaten vorerst 0,36 g Harz (laut DC (Et₂O) im UV leer), dann 0,192 g Rückstand mit hauptsächlich **6f** und im AcOEt-Eluat 0,9 g Harz. Die 0,192 g lieferten aus CH₂Cl₂/Et₂O 58 mg **6f**, welche nach Umkristallisation bei 153–153,5° schmolzen, $[\alpha]_{589} = 0^\circ$ ($c = 0,051$). UV: 264 (18250). IR: 3450m, 2948m, 2871m, 1756s, 1631w, 1437w, 1367m, 1227s, 1042s, 910w. ¹H-NMR (400 MHz): 0,536 (s, H₃C(18)); 0,935 (d, $J = 6,5$, H₃C(21)); 1,215 (s, 2 H₃C-C(25)); 1,94, 1,997, 2,024, 2,092 (4 s, 4 AcO); 3,67 (m, H-C(5')); 4,14, 4,26 (2 dd, $J_{gem} = 12$, $J_{vic} = 2,5, 5$, 2 H-C(6')); 4,197 (m, H-C(3)); 4,39 (m, H-C(1)); 4,6 (d, $J = 8$, H-C(1')); 4,95, 5,06, 5,2 (3 dd, $J = 10$, H-C(2'), H-C(3'), H-C(4')); 4,98, 5,32 (2 s, (zusätzliche Feinkopplung), 2 H-C(19)); 5,99, 6,31 (2 d, $J = 11,5$, H-C(6), H-C(7)). MS: 746 (2, M⁺), 728 (22), 710 (6), 380 (29), 331 (12), 251 (14), 169 (31), 109 (22), 43 (100).

C₄₁H₆₂O₁₂ (746,94) Ber. C 65,93 H 8,37% Gef. C 65,94 H 8,60%

Obige 0,9 g Harz (im DC (AcOEt/CH₂Cl₂ 3:1) im wesentlichen 4 Flecke mit R_f 0,42 (für **6f**), 0,35, 0,21 und 0,17 (für **6e**)) wurden zusammen mit dem nach Abtrennung der 58 mg **6f** verbliebenem Material an 200 g Kieselgel mit Et₂O chromatographiert²⁰) und dabei der Reihe nach abgetrennt: 0,2 g (R_f 0,42), 0,38 g (R_f 0,42 und 0,35), 0,22 g (alle 4 Flecke) und letztlich 0,14 g (R_f 0,21 und 0,17). Säulenchromatographie der 0,38 g an 38 g Kieselgel (CH₂Cl₂/MeOH 99:1)²⁰) ergab in den letzten Eluaten 0,124 g laut DC einheitliches (R_f 0,35) ((5 Z, 7 E, 1 S, 3 R)-3, 25-Dihydroxy-9, 10-seco-5, 7, 10 (19)-cholestatrien-1-yl)-2, 3, 4, 6-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosid (**6g**), welche bei der Lyophilisierung mit 5 ml Dioxan bei 0,01 mbar weisse Flocken bildeten, $[\alpha]_{589} = +68^\circ$ ($c = 0,028$). UV: 241 (13250), 274 (13000); min. 257 (11000). IR: 3425m, 2944m, 2871m, 1758s, 1642w, 1433w, 1375m, 1226s, 1040s, 909w. ¹H-NMR (270 MHz): 0,581 (s, H₃C(18)); 0,955 (d, $J = 6$, H₃C(21)); 1,22 (s, 2 H₃C-C(25)); 1,955, 1,979, 2,027, 2,108 (4 s, 4 AcO); 3,67 (m, H-C(5')); 4,03 (m, H-C(3)); 4,17, 4,26 (2 dd, $J_{gem} = 12$, $J_{vic} = 2,5, 5$, 2 H-C(6')); ca. 4,46 (m, H-C(1)); 4,49 (d, $J = 7,5$, H-C(1')); 5,17, 5,26 (2 d, $J = 2,2$, 2 H-C(19)); 5,96, 6,36 (2 d, $J = 11$, H-C(6), H-C(7)). ¹H-NMR ((D₆)DMSO, 270 MHz): 4,044 (s, HO-C(25)); 4,76 (d, $J = 4,5$, HO-C(3)). MS: 746 (2, M⁺), 728 (2), 398 (18), 380 (19), 331 (12), 251 (19), 169 (44), 109 (26), 43 (100).

C₄₁H₆₂O₁₂ (746,94) Ber. C 65,93 H 8,37% Gef. C 66,06 H 8,77%

Säulenchromatographie der obigen 0,14 g (R_f 0,21 und 0,17) an 14 g Kieselgel (CH₂Cl₂/MeOH 19:1) führte zu 44 mg mit R_f 0,21. Kristallisation aus CH₂Cl₂/Et₂O lieferte 18 mg ((5 Z, 7 E, 1 S, 3 R)-1, 3-Dihydroxy-9, 10-seco-5, 7, 10 (19)-cholestatrien-25-yl)-2, 3, 4, 6-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosid (**6h**), Smp. 103–104°, $[\alpha]_{589} = +8^\circ$ ($c = 0,034$). UV: 265 (16850). ¹H-NMR ((D₆)DMSO, 270 MHz): 0,501 (s, H₃C(18)); 0,892 (d, $J = 5,6$, H₃C(21)); 1,113, 1,125 (2 s, 2 H₃C-C(25)); 1,933, 1,974, 1,982, 1,991 (4 s, 4 AcO); 3,88–4,22 (m, 2 H-C(6'), H-C(5'), H-C(1), H-C(3)); 4,56, 4,88 (2 d, $J = 4, 5$, HO-C(1), HO-C(3)); 4,67, 4,87, 5,26 (3 dd, $J = 10$, H-C(2'), H-C(3'), H-C(4')); 4,76, ca. 5,2 (2 m, 2 H-C(19)); 4,97 (d, $J = 8$, H-C(1')); 5,98, 6,19 (2 d, $J = 12$, H-C(6), H-C(7)). MS: 746 (1, M⁺), 728 (8), 710 (5), 398 (5), 380 (17), 362 (15), 331 (12), 251 (15), 169 (27), 115 (18), 109 (15), 43 (100).

C₄₁H₆₂O₁₂ (746,94) Ber. C 65,93 H 8,37% Gef. C 65,38 H 8,58%

Oxydationen mit MnO₂. Eine Lösung von jeweils 1,5 mg Substrat in 0,5 ml CH₂Cl₂ wurde zusammen mit 5 mg MnO₂ 4 Std. gerührt. Gemäss DC (CH₂Cl₂/AcOEt 3:1) ergab dabei **6h** (R_f 0,21) praktisch 100% und **6f** (R_f 0,42) ca. 50% Umsetzung zu einem Produkt mit R_f 0,36 bzw. 0,47, während **6g** (R_f 0,35) unverändert blieb.

6.2. **6i** aus **6f**. In Analogie zu 1.4 wurden 48 mg (0,064 mmol) **6f** während 60 Min. desacetyliert, dann i.V. eingedampft. Säulenchromatographie an 10 g Kieselgel (CH₂Cl₂/MeOH 5:1) lieferte 37 mg laut DC (CH₂Cl₂/MeOH 4:1) einheitliches Harz. Dieses wurde in Dioxan über eine Säule von 4 g Kieselgel filtriert, das Filtrat auf ca. 3 ml eingengt und bei 0,01 mbar lyophilisiert: 34 mg (91%) **6i** als weisse Flocken, $[\alpha]_{589} = -17^\circ$ ($c = 0,021$). UV: 265 (15150). ¹H-NMR (400 MHz): 0,537 (s, H₃C(18)); 0,934 (d, $J = 6$, H₃C(21)); 1,211 (s,

¹⁹) Wirkstoff von Rocaltrol® der Fa. F. Hoffmann-La Roche & Co. AG.

²⁰) Dabei entstanden sich im DC unpolare verhaltende Zersetzungsprodukte.

2 H₃C–C(25)); 4,98, 5,32 (2 s (kleine Kopplungen unaufgelöst), 2 H–C(19)); 6,0, 6,34 (2 d, J = 9, H–C(6), H–C(7)). MS: 560 (1), 398 (21), 380 (42), 155 (65), 141 (66), 105 (78), 69 (100), 59 (91), 55 (92), 43 (87).

C₃₃H₅₄O₈ (578,79) Ber. C 68,48 H 9,40% Gef. C 68,24 H 9,75%

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] a) S. als Beispiele neueren Datums unter zahlreichen Übersichtsartikeln: 'Vitamin D', Herausgeber D. E. M. Lawson, Academic Press, London und New York 1978; 'Vitamin D: Molecular Biology and Clinical Nutrition', Herausgeber A. W. Norman, Marcel Dekker Inc., New York und Basel 1980; H. F. DeLuca, Nutrition Rev. 37, 161 (1979). b) Zur Nomenklatur: IUPAC-IUB, Pure Appl. Chem. 54, 1511 (1982).
- [2] M. R. Haussler, R. H. Wasserman, T. A. McCain, M. Peterlik, K. M. Bursac & M. R. Hughes, Life Sci. 18, 1049 (1976).
- [3] R. H. Wasserman, J. D. Henion, M. R. Haussler & T. A. McCain, Science 194, 853 (1976).
- [4] J. L. Napoli, L. E. Reeve, J. A. Eisman, H. K. Schmoes & H. F. DeLuca, J. Biol. Chem. 252, 2580 (1977).
- [5] M. R. Hughes, T. A. McCain, S. Y. Chang, M. R. Haussler, M. Villareale & R. H. Wasserman, Nature (London) 268, 347 (1977).
- [6] M. Peterlik & R. H. Wasserman, FEBS Lett. 56, 16 (1975).
- [7] M. S. Esparza, M. Vega & R. L. Boland, Biochim. Biophys. Acta 719, 633 (1982).
- [8] L. Miravet, M. Carre, C. Fisher-Ferraro & C. A. Mautalen, J. Clin. Endocrinol. 45, 1230 (1977).
- [9] M. C. De Vernejoul, M. L. Queille, R. W. Nordin, C. A. Mautalen & L. Miravet, 'Vitamin D: Basic Research and its Clinical Application', A. W. Norman, K. Schaefer, D. von Herrath, H. G. Grigoleit, J. W. Coburn, H. F. DeLuca, E. B. Mawer & T. Suda, Hrsg., Walter de Gruyter, Berlin 1979, S. 403.
- [10] R. Kumar, J. M. Londowski, M. Pass Murari & S. Nagabundi, J. Steroid Biochem. 17, 495 (1982).
- [11] W. Koenigs & E. Knorr, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 34, 957 (1901).
- [12] G. Wulff, G. Röhle & W. Krüger, Chem. Ber. 105, 1097 (1972).
- [13] S. zum Beispiel L. F. Fieser & M. Fieser, 'Steroids', Reinhold, New York 1959, S. 146ff.
- [14] J. Banoub & D. R. Bundle, Can. J. Chem. 57, 2091 (1979).
- [15] A. Fürst, L. Labler, W. Meier & K.-H. Pfoertner, Helv. Chim. Acta 56, 1708 (1973).
- [16] E. Berman, Z. Luz, Y. Mazur & M. Sheves, J. Org. Chem. 42, 3325 (1977) und dort zit. Lit.
- [17] H. H. Inhoffen & K. Irmischer, Naturwissenschaften 45, 86 (1958).
- [18] H. E. Paaren, D. E. Hamer, H. K. Schmoes & H. F. DeLuca, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 75, 2080 (1978).
- [19] A. Fürst, L. Labler & W. Meier, Helv. Chim. Acta 64, 1877 (1981).
- [20] K. Freudenberg & W. Nagai, Justus Liebig's Ann. Chem. 494, 63 (1932).
- [21] S. J. Halkes & N. P. Van Vliet, Recl. Trav. Chim. Pays-Bas 88, 1080 (1969).