

Diss. Nr. 5173

**Totalsynthese von Vitamin B₁₂:
Dicyano-Co(III)-Cobyrinsäure-Hexamethylester-f-Amid**

ABHANDLUNG

zur Erlangung
des Titels eines Doktors der technischen Wissenschaften
der
**EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH**

vorgelegt von

HANS MAAG
dipl. Chem. ETH
geboren am 24. Mai 1945
von Höri (Kt. Zürich)

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. A. Eschenmoser, Referent
Prof. Dr. O. Jeger, Korreferent

Juris Druck + Verlag Zürich

1973

ISBN 3 260 03588 5

Meinem sehr verehrten Lehrer,

Herrn Prof. Dr. A. Eschenmoser

unter dessen Leitung ich die vorliegende Promotionsarbeit am faszinierenden Projekt der Totalsynthese von Vitamin B₁₂ in der sehr spannenden Endphase ausführen durfte, möchte ich für die zahlreichen Diskussionen, die vielen wertvollen Ratschläge und die grosszügige Unterstützung herzlich danken.

Herrn Dr. J. Schreiber,
der in kurzer Zeit eine sehr effiziente Apparatur zur flüssig-
flüssig Verteilungschromatographie für das B₁₂-Team im rich-
tigen Moment "aus dem Boden stampfte", möchte ich für sei-
ne stete Hilfsbereitschaft und für seine vielen praktischen Rat-
schläge recht herzlich danken.

Die rund zwölfjährigen Arbeiten an der Totalsynthese von Vitamin B₁₂ bedingten ein umfassendes Teamwork. Von den zahlreichen Mitarbeitern an der Harvard-University in Cambridge (Mass.) und an der ETH in Zürich, möchte ich hier jene Kollegen erwähnen, mit denen ich direkt zusammenarbeiten durfte, und denen ich für die ausgezeichnete Zusammenarbeit und die Ueberlassung von Unterlagen zu grossem Dank verpflichtet bin:

W. Fuhrer, Dr. N. Hashimoto,
Dr. A. B. Holmes, Prof. N. Obata,
W. Schilling und Dr. P. Schneider

Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds zur
Förderung der wissenschaftlichen Forschung finanziell unter-
stützt.

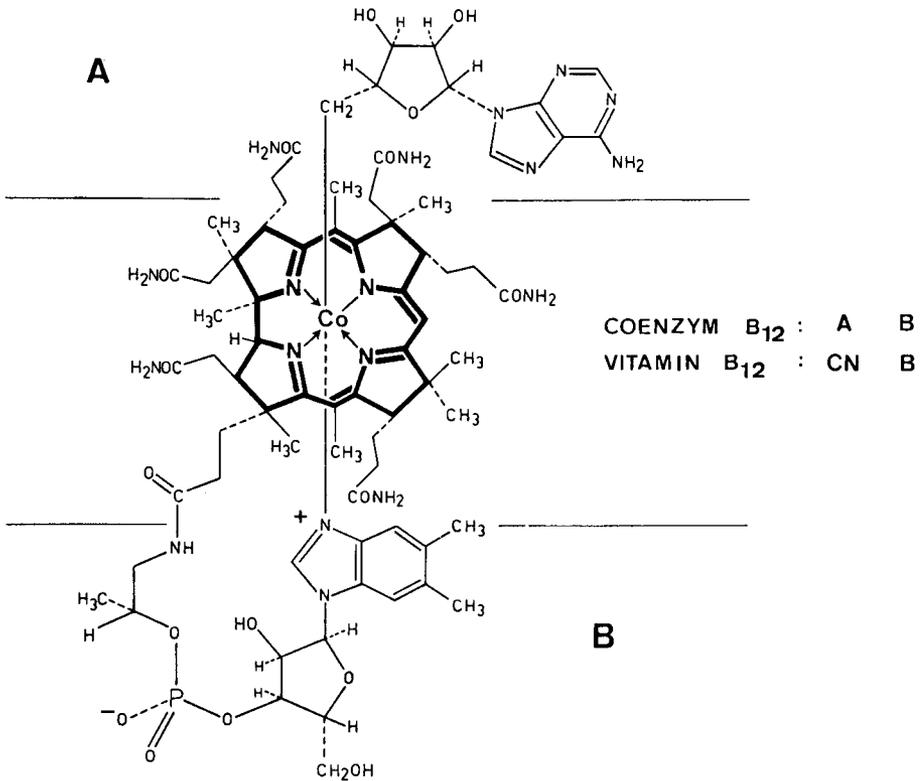
INHALTSVERZEICHNIS

Allgemeiner Teil	9
Nomenklatur	11
I Zwei Totalsynthesen von Vitamin B ₁₂	13
I 1. Harvard-ETH-Variante	13
I 2. ETH-Variante	16
I 3. Endstufen	18
II Einführung der Methylgruppen an C-5 und C-15	27
II 1. "Erfolgreiche Versuche"	29
II 2. Substitution mit Chlormethyläthern	37
II 3. Reduktion	41
III Identifikation	44
Experimenteller Teil	47
Allgemeine Bemerkungen	47
I Uebersicht über die spektroskopischen Eigenschaften von Derivaten des Cobyrynsäure-heptamethylesters ('Cobester')	51
II 5,15-bis-nor-Cobyrynsäure-heptamethylester (5,15-bis-nor-Cobester)	64
II 1. 5,15-bis-nor-Cobester aus Vitamin B ₁₂	64
II 2. Totalsynthetischer 5,15-bis-nor-Cobester	78
III Einführung der Methylgruppen an C-5 und C-15	91
III 1. Vorversuch: 10-Methyl-cobester	91
III 2. Vorläufige (historische) Versuche	97
III 2.1. Mai 1971: Cobester aus 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton durch Alkylierung mit Chlormethylbenzyläther in Sulfolan und Reduktion mit Raney-Nickel	97
III 2.2. Black Friday (9.7.71): Cobester aus 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitril durch Alkylierung mit Chlormethylmethyläther und Reduktion mit Raney-Nickel	107

III 2.3. New Delhi (10. 2. 72): Cobester-f-nitril aus 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitril durch Alkylierung mit Chlormethylbenzyläther in Acetonitril und Reduktion mit Raney-Nickel. 1. Identifikation mit ca. 100 μ totalsynthetischem Cobyrynsäure-hexamethylester-f-amid	126
III 3. Endgültige Reaktionsbedingungen (Herbst 1972)	146
III 3.1. Alkylierung mit Chlormethylbenzyläther in Gegenwart von Lithiumchlorid in Acetonitril	146
III 3.2. Reduktion mit Zinkamalgam in Essigsäure und Identifikation des Cobyrynsäure-hexamethylester-f-nitrils und des neo-Cobyrynsäure-hexamethylester-f-nitrils	181
III 3.3. Totalsynthetisches Cobyrynsäure-hexamethylester-f-amid und neo-Cobyrynsäure-hexamethylester-f-amid (inkl. Identifikation)	206
IV Authentische Derivate des Cobyrynsäureheptamethylesters (Cobester)	222
IV 1. Cobester-c-lacton	222
IV 2. Partielle Ammonolyse von Cobester, Monoamide des Cobesters	226
IV 3. C-13-Epimerisierung der Monoamide durch Behandlung mit konz. Schwefelsäure (neo-Monoamide des Cobesters)	240
IV 4. Mononitrile des Cobesters	253
V Anhang	258
Zusammenfassung	261
Literaturverzeichnis	262
Lebenslauf	

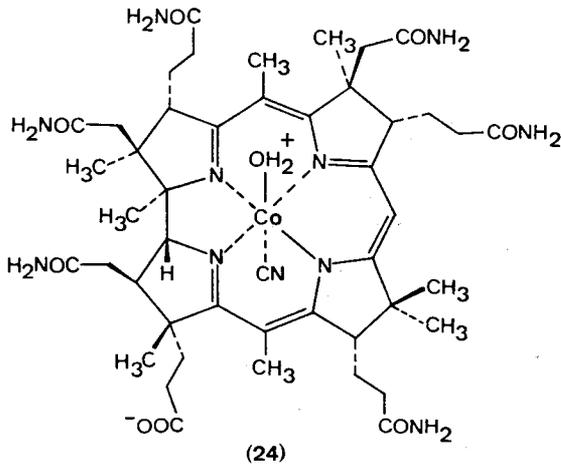
ALLGEMEINER TEIL

1926 hatten G. R. Minot und W. P. Murphy [1] entdeckt, dass mit roher Leber die perniciöse Anämie geheilt werden kann. Die darauffolgenden Versuche, die für die Heilung verantwortliche Verbindung rein darzustellen, waren 1948 in zwei Laboratorien fast gleichzeitig erfolgreich, indem der Wirkstoff, Vitamin B₁₂ genannt, in kristalliner Form erhalten wurde [2], [3]. Die Struktur dieser komplexen Verbindung wurde anschliessend fast ausschliesslich durch Röntgenstrukturanalyse der Gruppe von D. C. Hodgkin in Oxford aufgeklärt, die 1956 die in Fig. 1 angegebene Struktur lieferte [4].



Figur 1

An dieser Verbindung mit ihrer faszinierenden Struktur arbeiteten darauf viele Arbeitsgruppen an der Abklärung der Biochemie*, der Biosynthese** und der Synthese [8]. Das 1960 von H. A. Barker et al. entdeckte Coenzym B₁₂ (Fig. 1) stellt die in der Natur aktive Form des Vitamins dar [9]. 1961 konnte die Röntgenstrukturanalyse [10] und 1962 die Partialsynthese, ausgehend von Vitamin B₁₂ [11], abgeschlossen werden. Die totalsynthetischen Bemühungen wurden dadurch vereinfacht, indem 1960 von K. Bernhauer et al. die Cobyrssäure (Fig. 2) aus Klärschlamm isoliert [12] und deren Struktur durch nachfolgende Partialsynthese von Vitamin B₁₂ aufgeklärt wurde [13]. Dadurch war klar, dass das primäre Ziel einer Totalsynthese nicht Vitamin B₁₂, sondern die formal durch hydrolytische Spaltung der Nucleotidseitenkette erhaltene Cobyrssäure, deren Struktur zusätzlich noch durch eine Röntgenstrukturanalyse gesichert war [14].



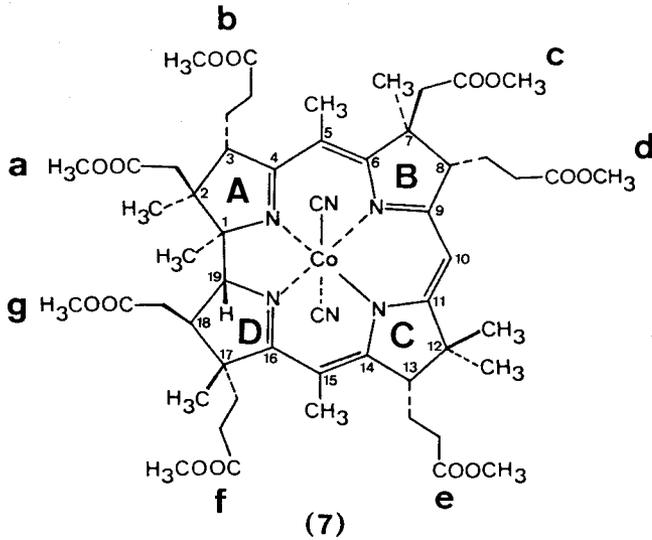
Cobyrssäure

Figur 2

* Für neuere Ergebnisse vgl. z. B. [5] (**[6] [7]) und die dort angegebene Literatur.

Nomenklatur

Gegenüber der IUPAC-Nomenklatur für Corrine [15] wird in dieser Arbeit eine vereinfachte Notierung verwendet. Wie bei L. Werthmann [16] wird für die Verbindung (7), dem Dicyano-kobalt-III-cobyrinsäure-heptamethylester die Kurzbezeichnung Cobester verwendet. Für die Numerierung der Atome, die Bezeichnung der Ringe (A, B, C und D) und der Seitenketten (a-g) werden die IUPAC-Regeln beibehalten (Fig. 3).



Figur 3

Als weitere Vereinfachung werden die Derivate des Cobesters zum Teil in einer Kurzschreibweise angegeben, z. B. :

f-Amid für Cobester-f-amid = Dicyano-kobalt-III-cobyrinsäure-hexamethylester-f-amid

Die Stereochemie der Seitenketten b, d und e wird durch α oder β angegeben, wobei die in Fig. 3 angegebene (natürliche) Konfiguration die Bezeichnung $\alpha\alpha\alpha$ erhält:

$\alpha\alpha\alpha$ bedeutet C-3- α , C-8- α , C-13- α ,

$\beta\alpha\beta$ entsprechend C-3- β , C-8- α , C-13- β .

Für den Cobester (7) mit $\alpha\alpha\beta$ -Konfiguration wird auch die Bezeichnung neo-Cobester verwendet [17]. Bei Verbindungen mit einem c-Lacton-Ring (Seitenkette c nach C-8) wird infolge der dadurch festen Konfiguration der Seitenkette d ein Punkt gesetzt, z. B. $\alpha.\beta$

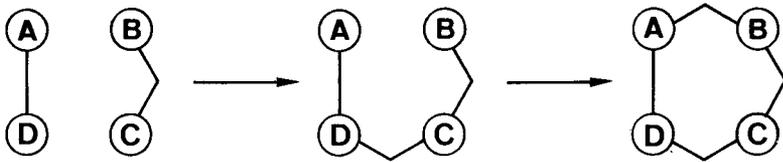
Die Verbindungen sind nach dem experimentellen Teil numeriert.

I ZWEI TOTALSYNTHESEN VON VITAMIN B₁₂

Eine Uebersicht über die beiden 1972 abgeschlossenen Synthesen bietet das herausklappbare Schema 1 auf Seite 25.

I 1. HARVARD - ETH - VARIANTE

(vgl. die detaillierte Uebersicht von P. Schneider [18])



Die Gruppe an der Harvard-University um R. B. Woodward begann 1960 damit, ein die Ringe A und D umfassendes Zwischenprodukt zu synthetisieren, während die ETH-Gruppe von A. Eschenmoser zuerst am Aufbau von einfachen Modellcorrinen [19] und an der Synthese eines Vorläufers für alle vier Ringe der Cobyrsäure arbeitete. Aus dieser Sachlage ergab sich 1964 eine Zusammenarbeit der beiden Teams, die Harvard-Gruppe hatte die Aufgabe, den A - D - Teil, die ETH-Gruppe die B - C Hälfte herzustellen. 1968 hatten beide Gruppen ihr Teilziel erreicht:

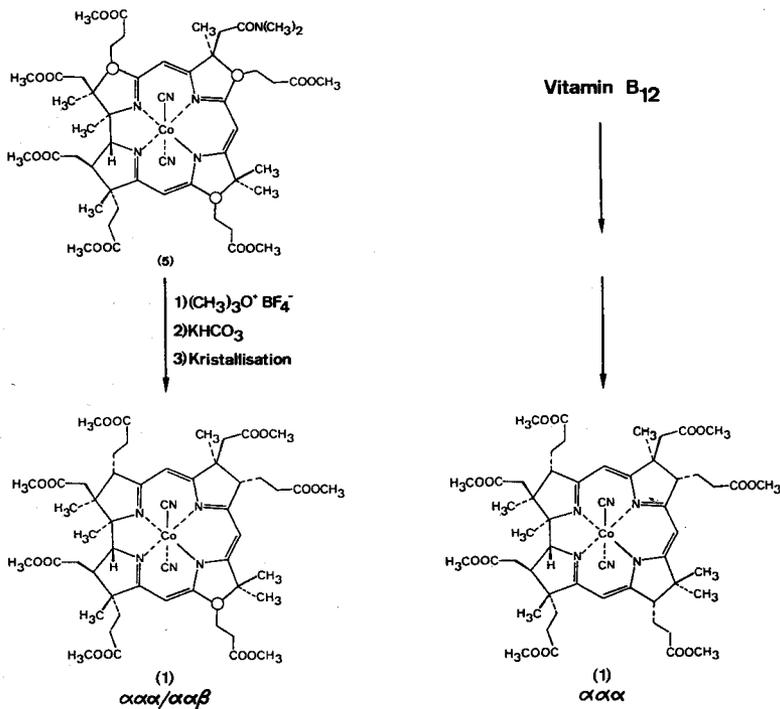
Die Harvard-Gruppe hatte ausgehend von (-)-Campher, m-Anisidin und 2-Butanon-3-ol in einer meisterhaften, stereospezifischen Synthese das A-D-Zwischenprodukt in Form des Bromids erhalten. Die Seitenkette f war aber von den übrigen noch nicht differenziert, lag also als Methylester vor [20].

An der ETH waren, ausgehend von Methyl-äthyl-keton, Glyoxylsäure und Butadien, die beiden enantiomeren C₁₀-Dilactonsäuren, synthetisiert worden [21], [22], [23]. Aus dem (+)-Isomeren konnte der Vorläufer für Ring B [24], [25] und Ring C [26] erhalten werden. Ring C war auch von der Harvard-Gruppe nach einer von J. W. Cornforth vorgeschlagenen Synthese aus (+)-Campher dargestellt worden [20]. Dieses Verfahren wurde für den Nachschub verwendet. Die Kondensation via Sulfidkontraktion [27] der Ringe B und C ergab das B-C-Zwischenprodukt [18], [25], das als C-Thioamid [28] für die Kondensation mit der A-D-Hälfte

eingesetzt wurde. Die Verknüpfung der beiden Hälften gelang 1968 wieder via Sulfidkontraktion, wobei die eingehenden Untersuchungen der Harvard-Gruppe über diese Reaktionssequenz das Verknüpfungsproblem in präparativ befriedigender Weise löste. Die zweite Kondensation zwischen A und B bereitete beträchtliche Mühe, und es war das Verdienst von P. Schneider [18], der durch erstmalige Anwendung der jodierenden Kupplung [29] dieses Problem meisterte. Anfang 1970 war man dadurch beim 5, 15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid (5) angelangt, wobei über die Konfiguration der Seitenketten b, d und e dieser nicht kristallinen Probe noch nichts bekannt war.

Die Gruppe von K. Bernhauer in Stuttgart hatte durch Oxydation mit Kaliumpermanganat und anschliessender Decarboxylierung die beiden chromophor-gebundenen Methylgruppen an C-5 und C-15 am Cobinamid entfernen können [30] (vgl. S. 64). Dieses Material wurde für biosynthetische Untersuchungen verwendet [31]. Ein solches 5, 15-bis-nor-Derivat war begreiflicherweise ein willkommenes Vergleichsmaterial für die totalsynthetischen Arbeiten. Von K. Bernhauer wurde der Zürchergruppe Ende 1969 ca. 100 mg 5, 15-bis-nor-Cobinamid-Gemisch zur Verfügung gestellt. Durch Veresterung mit Schwefelsäure in Methanol konnte daraus 5, 15-bis-nor-Cobester (1) hergestellt werden, der, nach Abtrennung von Nebenprodukten, einheitlich war und kristallisierte.

Im Frühjahr 1970 wurde das totalsynthetische 5, 15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid (5) mittels Methylmerweinsalz in den 5, 15-bis-nor-Cobester (1) überführt. Der synthetische Ester (1) (ca. 1,5 mg) kristallisierte ebenfalls und die UV/VIS-, IR- und ORD-Spektren der beiden Proben, die für den Vortrag von R. B. Woodward am IUPAC-Kongress in Riga (Juni 1970) bereitgestellt wurden, zeigten eine sehr gute Übereinstimmung (vgl. S. 79) [18], [32], [33]. Mit den ca. 20 mg totalsynthetischem 5, 15-bis-nor-Cobester (1), die im November 1970 verfügbar wurden [18], sollte eine eindeutige Identifikation (inkl. NMR) durchgeführt werden. Dabei erwies sich der kristallisierte Anteil (ca. 60 %) des synthetischen Esters (1) als ein binäres Diastereomerenmisch der $\alpha\alpha\alpha$ und $\alpha\alpha\beta$ -Isomeren (vgl. S. 81). Wie später gezeigt wurde, enthielt der nicht kristalline Teil wahrscheinlich noch die übrigen Isomeren des 5, 15-bis-nor-Esters (1) ($\beta\alpha\alpha/\beta\alpha\beta/\alpha\beta\alpha/\alpha\beta\beta/\beta\beta\alpha/\beta\beta\beta$), das $\beta\alpha\alpha/\beta\alpha\beta$ -Paar konnte noch eindeutig nachgewiesen werden. (Schema 2).



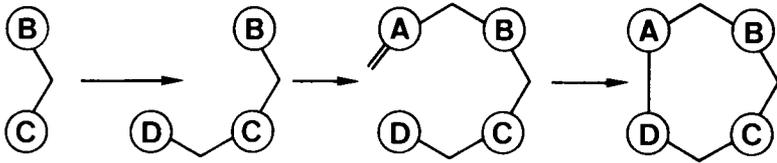
Schema 2

Nachdem bei der zweiten Synthese (ETH-Variante) direkt der in der Seitenkette f differenzierte Kobaltkomplex (4) (f: CN statt COOCH_3) erhalten worden war (Anfang 1971), wandelte die Harvard-Gruppe die A-D-Hälfte in gleicher Weise ab. Von P. Schneider wurde erstmals im Mai 1971 dann mit diesem A-D-Nitril-bromid das 5, 15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid-f-nitril (4) (als Isomerengemisch) ebenfalls erhalten.

Die Harvard-Gruppe, die diese Synthese nach dem Frühjahr 1971 noch weiter bearbeitete, währenddem sich die Zürcher-Gruppe ganz auf die photochemische Variante konzentrierte, konnte die A-B-Cyclisierung auch durch eine Thioimino-ester-Enamin-Kondensation erreichen [34], [19].

I 2. ETH - VARIANTE

(vgl. die detaillierte Uebersicht von W. Fuhrer [35])



Diese zweite Synthesevariante wurde nach der Formulierung der Woodward-Hoffmann-Regeln in Angriff genommen [36]. Die zentrale Reaktionsstufe bildet hier der photochemische Ringschluss zwischen den Ringen A und D. Auch diese Synthese wurde an der ETH zuerst in der Modellreihe untersucht [37], und Ende 1969 begann W. Fuhrer praktisch im Alleingang diesen Weg in der B₁₂-Reihe voranzutreiben [35]. Der Vorläufer für den Ring A wurde wie diejenigen der Ringe B und C aus der (+)-C₁₀-Dilactonsäure, derjenige des Ring D's aus der enantiomeren, der minus drehenden Dilactonsäure hergestellt [38]. Damit konnte die Synthese der Cobyrinsäure vollständig analog der im Molekül vorhandenen Symmetrie bewerkstelligt werden:

- Alle vier Ringe werden aus dem gleichen Vorläufer dargestellt, wobei derjenige Ring, der eine spezielle Seitenkettenfunktion tragen muss, aus dem enantiomeren Vorläufer zu demjenigen der andern drei Ringe erhalten wird.

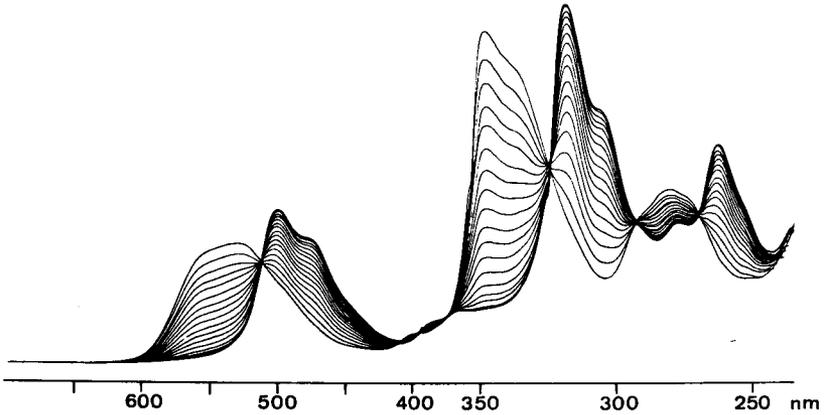
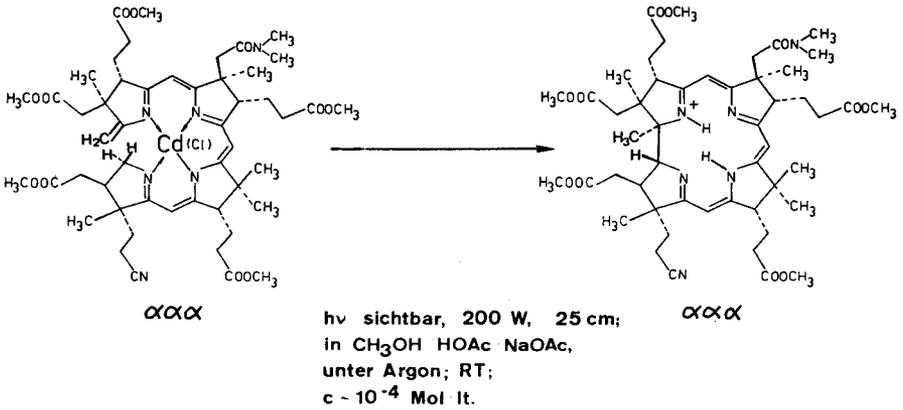
- Durch dreimalige Anwendung der Sulfidkontraktionsmethode werden die drei vinylogenen Amidinsysteme aufgebaut.

- Nach Entfernung der Cyanidschutzgruppe am Ring A wird der Ringschluss zwischen A und D durch eine glattverlaufende, photochemische Cycloisomerisierung erreicht [39].

Im Fall des Cadmium-komplexes verläuft diese Reaktion (im Gegensatz zum Zink-komplex) bezüglich der A-D-Verknüpfung zudem noch praktisch stereospezifisch. Als Illustration für den ausgezeichneten Verlauf dieser Schlüsselreaktion der ETH-Synthese-Variante ist in Fig. 4 die Isosbestik abgebildet, die bei der Cyclisation am Cadmium-komplex (mit $\alpha\alpha\alpha$ -Konfiguration der Seitenketten) von W. Fuhrer erhalten worden war.

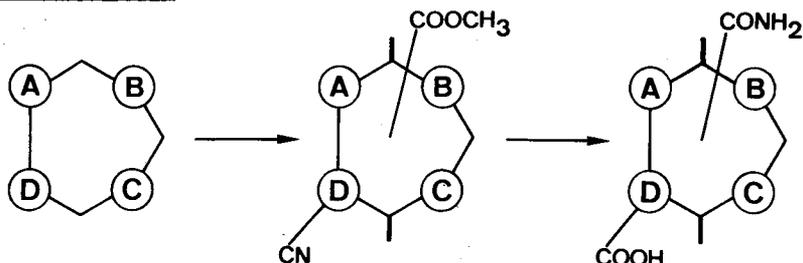
Auf diese Weise gelangt man in ca. 32 Stufen zum 5,15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid-f-nitril (4). Es werden die gleichen Isomeren dieses Corrins ($\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta/\beta\alpha\alpha/\beta\alpha\beta/\alpha\beta\alpha/\alpha\beta\beta/\beta\beta\alpha/\beta\beta\beta$) in ähnlichen Mengenverhältnissen erhalten, wie in den ca. 56 Stufen bei der Harvard-ETH-Variante.

Damit verblieben im Frühjahr 1971 bei beiden Synthesen die gleichen Endstufen bis zur Cobyrssäure.



Figur 4

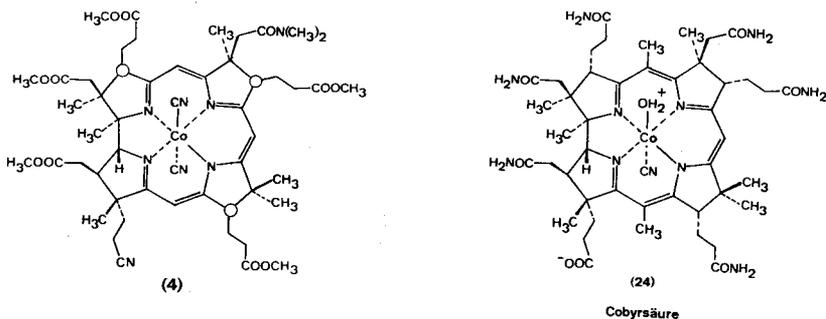
I 3. ENDSTUFEN



(Von den hier in einem Kurzabriss dargestellten Endstufen, wird die Sequenz zur Einführung der beiden Methylgruppen an C-5 und C-15 im nächsten Abschnitt im Detail besprochen)

Um vom 5,15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid-f-nitril (4) zur Cobyrssäure (24) zu gelangen, mussten die folgenden Probleme gelöst werden (Fig. 5):

- Einführung der beiden chromophor-gebundenen Methylgruppen an C-5 und C-15, dabei muss die ungefähr gleich reaktive Stelle an C-10 frei bleiben.
- Ueberführung der Seitenkettenfunktionen a, b, c, d, e und g in primäre Amidgruppen (a, b, d, e, g: $\text{COOCH}_3 \longrightarrow \text{CONH}_2$, c: $\text{CON}(\text{CH}_3)_2 \longrightarrow \text{CONH}_2$).
- Ueberführen der f-Nitrilgruppe in die freie Säuregruppe
- Stereochemie: Aus dem Isomerengemisch von (4) darf am Ende nur noch das $\alpha\alpha\alpha$ -Isomere der Cobyrssäure (24) erhalten werden.



Figur 5

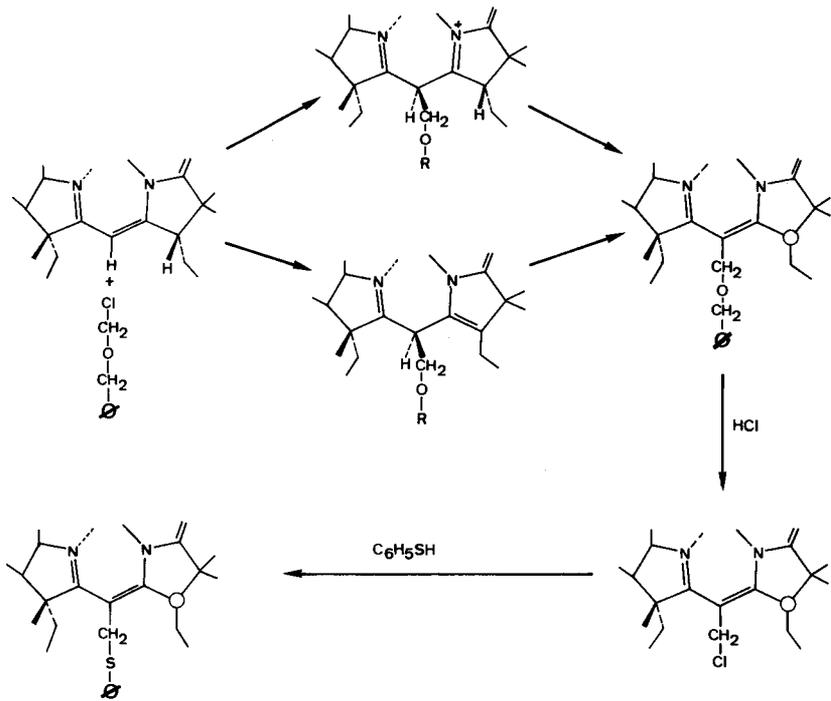
Die endgültige Lösung dieser Probleme brachte die folgende Reaktionssequenz, die im Schema 1 dargestellt ist:

1) Um bei der nachfolgenden Alkylierung eine Substitution am freizubleibenden C-10 zu verhindern, wird die sterische Hinderung an dieser Stelle erhöht. Dies geschieht durch oxydative Lactonisierung des c-Dimethylamids zum c-Lacton (6) [38], die erstmals von P. Schneider (Frühling 1971) durchgeführt worden war. Dabei bilden auch die C-8- β -Isomeren des Dimethylamids (4) das gleiche c-Lacton wie die entsprechenden C-8- α -Isomeren in etwas geringerer Ausbeute von ca. 70% gegenüber 85-90% bei den C-8- α -Dimethylamiden (4). Die Lactone (6) mit C-3- β -Konfiguration können mit flüssig-flüssig Verteilungschromatographie leicht abgetrennt werden, und es gelang W. Schilling, diese basisch (DBU/Sulfolan, 80° / 3h) zu einem C-3- α : C-3- β = 78:22 Gleichgewichtsgemisch zu isomerisieren.

2) Die Einführung der Methylgruppen an C-5 und C-15 wurde in zwei Stufen durchgeführt:

- Alkylierung mit Chlormethylbenzyläther in Acetonitril in Gegenwart von Lithiumchlorid während 15 h bei 85° liefert zuerst das nicht isolierte 5,15-Dichlormethyl-derivat, das durch kurzzeitige Behandlung mit Thiophenol bei 0° in das isolierbare 5,15-Di-phenylthiomethyl-cobester-c-lacton-f-nitril (14) in ca. 50% Ausbeute überführt wird (Harvard: Alkylierung mit Trioxan/HCl in Sulfolan/CH₃CN, Aufarbeitung mit Thiophenol [34]) (Schema 3).

Die detaillierte Untersuchung dieser Reaktion zeigte, dass während der Substitution an C-13 isomerisiert wird. Im weiteren liefern die C-3- β -Isomeren des 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitrils (6) nur an C-15 substituierte Derivate, es konnten keine disubstituierten Phenylthiomethyl-corrine erhalten werden. Beim experimentellen Vorgehen wurden die Lactone (6) mit C-3- β -Konfiguration (Anteil 20 - 25%) abgetrennt und nur das $\alpha\alpha/\alpha\beta$ -Gemisch bei der Alkylierung verwendet. Grundsätzlich wäre es möglich, ohne jede Auftrennung der acht Isomeren des 5,15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid-f-nitrils (4) weiter zu arbeiten, da bei der Lactonisierung die C-8- β -Dimethylamide in C-8- α -Lactone überführt werden und die C-3- β -Lactone dadurch ausscheiden, dass sie keine Disubstitutionsprodukte liefern. Dadurch würde man das gleiche C-13-Epimerengemisch des 5,15-Phenylthiomethyl-cobester-c-lacton-f-nitrils (14) wie bei der durchgeführten Alkylierung des C-13-Epimerengemisches des Lactons (6) erhalten. Ein solches Vorgehen ist natürlich erst dann möglich, wenn



Schema 3

die genauen Verhältnisse abgeklärt sind. Diese Untersuchungen konnten nur deshalb durchgeführt werden, indem J. Schreiber, für die ETH-Gruppe genau zur richtigen Zeit, eine sehr leistungsfähige Apparatur zur Hochdruck flüssig-flüssig Verteilungschromatographie (LLC) bereitstellte, mit der alle wichtigen Trennprobleme auf einfache Weise lösbar waren [40].

- Das 5,15-Di-phenylthiomethyl-cobester- γ -lacton-f-nitril (14) kann sogar durch einfache Dünnschichtchromatographie in die α,α und α,β Isomeren aufgetrennt werden. Die nachfolgende Reduktion mit Zinkamalgame in Essigsäure (Harvard: Zn/Mg in Essigsäure [34]) liefert die beiden Methylgruppen an C-5 und C-15. Gleichzeitig wird der γ -Lactonring reaktiv geöffnet und nach Veresterung der γ -Säure mit Diazomethan erhält man das Cobester-f-nitril (9). Bei der Reduktion wird die Konfiguration an C-13 nicht angetastet, sodass aus dem α,α -(14) das $\alpha\alpha\alpha$ -(9) und aus dem α,β -(14) das $\alpha\alpha\beta$ -(9) gebildet wird, da glücklicherweise

die Reduktion des c-Lactons nur C-8- α -Komplexe liefert. Es konnten in keinem Fall Hinweise auf Produkte mit C-8- β -Konfiguration gefunden werden [41]. Bei der Isolierung von neo-Vitamin B₁₂ durch R. Bonnett et al. [42] und dessen Röntgenstrukturanalyse [43] war auch der neo-Cobester ($\alpha\alpha\beta$ -(7)) charakterisiert worden [17]. Diese Arbeiten lieferten die essentiellen spektroskopischen Daten, die erlaubten, die beiden $\alpha\alpha\alpha$ und $\alpha\alpha\beta$ -Isomeren des f-Nitrils (9) zuzuordnen.

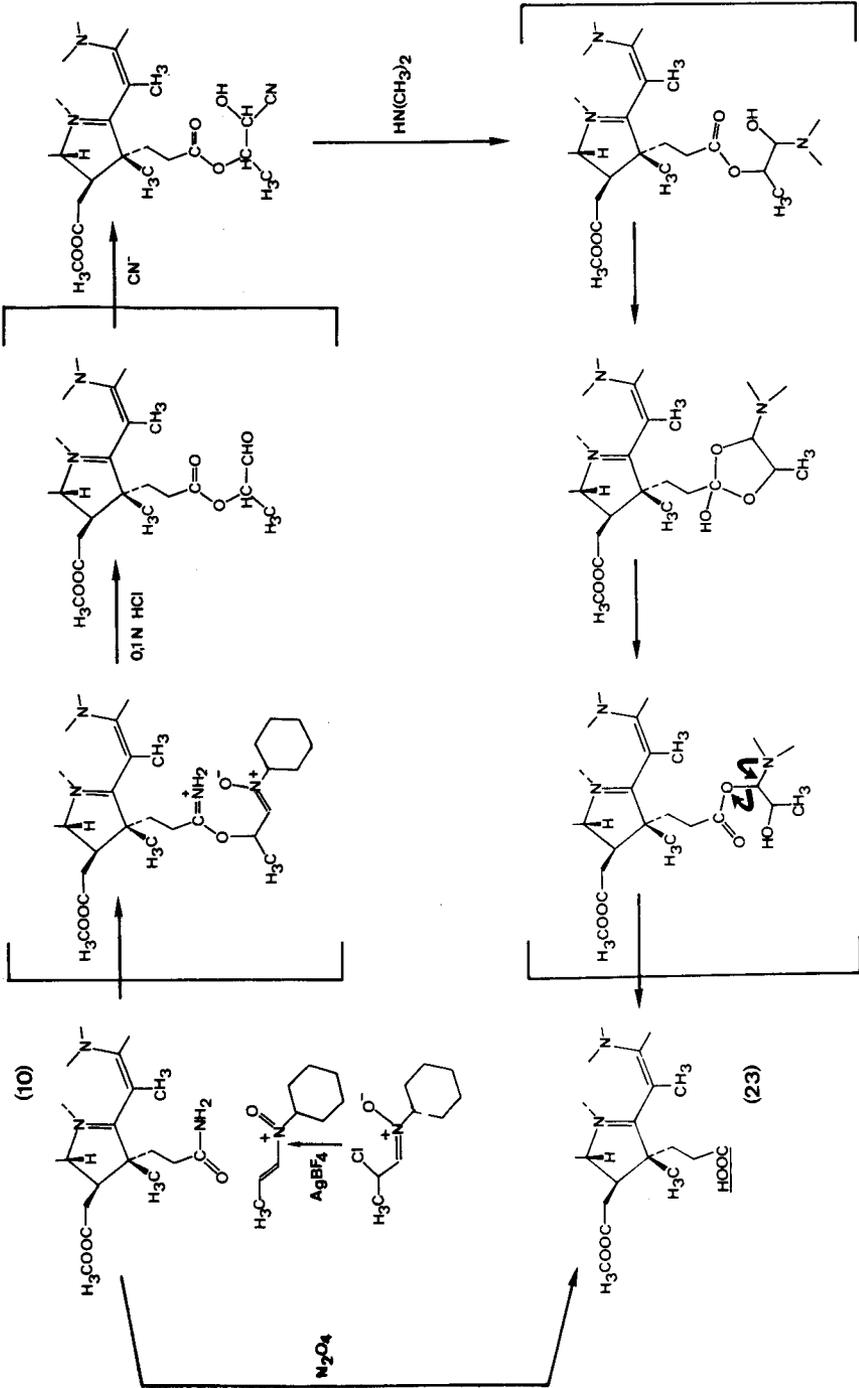
3) Die nächste Stufe in Richtung auf die Cobyrssäure (24) besteht in der Ueberführung des f-Nitrils in das f-Amid (10). Bei der Behandlung mit konz. Schwefelsäure wird neben der gewünschten Umwandlung noch zusätzlich an C-13 isomerisiert wobei ein $\alpha\alpha\alpha$: $\alpha\alpha\beta$ = 3:7 Gleichgewichtsgemisch des f-Amids (10) erhalten wird. Durch Nachbehandlung des neo-Isomeren kann die Menge am gewünschten (natürlichen) $\alpha\alpha\alpha$ -Isomeren vergrößert werden. Die nur von der Harvard-Gruppe durchgeführte Reaktion mit BF₃ in Essigsäure, die erst gegen Ende 1972 entwickelt wurde, liefert bei der Umwandlung f-Nitril \rightarrow f-Amid praktisch keine Isomerisierung an C-13 [44].

Auf dieser Stufe wurde das totalsynthetische Material mit authentischem Material aus Vitamin B₁₂ identifiziert. Erstmals gelang diese Identifikation im Februar 1972, kurz vor dem IUPAC-Kongress in New Delhi mit ca. 100 μ g kristallinem synthetischem f-Amid (hergestellt nach der ETH-Variante, vgl. S.136) [34], [45]. Durch Veresterung mit Schwefelsäure in Methanol wird aus Vitamin B₁₂ Cobester (7) erhalten [16], dessen milde Ammonolyse im wesentlichen ein Gemisch der vier Monoamide der Propionsäureseitenketten b, d, e und f liefert (S. 226). Mittels LLC können diese Monoamide getrennt werden, womit das authentische f-Amid zugänglich wird. Durch Isomerisierung mit konz. Schwefelsäure kann auch das neo-f-Amid bereitgestellt werden (S. 226). Durch Behandlung mit Methansulfonylchlorid in Pyridin lassen sich die Amide leicht in die entsprechenden Nitrile überführen (S. 240). Dadurch war auf zwei Stufen (f-Nitril/ neo-f-Nitril und f-Amid/ neo-f-Amid) eine vollständige Identifikation der synthetischen und der authentischen Reihe möglich (vgl. S.187 und 212). Diese zweistufige Identifikation der wurde sowohl an der Harvard (Harvard-ETH-Variante) wie an der ETH (Material aus der photochemischen Reihe) durchgeführt.

4) Die weiteren zwei Stufen bis zur Cobylsäure (24) wurden an der ETH nur noch mit authentischem Material durchgeführt, d. h. es handelt sich streng genommen um eine Partialsynthese der Cobylsäure (24) aus dem Cobester-f-amid (10). Die anfänglichen Versuche zur Darstellung der f-Säure aus dem f-Amid mittels Nitrosierungsreagenzien scheiterten daran, dass der Corrin chromophor an C-10 ebenfalls nitrosiert wurde. Mit diesem Problem konfrontiert (Sommer 1971), gingen die zwei Gruppen nach verschiedenen Prinzipien vor:

- Die Harvard-Gruppe bearbeitete die Nitrosierungsreaktion so lange, bis unter speziellen Reaktionsbedingungen die f-Säure (23) in ca. 70% Ausbeute erhalten werden konnte [34].
- An der ETH wurde nach einer neuen Reaktion gesucht. Die gefundene Lösung ist in Schema 4 dargestellt, die an der ETH von N. Obata bearbeitet worden ist. [46].

α -Chloraldo-nitrone ergeben mit Silbersalzen die stark elektrophilen N-Vinyl-nitrosoniumionen [47]. Damit kann eine Amidgruppe am Sauerstoff alkyliert werden und nach saurer Hydrolyse (0,1 N HCl) gelangt man zu einem β -Aldehyd-ester. In diesem Fall wird dieser nicht isoliert, da infolge des Kobalt-III-komplexes in Gegenwart von Cyanid-ionen aufgearbeitet werden muss und dabei direkt das Cyanhydrin erhalten wird. Die nachfolgende Umsetzung zur Säure mit Dimethylamin verläuft mit dem Aldehyd wie dem Cyanhydrin gleich leicht (da aus dem Cyanhydrin mit Dimethylamin zuerst der Aldehyd zurückgebildet wird, der in situ weiterreagiert), wie K. Lindner an einfachen Modellverbindungen zeigen konnte [48]. Im Schema 4 sind die hypothetischen Zwischenstufen angegeben, die bei dieser 'Hydrolyse' wahrscheinlich durchlaufen werden. So komplex die ganze Sequenz auf den ersten Blick aussieht, so wurde doch erstaunlicherweise mit dieser Variante in kürzerer Zeit vernünftige Ausbeuten (60 - 70 %) an f-Säure (23) erreicht, als bei der Nitrosierung.

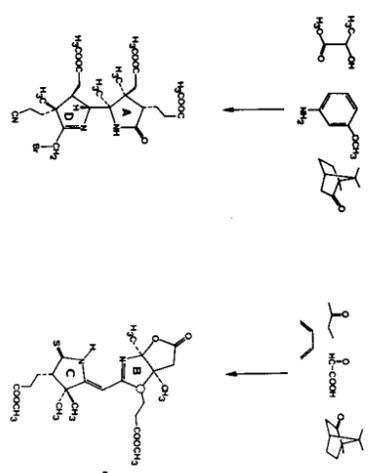


Scheme 4

5) Die letzte Stufe besteht in der Ammonolyse aller sechs Methylestergruppen der Seitenketten a, b, c, d, e und g, während die Funktion der Seitenkette f in der Säureform verbleiben muss. Die präparative Lösung, die von der Harvard-Gruppe erarbeitet wurde, besteht in der Reaktion mit flüssigem Ammoniak in Äthylen-glykol in Gegenwart von Ammoniumchlorid. Das Ammoniumchlorid, allgemein als Katalysator für Ammonolysen bekannt, ist hier absolut erforderlich, da sonst nicht Cobyrssäure (24), sondern das entsprechende c-Lactam gebildet wird; auch dann, wenn Luftsauerstoff peinlich genau ausgeschlossen wird. Es können zwei Begründungen für den Effekt des Ammoniumchlorids angeführt werden:

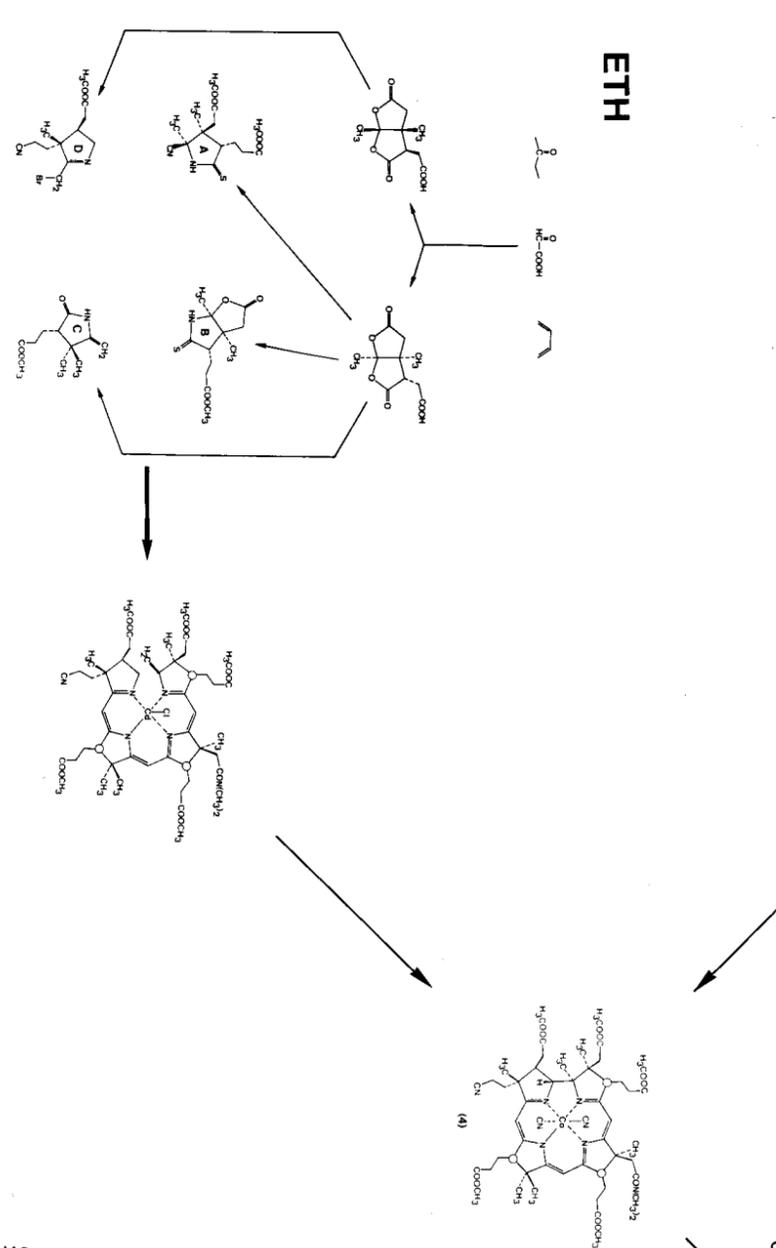
- Die analoge c-Lactambildung beim Vitamin B₁₂ lässt sich durch Zugabe eines Ueberschusses an Cyanid-Ionen unterbinden [49]. Es ist möglich, dass diese Oxidationsreaktion über einen pentakoordinierten Kobalt-II-komplex abläuft. In diesem Fall würde das Ammoniumchlorid das Gleichgewicht in Richtung eines hexakoordinierten Chlorocyano-komplexes verschieben und so die Lactambildung unterdrücken.

- Durch die Zugabe von Ammoniumchlorid wird der pH-Wert in der Reaktionslösung gesenkt. Eine allfällige Deprotonierung einer Amidgruppe (im speziellen die Deprotonierung der Amidgruppe der Seitenkette c) wird dadurch entgegengewirkt, was die Lactambildung erschweren dürfte. Die partialsynthetische Cobyrssäure (an der Harvard auch totalsynthetische) wurde mit natürlicher, aus Klärschlamm gewonnener, identifiziert [38], [50], wodurch die rund zwölf-jährigen Arbeiten an den zwei Synthesen des Vitamins B₁₂ Anfang 1972 abgeschlossen werden konnten.

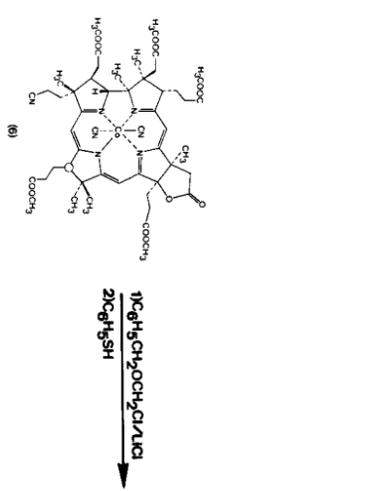


HARVARD-ETH

ETH

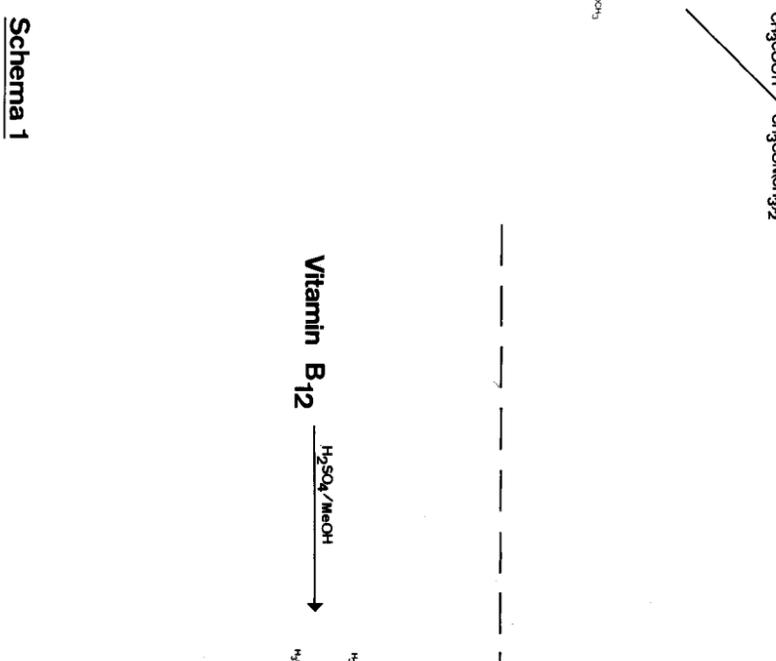


Schema 1

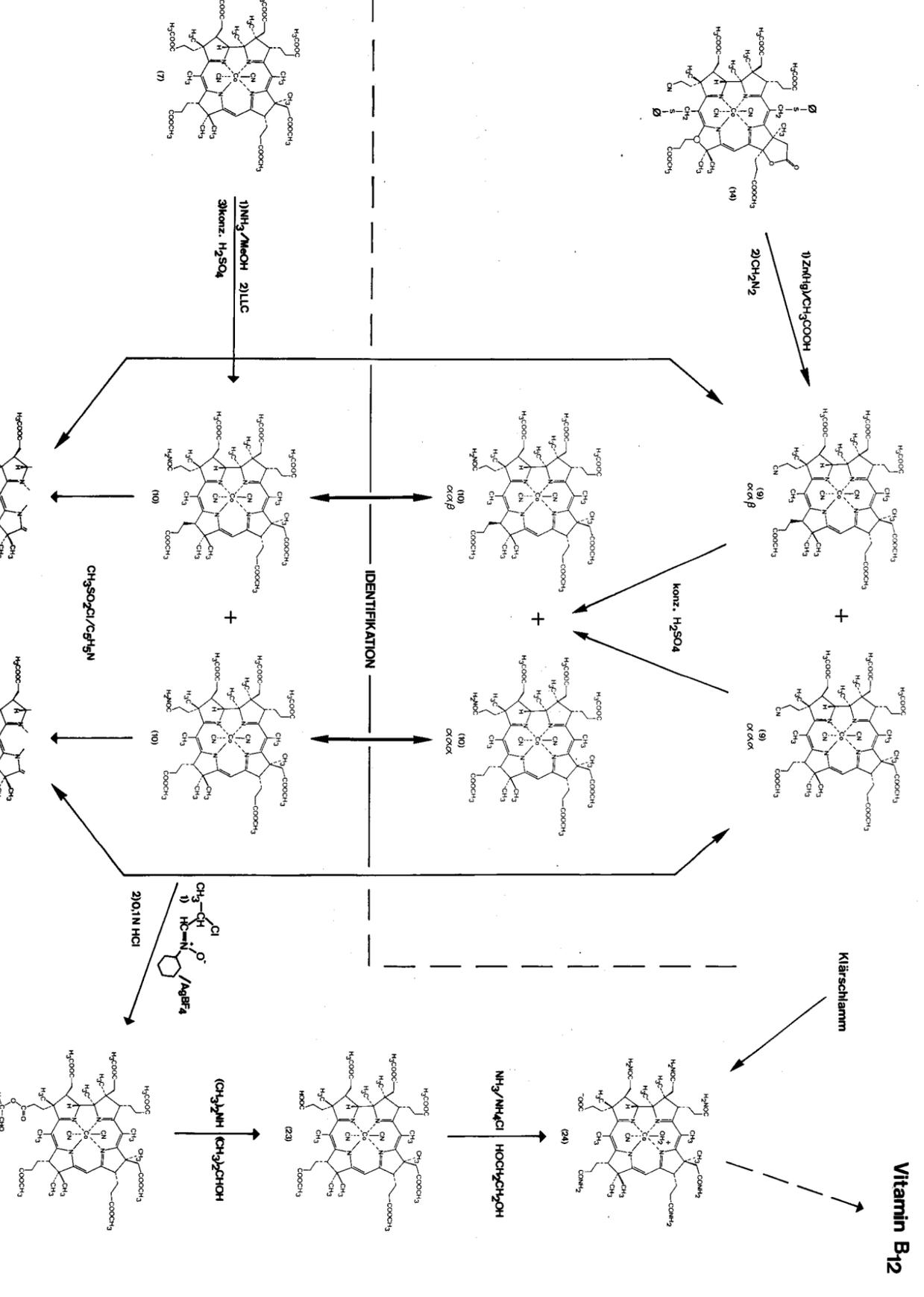


HARVARD-ETH

ETH



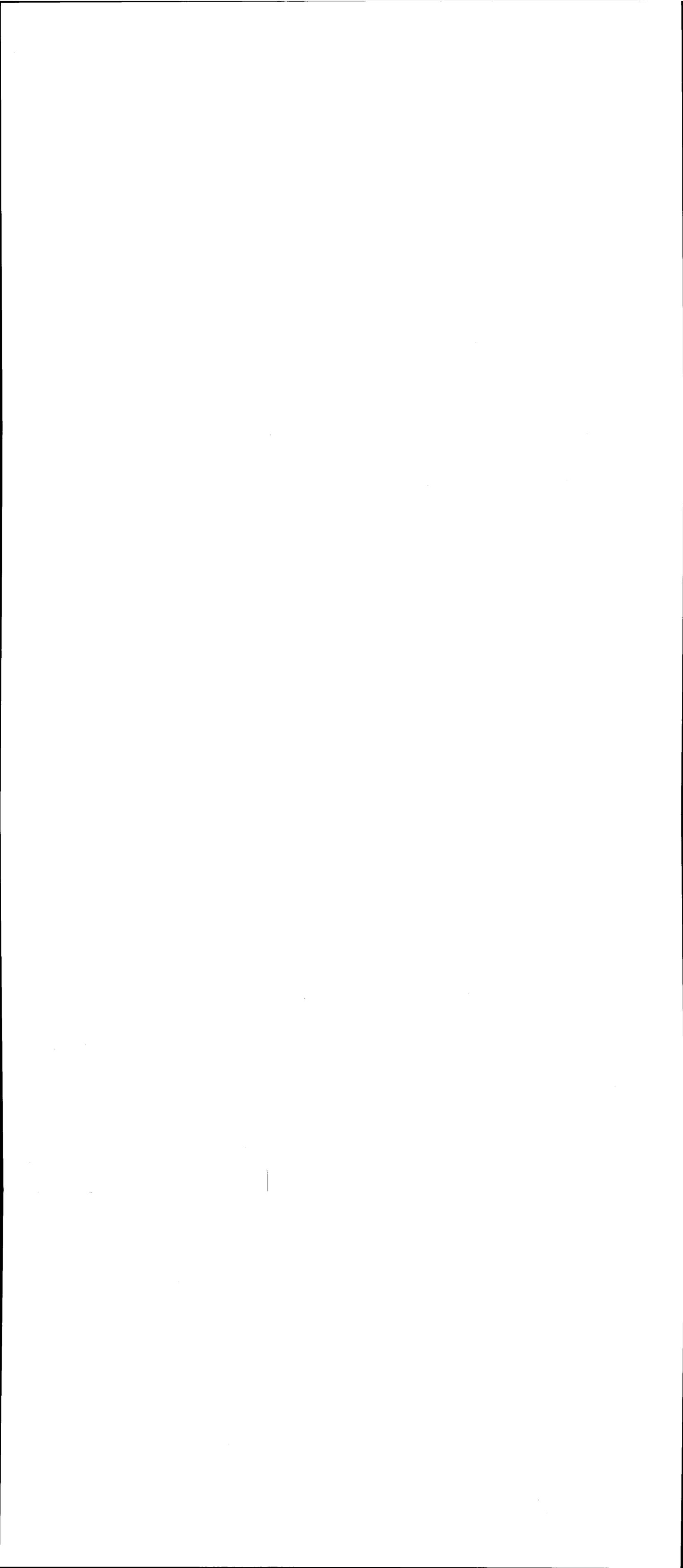
Schema 1



Vitamin B12

Klärschlamm

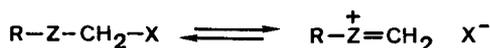
IDENTIFIKATION



II EINFUEHRUNG DER METHYLGRUPPEN AN C-5 UND C-15

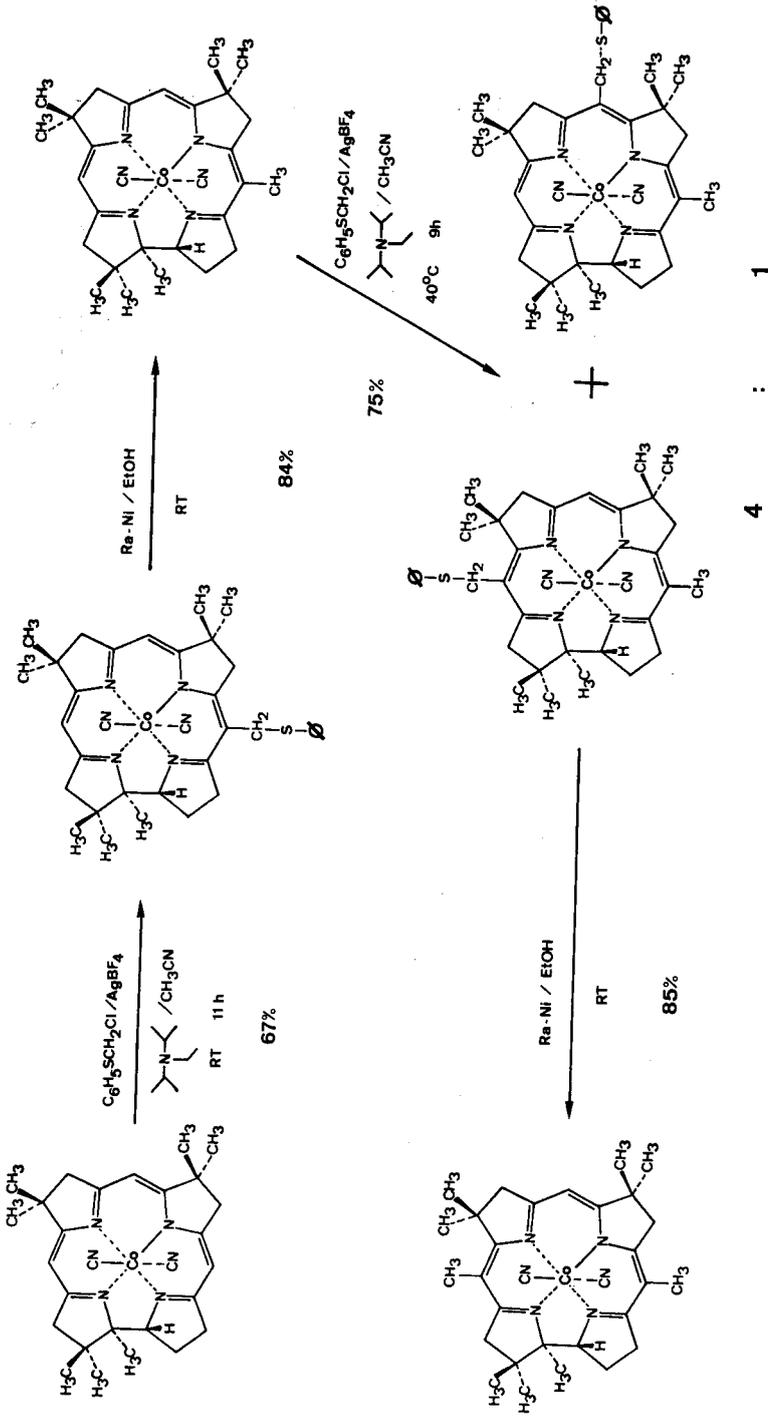
Zu Beginn dieser Arbeit (November 1969) war die Methylierung am Corrinchromophor im Fall der einfachen Modellcorrine bekannt, die von E. L. Winnacker [51] an der ETH im Hinblick auf die Synthese von Vitamin B₁₂ untersucht worden war (Schema 5). Ausser der später noch publizierten Methylierung von Tetradehydrocorrinen, die durch Bromierung und anschliessende Umsetzung mit 'Lithium-dimethyl-kupfer' erfolgte [52], sind ausser den hier diskutierten Arbeiten der beiden B₁₂-Teams an der Harvard und an der ETH auch keine weiteren Versuche bekannt geworden.

Durch die damalige Nichttrennbarkeit von Cobester (7) und 5,15-bis-nor-Cobester (1) (jetzt mit LLC trennbar), war klar, dass die beiden Methylgruppen an C-5 und C-15 nicht direkt eingeführt werden sollten, sondern dass eine Zwischenstufe durchlaufen werden musste, bei der eine leichte Trennung von Edukt und Produkt möglich war. Im weiteren musste infolge des sehr langen Nachschubweges in der synthetischen Reihe alle Vorversuche mit sehr geringen Substanzmengen (ca. 0,3 mg) durchgeführt werden, was praktisch bedeutete, dass nur dann gut gearbeitet werden konnte, wenn die Reagenzien (mit einem 5 bis 10 mal geringeren Molgewicht) im Ueberschuss verwendet werden konnten. Die untersuchten Reagenzien gehörten hauptsächlich dem Strukturtyp der α -Halogen-äther, α -Halogen-thioäther und α -Halogen-aminen an [53].



X = Cl, Br, J

Z = O, S, N



4 : 1

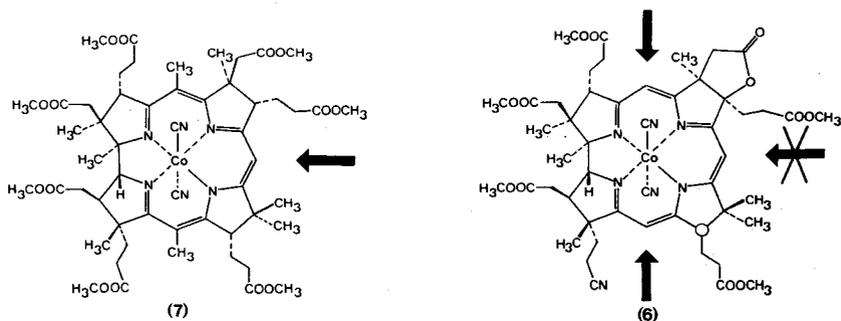
Scheme 5

Durch die entsprechende elektrophile Substitution des Corrinchromophors werden nicht die Methylgruppen, sondern Derivate von Methyläthern, Methylthioäthern oder Methylaminen gebildet, wodurch das Erfordernis der Trennbarkeit erfüllbar ist. Durch einen zweiten Reaktionsschritt können dann die Methylgruppen erhalten werden. Die durchgeführten Versuche sind nachfolgend in zwei Gruppen unterteilt:

- Versuche, die nicht zum Ziele führten (den 'erfolglosen Versuchen'), die aber trotzdem interessante Ergebnisse lieferten.
- Versuche mit Chlormethyläthern; durch Ausarbeitung der Reaktionsbedingungen wurde die Einführung der Methylgruppen an C-5 und C-15 in befriedigender Weise gelöst.

II 1. 'ERFOLGLOSE VERSUCHE'

In der Tabelle 1 sind andeutungsweise die durchgeführten Versuche angegeben, die nicht zum Ziel führten. Als Modellverbindung wurde Cobester (7) verwendet, der am Chromophor nur noch an C-10 substituiert werden kann. Aus den Resultate von E. L. Winnacker wie auch aus HMO-Berechnungen [54] war zu erwarten, dass die Reaktivität an C-10 mit derjenigen an C-5 und C-15 vergleichbar, oder nur geringfügig geringer sein sollte [51]. Die sehr ähnliche Reaktivität konnte durch verschiedene Versuche (vgl. Schema 5) wenn auch nicht quantitativ, so doch qualitativ bestätigt werden. Dass nicht die Reaktivität, sondern die sterische Hinderung der dominierende Einfluss sein sollte, zeigten schon die ersten Versuche, wo die Winnacker'schen Bedingungen auf Cobester (7) angewendet wurden (vgl. Zeile 1 in Tabelle 1).



Figur 6

Zum C-10 befinden sich in β -Stellung beim Cobester (7) drei Substituenten (C-8: Seitenkette d, C-12: 2 Methylgruppen), d. h. die sterische Hinderung ist ähnlich wie am C-5 oder C-15 beim 5, 15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitril (6), an dem die endgültige Substitution durchgeführt werden musste (Fig. 6).

Kommentar zur Tabelle 1

Zeile 1 : Auch bei der Verwendung eines 100-fachen Ueberschusses und bei höheren Temperaturen (bis 100°C) wurden mit Chlormethyl-phenylsulfid und Silbertetrafluorborat keine Substitutionsprodukte des Cobesters (7) isoliert. Die Umsetzung von Chlormethyl-phenylsulfid ohne Silberkatalyse in Sulfolan bei Temperaturen um 120°C lieferte ein komplexes Produktgemisch.

N. Hashimoto konnte später zeigen, dass in Sulfolan bei 95°C mit Chlormethylphenylsulfid neben mindestens 10 weiteren Produkten auch 19% 10-Phenylthiomethyl-cobester (8) isoliert werden können [55].

Die beiden weiteren Varianten der Substitution mit Sulfoniumionen, dem Methylsulfonium-tetrafluorborat des Methylen-diphenyl-disulfids (hergestellt durch Alkylierung des Methylen-diphenyl-disulfids [56] mit Methylmeerweinsalz [57]) und dem 2-Methoxy-1,3-dithiolan (mit und ohne TiCl_4) [58] konnte nur Edukt isoliert werden.

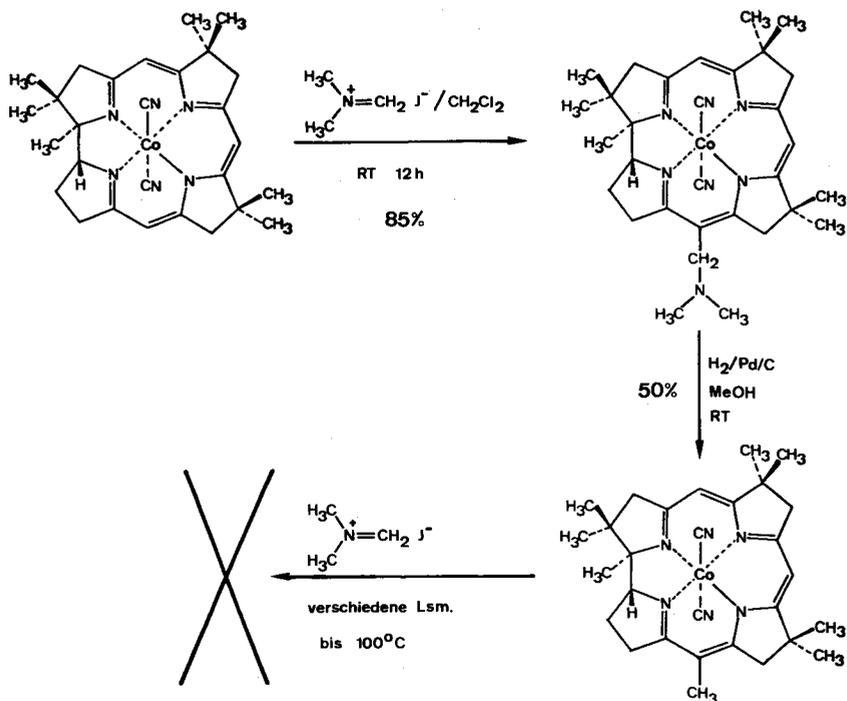
TABELLE 1: 'Erfolgreiche Versuche'

Übersicht über die Substitutionsversuche an C-10 des Cobesters (7)

Zeile	Reagenz	Lösungs- mittel	Temp.	Zeit	Resultat
1	$\text{ClCH}_2\text{SC}_6\text{H}_5 / \text{AgBF}_4$	CH_3CN	60°	16h	Edukt
		Sulfolan	100°	24h	Edukt
	$\text{ClCH}_2\text{SC}_6\text{H}_5$	Sulfolan	95°	14h	19% 10-Phenylthio- methyl-cobester (8) + un- bekannte Gemische *
	$\text{C}_6\text{H}_5\text{SCH}_2\text{SC}_6\text{H}_5$ $\begin{matrix} + \\ \\ \text{CH}_3 \end{matrix} \text{BF}_4^-$	Sulfolan	70°	15h	Edukt
	$\text{CH}_3\text{OCH} \begin{matrix} \diagup \text{SCH}_2 \\ \\ \text{SCH}_2 \end{matrix} / \text{TiCl}_4$	CCl_4	40°	0,5h	Edukt
ohne TiCl_4	Sulfolan	60°	16h	Edukt	
2	$(\text{CH}_3)_2\text{N}=\text{CH}_2 \text{ J}^-$	CH_3NO_2	120°	5h	Edukt
		CCl_4	90°	15h	Edukt
		Benzol	50°	3h	Edukt
	$\text{C}_{14}\text{H}_{29} \begin{matrix} + \\ \diagdown \\ \text{N}=\text{CH}_2 \end{matrix} \text{ J}^-$ $\begin{matrix} \diagup \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$	CCl_4	75°	14h	Edukt
3	$(\text{SCN})_2$	AcOH	RT	14h	95% 10-SCN-Cobester- kristall. * } kein Edukt vgl. Kommentar
	CCl_3SCl	Sulfolan	RT	12h	
	ClCH_2SCl	Sulfolan	RT	12h	
4	$\text{Ti}(\text{OCOCF}_3)_3$	CCl_4	60°	2h	kein Edukt vgl. Kommentar
5	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{HgCH}_2\text{J}$	Benzol	90°	2h	Edukt
		Sulfolan	100°	4h	Edukt
	+ AgBF_4	$\text{ClCH}_2\text{-CH}_2\text{Cl}$	60°	2h	Edukt
6	$\text{CH}_2 \begin{matrix} \diagdown \\ \\ \text{NCl} / \text{AgBF}_4 \\ \diagup \\ \text{CH}_2 \end{matrix}$	CH_3CN	75°	1h	kompl. Gemische vgl. Kommentar

* Versuche von N. Hashimoto [55]

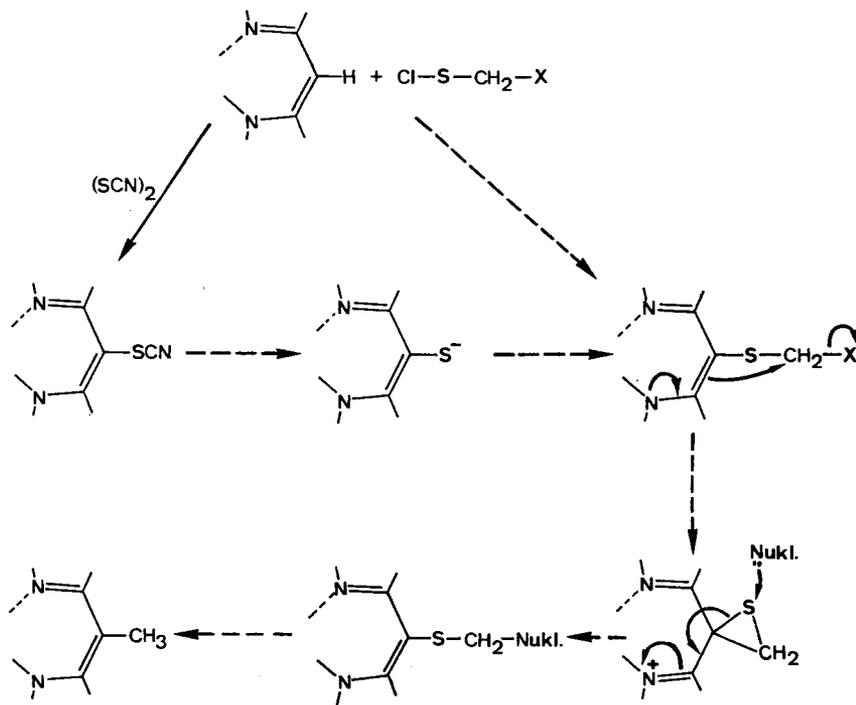
Zeile 2: Das aus dem Jodmethyl-trimethyl-ammoniumjodid durch Thermolyse in Sulfolan bei 150° C erhältliche kristalline Methylen-dimethyl-immonium-jodid, welches speziell für dieses Problem hergestellt worden war, reagiert an dem durch keine Substituenten behinderte C-15 des rac. Dicyano-Co-III-1, 2, 2, 7, 7, 12, 12-heptamethylcorrins glatt und unter milden Bedingungen zum 15-Dimethylamino-derivat [59] (Schema 6, Versuche von N. Hashimoto durchgeführt). Nach der Reduktion zum 15-Methylderivat (nur in vorläufigen Versuchen durchgeführt, vgl. Ausbeute von 50%) konnte aber an den nur durch zwei Methylgruppen in β -Stellung gehinderten C-5 und C-10 keine Substitution mehr erreicht werden.



Schema 6

Es war deshalb auch nicht erstaunlich, dass am noch viel stärker gehinderten C-10 des Cobesters (7) keine Substitution eintrat, obwohl die Versuche auch auf das besser lösliche C₁₄-Analoge des Immoniumions und auf nukleophilere Komplexe wie Co-I-Cobester [16], n-Propyl-cobester [60] (Kobalt-Alkyl-Komplex) und den zum 5,15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid (5) analogen Zinkkomplex [18] ausgedehnt wurden.

Zeile 3: In dieser Versuchsgruppe wurde versucht, die im Schema 7 formulierte Reaktionssequenz zu realisieren. Danach sollte die Methylgruppe nicht durch eine direkte Knüpfung einer C-C-Bindung, sondern via eine Schwefelbrücke eingeführt werden. In einem zweiten, reduktiven Kontraktionsschritt sollte die Methylgruppe erhalten werden.

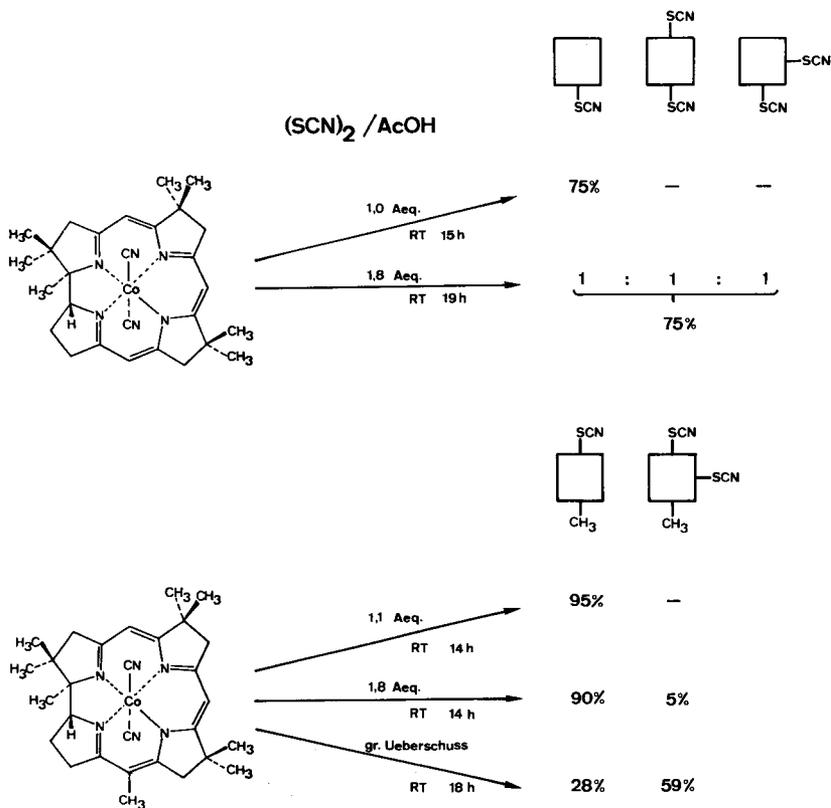


Schema 7

Es wurde versucht, die zur Kontraktion geeignete Spezies auf zwei Wegen zu erhalten:

- Durch vorgängige Einführung der Thiocyanatgruppe und daraus durch Substitution mit einem geeigneten Methylenderivat (evt. via Reduktion zum Thiolat).
- Durch direkte Substitution mit einem geeigneten Sulfenylhalogenid.

Die im Schema 8 dargestellten Reaktionen in der Modellreihe wurden von N. Hashimoto [55] durchgeführt. Vor allem die günstige Orientierung der Substituenten und die milden Reaktionsbedingungen ermutigten eine umfangreiche Untersuchung.



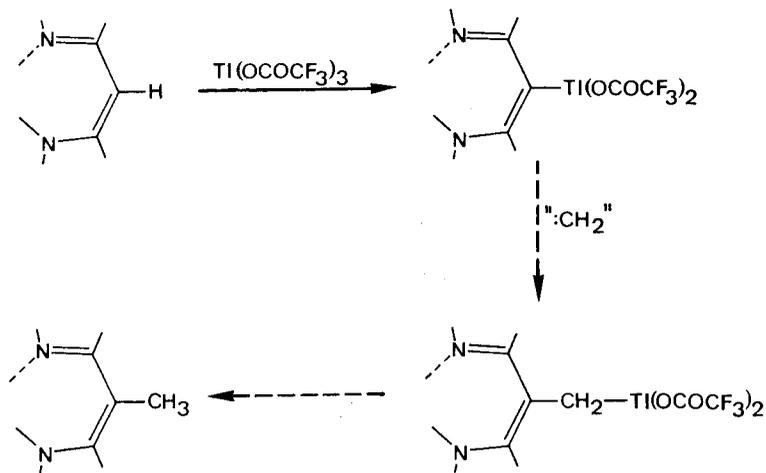
Schema 8

Wie in der Modellreihe konnte auch Cobester (7) leicht mit Dirhodan in Essigsäure substituiert werden, wie die 95%-ige Ausbeute an kristallinem 10-Thiocyanat-cobester zeigt. Ebenso verlief die Substitution mit Sulfonylchloriden [61] (Trichlormethylsulfonylchlorid [62] und Chlormethylsulfonylchlorid [63]) unter milden Bedingungen und auf Grund der Elektronenspektren in guten Ausbeuten*. Hier traten aber bereits die ersten Schwierigkeiten auf, indem die Produkte nicht mehr unverändert chromatographierbar waren. Nach Aufarbeitung (wegen des Kobalt-komplexes mit Cyanid) und Chromatographie konnte immer neben UV/VIS-spektroskopisch ähnlichen Produkten 10-Thiocyanat-cobester erkannt werden. Es war nie möglich, eine für die Kontraktion geeignete Verbindung sicher nachzuweisen. Da auch bei Versuchen zur weiteren Umsetzung der Thiocyanat-corrine nur unklare Resultate erhalten und mit Chlormethyläthern auf Anrieb gute Ergebnisse erzielt wurden, wurde diese 'Schwefelbrückenvariante' wieder aufgegeben.

Zeile 4: Den Thalliumversuchen lag die in Schema 9 skizzierte Idee zugrunde, die nach einem Vortrag von A. McKillop aktuell wurde [64]. Beim Thalliumderivat des Cobesters (7) sollte versucht werden, die bis anhin nicht bekannte Carbeneinschiebungsreaktion zu versuchen. Nach DC und UV/VIS-Spektrum wurde bei 60° C mit Thalliumtristrifluoracetat in CCl₄ ausschliesslich ein als Thalliumderivat betrachtetes Produkt erhalten (UV:zwei sehr breite, ungefähr gleich intensive Banden bei 492 und 335 nm (Benzol)). Bei der nachfolgenden Umsetzung mit Diazomethan während 12 h bei RT zeigte das Elektronenspektrum des Rohprodukts neben den zwei breiten Banden bei 492 und 335 nm drei neue: 2 Schultern zur 492 nm-Bande bei 620 und 578 nm und eine scharfe Bande bei 377 nm. Durch mehrmaliges Chromatographieren konnten ca. 2% dieses, einem C-10-Alkyl-komplex zugeschriebenen Produktes (UV:Erwartungswert=beobachtet) isoliert werden. Da mit den Versuchen mit Chlormethylbenzyläther zu diesem Zeitpunkt bereits Ausbeuten um 30% erzielt worden waren, wurden diese Versuche, obschon die Carbeneinschiebung anscheinend realisierbar war, wieder eingestellt.

* Schwefelsubstituenten an C-10 des Cobesters führten zu einer hypsochromen Verschiebung der α -Bande, während Alkylsubstituenten ein bathochromes UV/VIS-Spektrum zeigten:

Cobester (α -Bande)	591 nm (in Benzol)
10-SCN-Cobester	565 nm
10-Phenylthiomethylcobester	609 nm
10-Methylcobester	619 nm

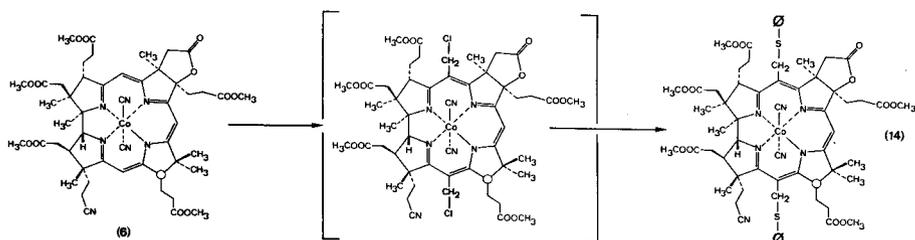


Schema 9

Zeile 5: Mit diesem Quecksilber-methyljodid, als einem auch bei hohen Temperaturen (um 100°C) verwendbaren Carbenreagenz [65], wurde erfolglos versucht, eine Substitution am Corrinchromophor zu erreichen.

Zeile 6: Durch Chloridabstraktion mit Silbersalzen wird aus dem N-Chloraziridin das symmetrische Dimethylenimmoniumion intermediär gebildet [66]. Dieses lineare Ion sollte sich, wegen der zu erwartenden geringen Empfindlichkeit gegen sterische Hinderung, gut zur Substitution eignen. Bei den durchgeführten Vorversuchen konnten aber nur komplexe Gemische isoliert werden, die nicht interpretiert werden konnten.

II 2. SUBSTITUTION MIT CHLORMETHYLAETHERN



Wie in der Uebersicht über die beiden Synthesen bereits erwähnt, konnte das Problem der Einführung der chromophor-gebundenen Methylgruppen durch Alkylierung mit Chlormethylbenzyläther gelöst werden. In der Tabelle 2 sind die durchgeführten Versuche zusammengestellt, wobei die historische Anordnung erlaubt, die Ausbeuteverbesserungen abzulesen, die im Laufe der zwei Jahre erreicht worden sind. Schon der erste Versuch mit Chlormethylbenzyläther und Cobester (7) im Februar 1971 lieferte UV-spektroskopisch ein 10-Alkylderivat, doch konnte dies erst dann einfach isoliert werden, als vorgängig das abgekühlte Reaktionsgemisch mit Thiophenol behandelt worden war. Daraus wurde geschlossen, dass primär ein sehr reaktives Chlormethylderivat gebildet wird. Aus diesen ersten Versuchen wurde durch Variation der Reaktionsbedingungen am Ende (November 1972) bei der elektrophilen Substitution des 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitrils (6) über 50% des gewünschten Disubstitutionsprodukts (14) erhalten. In der Zwischenzeit sind die folgenden Resultate erzielt worden: Unter den Bedingungen, bei denen aus Cobester (7) in ca. 60% Ausbeute 10-Phenylthiomethyl-cobester (8) erhalten wurde, konnte beim Cobester-c-lacton (13) nur Edukt zurückgewonnen werden. Damit war zu hoffen, dass die c-Lactongruppe in den 5,15-bis-nor-Lactonen (3) und (6) vor einer Substitution an C-10 schützen könnte. Bei der Substitution des 5,15-bis-nor-Cobester-c-lactons (3), das als Nebenprodukt bei der Herstellung des authentischen 5,15-bis-nor-Esters (1) angefallen war und als willkommene weitere Modellverbindung verwendet wurde, konnten unter den gleichen Reaktionsbedingungen nur ca. 5% des gewünschten Di-phenylthiomethylactons (12) (neben ca. 28% 'Mono' und 23% Edukt) erhalten werden. Durch Erhöhung der Reaktionstemperatur von 50° auf 75° C war es dann möglich, bis zu einer Ausbeute von 48% zu gelangen (April 1971).

TABELLE 2: Substitution mit Chlormethyläthern

Edukt		Lösungsmittel	Temp.	Zeit	Resultat (Aufarbeitung mit Thiophenol)	Seite
<u>ClCH₂OCH₂C₆H₅</u>						
I	Cobester (7)	Sulfolan	50°	12h	59% 10-Phenylthiomethylcobester (8)	91
	Cobester-c-lacton	Sulfolan	50°	12h	nur Edukt isoliert	(179)
	(3)-(α.α)	Sulfolan	50°	12h	<u>5% (12)</u> , 28%'Mono', 23% Edukt	(100)
	(3)-(α.α)	Sulfolan	75°	42h	<u>48% (12)</u> , 12%'Mono'	97
II	(6)-(α.α/α.β/β.α/β.β)	Sulfolan	75°	42h	<u>12% (14)</u> , 32%'Mono'	(107)
	(6)-(α.α/α.β/β.α/β.β)	Sulfolan	75°	25h	<u>30% (14)</u> , 27%'Mono'	(107)
IV	(6)-(α.α/α.β)	CH ₃ CN	88°	15h	<u>31% (14)</u> , 40%'Mono'	126
V	(6)-(α.α/α.β)	CH ₃ CN/ LiCl	88°	15h	<u>47% (14)</u> , 55% nach Nachalkyl. 'Mono'	146
	(6)-(β.α/β.β)	CH ₃ CN/ LiCl	88°	15h	45% (16) - (β.α/β.β)	174
	Cobester-c-lacton	CH ₃ CN/ LiCl	88°	15h	50% Edukt, Rest bathochr. UV	178
<u>ClCH₂OCH₃</u>						
III	(3)-(α.α)	Sulfolan	74°	36h	<u>54% (12)</u>	(108)
	(6)-(α.α/α.β)	--	82°	6h	<u>48% (12) !</u> (Black Friday)	110

- (3) = 5, 15-bis-nor-Cobester-c-lacton
- (6) = 5, 15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitril
- (12) = 5, 15-Di-phenylthiomethyl-cobester-c-lacton
- (14) = 5, 15-Di-phenylthiomethyl-cobester-c-lacton-f-nitril
- (16) = 5-nor-15-Phenylthiomethyl-cobester-c-lacton-f-nitril

'Mono' = monosubstituierte Produkte + Nebenprodukte mit ähnlichem DC-R_f
(vgl. S.162)

- I : Febr. - April 1971
 - II : Mai/Juni 1971
 - III : Juni/Juli 1971
 - IV : Jan./Febr. 1972 ('New Delhi')
 - V : endgültige Reaktionsbedingungen Ende 1972
-

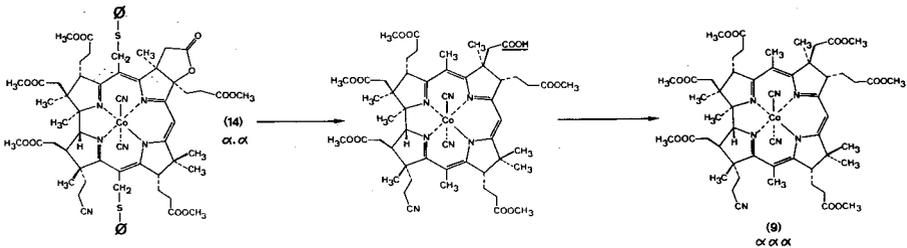
Erstaunlicherweise fiel beim Wechsel vom Lacton-ester (3) zum Lacton-f-nitril (6) die Ausbeute auf 12%, und in ca. 10 Versuchen konnte die Ausbeute durch Verkürzung der Reaktionszeit bis auf 30% angehoben werden. Der Grund dafür, dass durch kürzere Reaktionszeiten höhere Ausbeuten erzielt werden, liegt darin, dass das primäre Dichlormethylderivat unter den Reaktionsbedingungen nicht stabil ist und bei sehr langen Reaktionszeiten deshalb unbekannte Nebenprodukte erhalten werden. Durch die befriedigende Ausbeute im Falle des 5, 15-bis-nor-Lacton-esters (3) glaubte man Anfang Juni 1971 daran, die Synthese mindestens bis zum f-Amid (10) vor dem IUPAC-Kongress in Boston (26. Juli 1971) beenden zu können. Es wurde deshalb in sehr hektischer Art und Weise versucht, die Ausbeute der Substitution zu erhöhen. Dies gelang dann auch scheinbar, indem mit reinem Chlormethylmethylether 48% des Disubstitutionsprodukts erhalten wurden. Erst nach der nachfolgenden Reduktion und nachdem sehr viel Material durchgezogen worden war, wurde am Freitag, den 9.7.71 (Black Friday), erkannt, dass während der Substitutionsreaktion auch die f-Nitrilgruppe in eine Methyl-estergruppe überführt, und damit die spezielle Funktionalisierung der Seitenkette f verloren war (vgl. die ausführliche Diskussion auf S.107). Nach diesem Unfall und nachdem auf dem langen Nachschubweg wieder Material bereitgestellt worden war, konnte erneut versucht werden, die Ausbeute der

Alkylierung mit Chormethylbenzyläther zu verbessern. Beim Wechsel des Lösungsmittels von Sulfolan auf Acetonitril (Ende 1971) und bei der Zugabe von Lithiumchlorid (Frühling 1972) wurde je eine Erhöhung der Chromophorausbeute erreicht (von ursprünglich ca. 60% auf 75 bis 80%). Der Hauptanteil der 'monosubstituierten Produkte' liess sich dann auch noch nachalkylieren. Bei Betrachtung der Ausbeutezahlen für diese Produkte in der Tabelle 2 muss beachtet werden, dass viele Nebenprodukte, deren Konstitutionen nicht bekannt sind, einen ähnlichen $DC-R_f$ -Wert besitzen, wie z.B. das eigentliche Monosubstitutionsprodukt (15) (15-nor-5-Phenylthiomethyl-cobester c-lacton-f-nitril). Eine ausführliche Diskussion der endgültigen Reaktionsbedingungen ist auf S. 178 im experimentellen Teil zu finden.

In Kurzform lassen sich die Eigenschaften der Reaktion wie folgt charakterisieren (Alkylierung des 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitrils (6) mit Chlormethylbenzyläther in Gegenwart von Lithiumchlorid, Aufarbeitung mit Thiophenol) :

- Während der Reaktion tritt Isomerisierung an C-13 ein.
- C-3- β -Lactone werden nur an C-15 substituiert.
- Bei C-3- α -Lactonen besteht der Hauptanteil der monosubstituierten Produkte aus dem C-5 substituierten Komplex. Es wird vermutet, dass die Substitution an C-5 und an C-15 nur von oben (Seite der Essigsäureseitenketten) erfolgen kann, deshalb ist an C-15 nur jeweils ungefähr die Hälfte der Komplexe für eine Substitution zugänglich (Isomerisierung an C-13 !).
- Beim Zusatz von Lithiumchlorid konnte keine Beschleunigung beobachtet werden, hingegen verlief die Reaktion sauberer (höhere Chromophorausbeute). Möglicherweise stabilisiert das Lithiumchlorid einen hexacoordinierten Chloro-Co-III-Komplex unter den sauren Reaktionsbedingungen.
- Mit Friedel-Crafts-Katalysatoren wurde entweder keine Reaktion beobachtet, oder dann direkt komplexe Produktgemische.
- Die c-Lactongruppe bildet einen genügenden Schutz vor einer Substitution an C-10, höchstens 0,5%, werden auch an C-10 alkyliert.
- Bei der Aufarbeitung ist nur eine sehr kurzzeitige Behandlung mit Thiophenol nötig, um vom vermuteten Di-chlormethyl-derivat zur isolierten Di-phenylthiomethyl-Verbindung zu gelangen.

II 3. REDUKTION



Als Modellverbindungen für die Erarbeitung der Reduktionsbedingungen standen im Frühling 1971 das Cobester-c-lacton (13) und der 10-Phenylthiomethylcobester (8) zur Verfügung. Wie bei den Modellcorrinen von E. L. Winnacker [51] wurde die Reduktion mit Raney-Nickel versucht. Bei der Reduktion des Cobester-c-lactons- (13) wurde in Ausbeuten von ca. 65% die Cobester-c-säure erhalten und nach anschließender, praktisch quantitativer Veresterung mit Diazomethan reiner $\alpha\alpha\alpha$ -Cobester. Aus dem 10-Phenylthiomethylcobester (8) gelang es, in Ausbeuten bis 75%, 10-Methylcobester zu isolieren. Bei den Vorversuchen unter den gleichen Bedingungen mit dem 5,15-Di-phenylthiomethylcobester-c-lacton (12), die im Mai 1971 in Angriff genommen wurden, konnten nur Ausbeuten von 25-30% an Cobester (7) (nach Veresterung mit Diazomethan) erhalten werden (vgl. S. 99). Durch Variation der Reaktionsbedingungen der Raney-Nickel-Reduktion des 5,15-Di-phenylthiomethylcobester-c-lactons (12) wie des 5,15-Di-phenylthiomethylcobester-c-lacton-f-nitrils (14), die vor dem IUPAC-Kongress in Boston (Juli 1971) durchgeführt wurden, liess sich die Ausbeute scheinbar bis auf 70% steigern. Während bei den anfänglichen Versuchen nach DC nur eine Zone erhalten wurde, wurden unter den neuen (milderen) Bedingungen beim Ester (12) wie beim f-Nitril (14) nach DC zwei, und nach dem gerade eingeführten LLC, sogar drei Zonen isoliert. Die UV/VIS, IR- und MS-Spektren der drei Zonen waren untereinander so ähnlich (z. B. im MS gleiche Basepeaks!), dass der Zone 1 und 3 des LLC's isomere Komplexe (bezüglich Konfiguration an C-3 und C-8) zur Zone 2 zugeschrieben wurden. Zone 2 entsprach, wie eindeutig gezeigt wurde, dem C-13-Epimerengemisch des Cobesters (7) (bei der Reduktion des 5,15-Di-phenylthiomethylcobester-c-lactons- $\alpha, \alpha/\alpha, \beta$ -(12)) resp. dem Cobester-f-nitril (9) (bei der Reduktion des 5,15-Di-phenylthiomethylcobester-c-lacton-f-nitrils- $\alpha, \alpha/\alpha, \beta$ -(14)). Das Material der Zonen 1 und 3 konnte aber weder basisch noch unter sauren Bedingungen zu Material der entsprechenden Zone 2 isomerisiert werden.

Anfang 1972, als für den IUPAC-Kongress in New Delhi erneut die Beendigung der B_{12} -Synthese angestrebt wurde, war die Situation im wesentlichen unverändert; sie war eher noch schlechter geworden. Da das alte Raney-Nickel nicht mehr genügend aktiv war, musste neues zubereitet werden. Dabei war es trotz verschiedener Versuche nicht mehr möglich, die Qualität des ursprünglichen wieder zu erhalten. Neben den zwei DC-Zonen wurde nun noch Material erhalten, das einen sehr geringen R_f -Wert zeigte und bei dem aufgrund des IR-Spektrums anstelle der f-Nitrilgruppe eine Aminogruppe vorlag. Damit war eindeutig klar, dass nach einer neuen Reduktionsvariante gesucht werden musste. Es war dann das Verdienst der Harvard-Gruppe, die erstmals die Reduktion mit Zink in Essigsäure versuchte. Die gewünschte Reduktion verlief aber zu langsam und konkurrierte mit der irreversiblen Zerstörung des Corrinchromophors. Die präparative Lösung wurde in den zwei Laboratorien auf im Detail verschiedene Weise gefunden:

- Harvard: Durch Zugabe von ca. 1% Magnesium zum Zinkstaub konnte die gewünschte Reduktion gegenüber der Zerstörung des Corrins beschleunigt werden. Die gleiche Erfahrung war früher auch von B. Zagalak bei der Reduktion zu Kobalt-I-komplexen gemacht worden [67].

- ETH: Nach Vorversuchen mit Aluminium-amalgam, Natriumamalgam, und nachdem die Resultate der Harvard-Gruppe in bezug auf die Ausbeute nicht reproduziert werden konnte (Der Grund lag vermutlich in der ungleichen Korngrösse des Zink- und Magnesiumpulvers) wurde mit Zinkamalgame in Essigsäure die besten Resultate erzielt.

Bei allen Zinkreduktionen wurde nun wieder wie bei der ersten Raney-Nickel-Reduktion der Di-phenylthiomethyl-derivate nur eine DC-Zone (auch im LLC nur eine Zone) erhalten. Danach war es Anfang 1973 auch noch möglich, die Konstitution der beiden Zonen 1 und 3 der Raney-Nickel-Reduktion zuzuordnen. Bei der Zone 1 handelt es sich um einen nur teilweise reduzierten Komplex, vornehmlich um den 15-Phenylthiomethyl-cobester (resp. f-Nitril). Durch Zinkamalgame-Reduktion konnte daraus leicht das der Zone 2 entsprechende Material gewonnen werden. Bei der Zone 3 handelt es sich mehrheitlich um den 15-Methoxymethyl-cobester (resp. f-Nitril) zusammen mit dem 5-Methoxymethyl-Isomeren. Die Raney-Nickel-Reduktion war in Methanol durchgeführt worden. Dabei wurde anscheinend ein Teil der Phenylthiomethylgruppen nicht reduziert, sondern durch Methoxid substituiert. Auch diese Zone konnte Anfang 1973 durch Reduktion mit Zinkamalgame in die entsprechende Zone 2

überführt werden. Obschon also beim Raney-Nickel nicht vollständig reduzierte Produkte auftraten, war zum Beispiel bei den 'New Delhi'-Versuchen bereits die f-Nitrilgruppe zur Aminogruppe reduziert worden.

In wenigen Stichworten ist die Zinkamalgame-Reduktion durch die folgenden Eigenschaften charakterisiert (vgl. die Diskussion auf S. 184 im experimentellen Teil):

- Während der Reduktion wechselt die Farbe der Lösung rasch von violett über gelb zu einem ganz schwachen grün-gelb. Vermutlich wird das zentrale Kobalt-atom im Komplex zu Co-I reduziert (vgl. die schwach grüne Farbe des Co-I-Cobesters und das entsprechende UV-Spektrum von L. Werthemann [16]).

- Der c-Lacton-ring wird vermutlich bei dieser Reduktion des Kobaltatoms direkt geöffnet, wie die sehr leichte Reduktion des Cobester-c-lactons und das Auftreten von nur C-8- α -Isomeren nach der Reduktion zeigen.

- An C-13 und C-3 findet keine Isomerisierung statt.

- Die Veresterung der c-Säure mit Diazomethan verläuft ohne Schwierigkeiten.

III IDENTIFIKATION

Sobald das Corrinsystem aufgebaut war, wurde eine Identifikation des synthetischen Materials mit einem natürlichen Produkt angestrebt. Bei dem von P. Schneider erhaltenen 5,15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid (5) wurde dies mit dem 5,15-bis-nor-Cobinamid von K. Bernhauer versucht. Vor allem aus der Tatsache, dass das totalsynthetische kristalline 5,15-bis-nor-Cobester-C-13-Epimerengemisch sich in den spektroskopischen Eigenschaften nur sehr geringfügig vom $\alpha\alpha\alpha$ -Isomeren aus dem 5,15-bis-nor-Cobinamid unterscheidet, verlangte nach einer sehr scharfen Identifikation am Ende der Totalsynthese von Vitamin B₁₂. Von Anfang an war klar, dass eine eindeutige Identifikation auf der Stufe der nur noch in sehr polaren ('anorganischen') Lösungsmitteln löslichen Cobyrssäure sehr schwierig sein würde (Zusätzlich kann die Cobyrssäure noch in zwei Formen (a,b) kristallisieren: a) Aquo oben, Cyano unten, b) Aquo unten, Cyano oben. [68], [38]. Die Lösung, die sich geradezu aufdrängte, vor allem nachdem die natürliche Konfiguration der Seitenketten des Cobesters (7) durch eine Röntgenstrukturanalyse nachgewiesen war [69], war die spezielle Funktionalisierung der Seitenkette f des Cobesters (7), sodass eine Identifikation mit der synthetischen Reihe erreichbar war. Diese Möglichkeit wäre wahrscheinlich ein Wunsch geblieben, wenn nicht eine neue Trennmethode realisiert worden wäre. Von den durch die partielle Ammonolyse des Cobesters anfallenden vier Monoamide der Propionsäureseitenketten bilden deren drei (b,d und f) dünnschichtchromatographisch eine schmale, einheitliche Zone. Sie konnten nur durch Anwendung der Hochdruck flüssig-flüssig Verteilungschromatographie (LLC) getrennt werden. Die dadurch mögliche Herstellung und Auftrennung der beiden C-13-Epimeren des Cobester-f-amids (10) und des Cobester-f-nitrils (9) erlaubte eine zweistufige Identifikation der totalsynthetischen Reihe und ermöglichte ferner, die Synthese partialsynthetisch bis zur Cobyrssäure voranzutreiben, was vor allem den Nachschub erleichterte.

Im Juli 1971 (Boston-Kongress) war es das erste Mal möglich gewesen, nachdem kurz zuvor (Mai 1971) die LLC-Maschine von J. Schreiber verfügbar geworden war, das synthetische f-Amid und neo-f-Amid an der ETH nach UV und chromatographischem Verhalten (LLC) zu identifizieren [39]. Diese unvollständige Identifikation konnte vor dem New Delhi-Kongress (Febr.1972) erweitert werden, indem die damals vorhandenen 180 γ an

synthetischem f-Amid (10) kristallisiert und nach UV, NMR (Fourier-Transform), CD, LLC und der Kristallform identifiziert werden konnten. (vgl.S.136)

Nach Ausarbeitung der endgültigen Reaktionsbedingungen war es dann Ende 1972/Anfang 1973 beiden Gruppen möglich, eine scharfe Identifikation auf beiden Stufen (f-Nitril und f-Amid) mit jeweils beiden C-13-Epimeren durchzuführen (vgl.S.187 und 212)

Daneben konnte die Partialsynthese der Cobyrsäure und deren Identifikation praktisch unabhängig vorangetrieben werden. Für den New Delhi-Kongress wurde von der Harvard-Gruppe eine erste Identifikation durchgeführt, rund ein Jahr später erfolgte in beiden Laboratorien die endgültige Identifikation [34], [38].



EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeine Bemerkungen

Mikroanalysen: Ich danke Herrn W. Manser für die Durchführung der Analysen.

UV-Spektren: Routinespektren: Perkin-Elmer-Spektrophotometer 402 (vgl. S. 51)

Analytische Spektren: Cary-Spektrophotometer Modell 14

Im allgemeinen waren die Intensitäten der Banden auf PE 402 um 5% geringer als auf Cary 14.

Bandenpositionen in nm, ϵ -Werte in Klammern. Bei nur qualitativ aufgenommenen Spektren wird die höchste Bande mit dem Relativ- ϵ -Wert von 1,00 bezeichnet.

max = Maximum, min = Minimum, sh = Schulter.

γ/α = Verhältnis der Intensitäten der γ zur α -Bande (vgl. S. 51)

Verwendete Lösungsmittel:

Benzol, p.a. Merck,

Methanol (Fluka puriss) unter Zugabe von 0,02% HCN oder 0,01% KCN (g/Vol).

IR-Spektren: Perkin-Elmer Gitterspektrographen PE 257 und 215

(vgl. S. 56) Für die Aufnahmen auf dem Gerät PE 125 möchte ich Herrn Hediger danken.

Geschätzte Bandenintensitäten: s = stark, m = mittel
Bandenpositionen in cm^{-1} w = schwach

Lösungsmittel: Chloroform, p.a. Merck und

Tetrachlorkohlenstoff, p.a. Merck, beide

Lsm. vor Gebrauch durch bas.Alox I filtriert.

NMR-Spektren: Varian Spektrometer HA-100 (100 MHz), wurden andere Geräte verwendet, so ist dies im Text explizite erwähnt.

Chemische Verschiebungen in ppm bezogen auf Tetramethylsilan als internen Standart.

s = Singlett, m = Multipllett

Ich danke Fr. J. Buhrow für die Aufnahme der Spektren.

MS-Spektren:
(vgl. S. 59)

Massenspektrograph Hitachi RMU-6M

Goldobjektträger

Di = Direkt-Einlass, daneben wird die Zuführtemperatur (0° C) angegeben.

Intensitäten der Signale oberhalb $m/e = 840$ bezogen auf das intensivste Signal.

Herrn P.D. Dr. J. Seibl und Frau L. Golgowski möchte ich für die Aufnahme und Interpretation der Spektren danken.

CD-Spektren:
(vgl. S. 56)

Cary 60

Lage der Extrema in nm, $\Delta\epsilon$ -Werte in Klammern. Der Wert [0.0] (in eckigen Klammern) bezeichnet einen Schnittpunkt mit der Basislinie.

Lösungsmittel: Methanol, Fluka, puriss (Zugabe von 0,02% HCN oder 0,01% KCN)

Ich danke Frau Dr. E. Boedefeld und Herrn R. Giger für die Aufnahme dieser Spektren.

ORD-Spektren:

vgl. CD

Lage der Extrema in nm, molekulare Drehwerte in Klammern.

Schmelzpunkte:

Bestimmt auf einem Mikroskop-Kofler-Block, nicht korrigiert

LLC:

vgl. S. 61, angegeben wird das Chromatographie-system (S I, II oder III), die verwendete Kolonne (Kol. A, B oder C) und die Durchflussmenge in ml/h. Für die Substanz die Retentionszeit R_t , die Bodenzahl N (für 50 cm Säule) und der Kapazitätsfaktor k' . (Definitionen auf S. 62)

Dünnschicht-

chromatogramm: Merck Fertigplatten Kieselgel 60 F₂₅₄, 0,25 mm Schicht-
DC dicke, entwickelt im System Hexan: Isopropanol: Methanol = 5:2:1 unter Zusatz von 0,03% (gr/Vol) HCN oder 0,1% Acetoncyanhydrin.
In Klammern wird der Relativ-R_F-Wert zu Cobester (7) angegeben.

Dickschicht-

chromatogramm Platten: 20x20 cm, Schichtdicke ca. 1mm, Kieselgel H nach Stahl (für die Dünnschichtchromatographie, ohne Gipszusatz oder Indikatoren) Merck. Platten aktiviert während 12 h bei 120° C, aufbewahrt im Labor. Gleiches Entwicklungssystem wie DC, normalerweise dreimal entwickelt (zwischen den Entwicklungen Platte mit Stickstoff getrocknet). Bei abgebildeten Chromatogrammen wird neben dem Pfeil, der auf die Frontlinie zeigt, die Anzahl der Entwicklungen angegeben.

Rotovap:

Wasserbadtemperatur: 35 - 40° C
Kühlwassertemperatur: 0 - 5° C

Nach dem Absaugen der Lösungsmittel wurde das Wasserstrahlvakuum durch Spülen der Apparatur mit Stickstoff aufgehoben.

Lösungsmittel: Soweit im Text keine weiteren Angaben erfolgen, wurden die folgenden Lösungsmittel in der hier angegebenen Qualität verwendet:

Aceton: Merck p.a.

Acetoncyanhydrin: Fluka pract. dest. bei 13 Torr

Acetonitril: dest. P_2O_5 , dest. K_2CO_3 (beide unter Argon)

Benzol: Merck, kristallisierbar

Chloroform: Merck p.a. vor Gebrauch durch bas. Aloxi I filtriert.

Diäthyl-äther: Fluka puriss (über Na)

Essigsäure: Merck p.a.

Hexan: dest. P_2O_5

Isopropanol: dest. Al-isopropylat (Fluka pract.) unter N_2 .

Methanol: Fluka puriss (absolut und acetonfrei)

Methylacetat: dest. Sikkon

Methylenchlorid: dest. Sikkon, vor Gebrauch durch bas. Aloxi I filtriert

Tetrachlorkohlenstoff: Merck p.a.

I UEBERSICHT UEBER DIE SPEKTROSKOPISCHEN EIGENSCHAFTEN VON DERIVATEN DES COBYRINSAEURE-HEPTAMETHYLESTERS

ELEKTRONENSPEKTREN (UV/VIS) (im allgemeinen mit UV abgekürzt)

(Für das UV-Spektrum des Cobesters vgl. L. Werthemann [16])

Die Elektronenspektren der Dicyano-Co-III-komplexe des Cobyrynsäureheptamethylesters sind in ihrem generellen Verlauf sehr ähnlich, als Beispiel ist hier dasjenige des Cobester-c-lactons (13) abgebildet (Abb. 1):

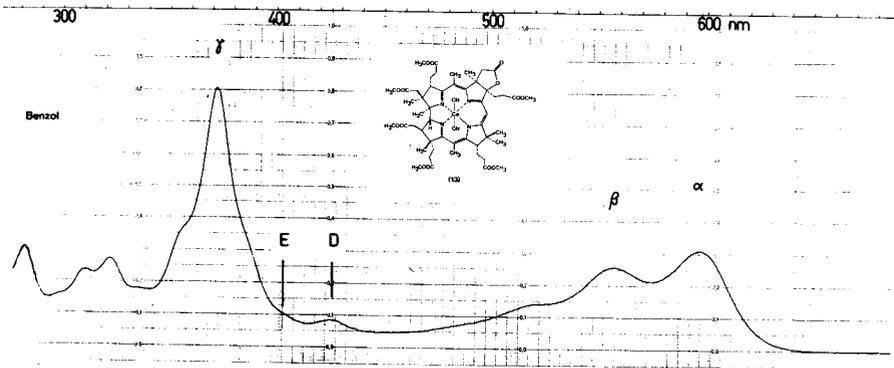
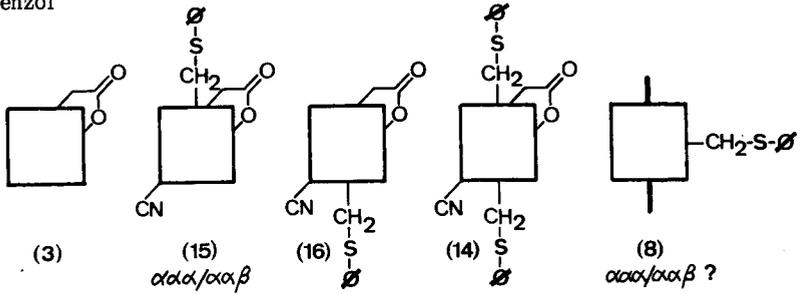


Abb. 1

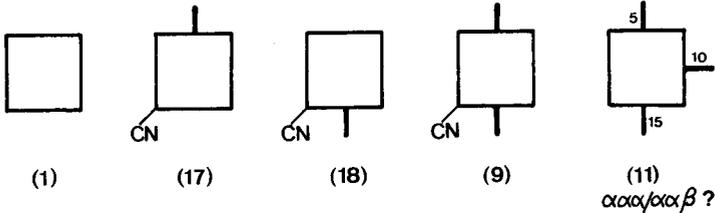
Die Bezeichnung der Banden entspricht derjenigen, die in der Literatur allgemein angewendet wird [70]. In dieser Arbeit war neben der Position der α -Bande vor allem die verschiedene Polarisationsrichtung der α und γ -Bande von Bedeutung. Die Polarisationsrichtung der α -Bande, und damit auch diejenige der weiteren vibratorischen Uebergänge (β -Bande und die weiteren Schultern nach kürzeren Wellenlängen), verläuft durch C-5 und C-15, während diejenige der γ -Bande durch C-10 geht (C₂-Achse des Chromophors [71]). Bei der Alkylierung des Corrinchromophors werden gegenüber dem Spektrum des Edukts bei der stufenweisen Einführung der chromophor-gebundenen Methylgruppen die folgenden Veränderungen beobachtet:

1. Alle Banden werden bathochrom verschoben, der VIS-Teil des Spektrums am meisten.
2. Die Phenylthiomethylgruppen des primären Alkylierungsschrittes beeinflussen vor allem die Uebergänge, in deren Polarisationsrichtung sie liegen. Dadurch wird das Verhältnis der Intensitäten der α zur γ -Bande verändert, wie die folgende Uebersicht zeigt (wenn immer möglich wurden die $\alpha\alpha\alpha$ -Isomere der verschiedenen Verbindungen angegeben, über die Unterschiede in den UV-Spektren der C-13-Epimere vgl. unten). Zur Darstellung der Verbindungen wird eine vereinfachte Schreibweise verwendet.

Lsm. Benzol



α -Bande	575	584	592	600	609 nm
γ -Bande	361	367	369	373	379 nm
γ/α	2,18	1,83	1,74	1,47	3,04



α -Bande	570	581	584	594	619 nm
γ -Bande	362	368	369	375	379 nm
γ/α	2,22	2,58	2,42	2,52	2,51

Aus dieser Darstellung können die folgenden Eigenschaften herausgelesen werden*1:
 - Die Methylgruppen an C-5 und C-15 führen zu einer ähnlichen bathochromen Verschiebung des Spektrums, eine Methylgruppe an C-10 aber zu einer bedeutend stärkeren (α -Bande):

Methyl an C-5:	11 nm ((17) gegenüber (1))
Methyl an C-15:	14 nm ((18) gegenüber (1))
Methyl an C-5 und C-15:	24 nm ((9) gegenüber (1))
Methyl an C-10:	27 nm ((11) gegenüber (7))

*1) vgl. die analogen Resultate von E. L. Winnacker an den Derivaten des Dicyano-Co-III-1,2,2,7,7,12,12-heptamethylcorrins [51].

- Die Phenylthiomethyl-substituenten (primärer Alkylierungsschritt) an C-5, C-10 und C-15 zeigen verschiedene bathochrome Verschiebungen gegenüber dem an dieser Stelle unsubstituierten Komplex (α -Bande):

Phenylthiomethyl an C-5 : 9 nm ((15) gegenüber (3):9 nm/(14) gegenüber (16):8 nm)
Phenylthiomethyl an C-10 : 18 nm ((8) gegenüber (7))
Phenylthiomethyl an C-15 : 17 nm ((16) gegenüber (3):17 nm/(14) gegenüber (15):16 nm)

Die Reduktion der Phenylthiomethylgruppen an C-5 und C-15 zu den Methylgruppen führt nur zu einer geringfügigen Verschiebung des Spektrums, während die Reduktion des 10-Phenylthiomethyl-substituenten zu einer starken bathochromen Verschiebung führt. Dabei ist berücksichtigt, dass die Reduktion des c-Lactons eine hypsochrome Verschiebung um ca. 5 nm ergibt (von (3) nach (1):5 nm, von (13) nach (7):6 nm):

Der Uebergang von der Phenylthiomethyl- zur Methyl-gruppe führt zu den folgenden Verschiebungen der α -Bande:

C-5: 3 nm zwischen (15) und (17) - Lactonbeitrag von 5 nm = + 2 nm Verschiebung
C-10: zwischen (8) und (11) = + 10 nm Verschiebung
C-15: 8 nm zwischen (16) und (18) - Lactonbeitrag von 5 nm = - 3 nm Verschiebung

- Liegt der (oder beide) Phenylthiomethyl-substituent in der Achse C-5/C-15, so ist das γ/α -Verhältnis kleiner, liegt er in der C₂-Achse durch C-10, ist es grösser (Polarisationsrichtungen). Bei den Verbindungen mit den chromophor-gebundenen Methylgruppen (d.h. nach der Reduktion) ist es mehr oder weniger konstant.

Mit Hilfe dieser Gesetzmässigkeiten konnten verschiedene Nebenprodukte provisorisch zugeordnet werden.

Unterschiede bei den C-13-Epimeren (neo - normal)

Bei den Cobester-komplexen (5,15-Dimethyl) werden, wie von R. Bonnett [17] gezeigt wurde, zwischen den beiden C-13-Epimeren beträchtliche Unterschiede beobachtet (vgl. z.B. die Spektren des Paares f-Nitril/neo-f-Nitril (S. 190)). Während im C-13- α -Komplex die α und β -Bande im UV-Spektrum durch ein Minimum voneinander getrennt erscheinen und anschliessend gegen kürzere Wellenlängen nur noch undeutliche Schultern erkennbar sind, findet man beim neo-Isomeren eine breitere α -Bande, die β -Bande erscheint nur noch als Schulter und die nächste Bande bei kürzeren Wellenlängen kann dafür als eigentliche, wenn auch schwache, Bande erkannt werden. Die Strukturierung des übrigen Teils des Spektrums (450 - 280 nm) ist in beiden Fällen sehr ähnlich.

Quantitativ werden folgende Unterschiede beobachtet:

α -Bande: 1-2 nm bathochrom verschoben beim neo-Isomeren
 γ/α -Verhältnis: im neo-Fall geringfügig grösser, z.B. 2,62 beim neo-f-Nitril gegenüber 2,52 beim f-Nitril
 ϵ -Werte : Generell liegen diese beim neo-Komplex tiefer: *2
z.B. f-Nitril: α -Bande:11'800, γ -Bande:29'900
Lsm: Benzol
neo-f-Nitril: α -Bande: 9'800, γ -Bande:25'600

Bei den 5,15-bis-nor-Cobester-komplexen findet man nur sehr geringfügige Unterschiede zwischen den beiden C-13-Epimeren (vgl. die Spektren der Isomere des 5,15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid-f-nitrils (4) [35] und die kaum merklichen Unterschiede zwischen dem synthetischen (C-13-Gemisch) und dem authentischen 5,15-bis-nor-Cobester (1) (S.82)). Bei den 5-nor-Cobester-f-nitrilen (18) und den 15-nor-f-Nitrilen (17) werden ähnliche Unterschiede in den Spektren der C-13-Epimere beobachtet, wie bei den Cobester-f-nitrilen (9) (5,15-Dimethyl) (vgl. S. 200).

ϵ -Werte:

Bei den verwendeten Substanzmengen konnte im allgemeinen nicht mehr abgewogen werden, die Mengen wurden deshalb spektroskopisch bestimmt. Da lange nicht in allen Fällen die ϵ -Werte bestimmt werden konnten (ölige Substanzen lieferten normalerweise ϵ -Werte, die ca. 15% unter dem Erwartungswert lagen) musste mit hypothetischen ϵ -Werten gearbeitet werden. Alle Derivate des Cobesters (C-13- α , 5,15-Dimethyl) zeigten innerhalb der Fehlergrenze von ca. 5% gleiche ϵ -Werte, ebenso alle neo-Cobesters. Es wurde deshalb mit den entsprechenden Durchschnittswerten gerechnet (vgl. Uebersicht). Bei den 5,15-bis-nor-Cobester-komplexen wurde bei der synthetischen Probe (C-13-Epimerengemisch) kein signifikanter Unterschied zur authentischen beobachtet (vgl. S.82), und es wurde mit den gleichen ϵ -Werten für beide Epimere gerechnet. Von den Substitutionsprodukten (mit Phenylthiomethyl substituierte Komplexe) konnten die ϵ -Werte des α,α -Isomeren des 5,15-Di-phenylthiomethyl-cobester-c-lacton-f-nitrils (14) bestimmt werden, die ϵ -Werte der weiteren Produkte wurden danach nach ihrem γ/α -Verhältnis zwischen demjenigen des Cobesters und demjenigen des Disubstitutionsprodukts (14) angenommen. Die folgende Uebersicht gibt die zur Mengenberechnung verwendeten ϵ -Werte an, diejenigen, die experimentell gesichert sind, sind unterstrichen.

*2) ϵ -Wert des kristallinen Cobesters: $\epsilon(C_6H_8/591) = 12'000$
(L. Werthemann [16])

ϵ -Wert des kristallinen neo-Cobesters: $\epsilon(C_6H_8/594) = 10'200$,
bestimmt von der Harvard-Gruppe und uns² freundlicherweise
mitgeteilt.

Bei sehr kleinen Substanzmengen (unter 1 mg) wurde häufig beim Einengen der Lösungen anscheinend ein Teil eines Cyano-Liganden abgespalten, was zur Verminderung der α -Bande führte (vgl. das Spektrum des Aquo-cyanocobesters [16]). Um dennoch die Substanzmenge bestimmen zu können, wurde zur Lösung in der UV-Zelle (3 ml Inhalt) jeweils 1 oder 2 Tropfen einer 0,4%-igen HCN-Lsg. in MeOH zugegeben, wodurch anhand der Strukturierung des VIS-Teils des Spektrums der Dicyano-komplex zurückgebildet wurde. Im experimentellen Teil wird jeweils neben der Substanzmenge in μMol (da alle Komplexe ein Molgewicht zwischen 1000 und 1100 besaßen, entspricht 1 μMol ziemlich genau 1 mg) das zur Berechnung verwendete ϵ mit der Position der α -Bande in nm in Klammern angegeben, z. B. 3,57 μMol (ϵ ($\text{C}_6\text{H}_6/592$) = 12'000).

CD-SPEKTREN

Die CD-Spektren dienen vor allem der Zuordnung der neo-Isomere [72], indem bei allen Cobester-derivaten der gleiche typische Verlauf der Spektren der beiden C-13-Epimere beobachtet wurde (vgl. z.B. das Paar Cobester/neo-Cobester in Abb. 28).

Zur UV-spektroskopischen Konzentrationsbestimmung wurden die hypothetischen ϵ -Werte der obigen Tabelle benützt, die spektroskopische Ausmessung erfolgte auf dem Gerät Perkin-Elmer 402 (vgl. S. 47).

IR-SPEKTREN

(für das IR-Spektrum des Cobester vgl. L. Werthemann [16])

Als Beispiel eines IR-Spektrums wird jenes des Cobester-c-lactons (13) angeführt :

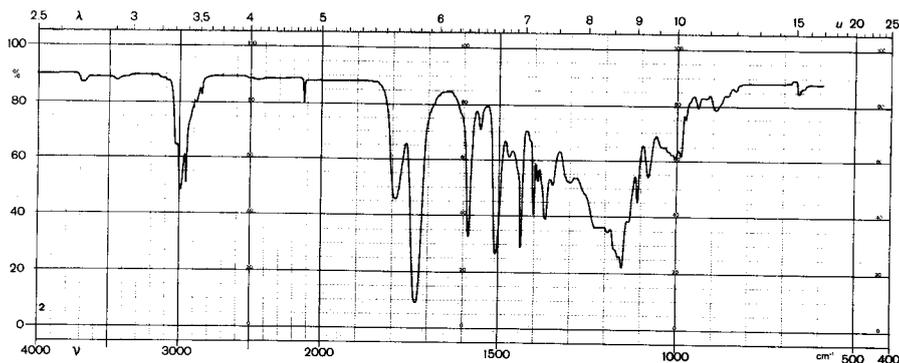


Abbildung 2

Alle Spektren hatten einen sehr ähnlichen Verlauf. Am auffälligsten waren die Veränderungen der Chromophorbanden ($1650 - 1490 \text{ cm}^{-1}$) durch Einführung der Substituenten an C-5, C-10 und C-15. Dabei wurde gefunden, dass die mit Phenylthiomethyl substituierten Komplexe nach Position und Intensität die gleichen Chromophorbanden besitzen, wie die durch die nachfolgende Reduktion erhaltenen Komplexe mit Methylgruppen. Ebenso hat der c-Lactonring keinen Einfluss auf die Chromophorbanden. Die fünf in dieser Arbeit gefundenen Typen von Chromophorbanden sind in Abbildung 3 dargestellt.

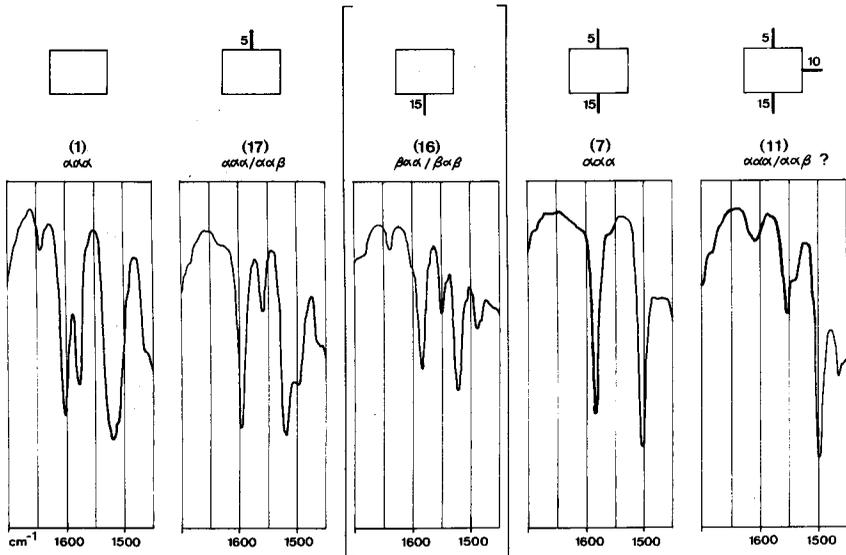


Abbildung 3

Die verschiedenen Carboxylfunktionen der Seitenketten geben zu folgenden Banden Anlass:

- Nitrilgruppe: 2250 cm^{-1} , schwache Bande, ungefähr halb so intensiv wie diejenige der beiden Cyanoliganden am Kobalt (2120 cm^{-1}).
- Amidgruppe: primäre Amidgruppe: 1680 cm^{-1} , Intensität ähnlich wie beim Lacton (vgl. Abb. 2); $3500-3200 \text{ cm}^{-1}$ schwache Banden (NH).
- Lactongruppe: 1797 cm^{-1} (vgl. Abb. 2)

C-13-Epimere besitzen praktisch deckungsgleiche IR-Spektren (vgl. z. B. die Spektren des Paares f-Nitril/neo-f-Nitril in Abb. 88 und 90 S.192).

Bei den verschiedenen Verbindungen werden nur die intensivsten Banden angegeben, wobei im allgemeinen diejenigen um 2950 cm^{-1} (C-H) ganz weggelassen werden, da sie häufig infolge nicht corrinoiden Verunreinigungen zu intensiv erscheinen.

NMR-SPEKTREN

(Für das NMR-Spektrum des Cobesters vgl. L. Werthmann [16])

Als Beispiel ist das NMR-Spektrum des Cobester-c-lactons (13), aufgenommen in C_6D_6 , in Abbildung 4 dargestellt.

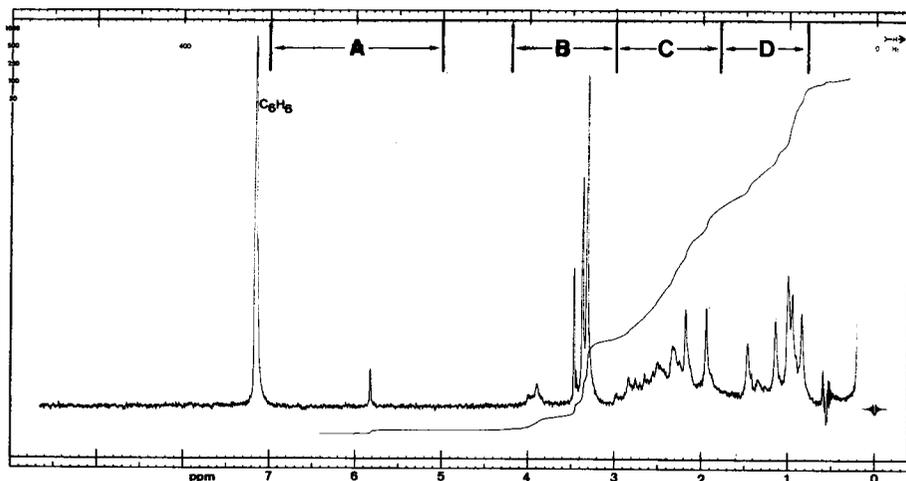


Abb. 4

Zur Beschreibung im experimentellen Teil wurden die Spektren in Gruppen unterteilt: *5

- Gruppe A* : 7,5 - 7,2 ppm,
Phenyl-H der Phenylthiomethylgruppen der Substitutionsprodukte (Multipllett) (meistens durch das Signal des nicht vollständig deuterierten Lösungsmittels teilweise verdeckt (CDCl_3 oder C_6D_6))
- A : 7,0 - 5,0 ppm
Vinyl-H an C-5, C-10 und C-15 (leicht verbreiterte Singletts)
NH-Protonen der Amide (breite unstrukturierte Signale)

*5) vgl. die analoge Aufteilung bei L. Werthmann [16].

- Gruppe B : 4,2 - 3,0 ppm,
Methylestergruppen (echte Singletts)
Die zum Chromophor allylisch stehenden Protonen an C-3,
C-8, C-13 und C-19 (komplexe, nicht interpretierte Signalhaufen)
Es werden nur die Positionen der Estersignale angegeben.
- C : 3,0 - 1,8 ppm,
Chromophorgebunde Methylgruppen an C-5, C-15 und C-10
(leicht verbreiterte Singletts)
Alle Protonen der Seitenketten (ohne anguläre Methylgruppen)
(komplexe, nicht interpretierte Signalhaufen)
- D : 1,8 - 0,8 ppm,
Anguläre Methylgruppen an C-1, C-2, C-7, C-12 (2), C-17
(verbreiterte Singletts)

Aus jeder Gruppe werden nur jene Signale explizite aufgeführt, die eindeutig erkennbar sind (Vinyl-H, Methylestergruppen, Chromophormethylgruppen und anguläre Methylgruppen), daneben wird das Integral über den ganzen Bereich in folgender Weise aufgeführt:

- der Bereich der jeweiligen Gruppe in ppm
- in der Kolonne T: die aus der Konstitutionsformel erwartete Anzahl Protonen in der Gruppe.
- in der Kolonne E: experimentell ermittelte Anzahl Protonen in der Gruppe durch Division des Gesamtintegrals mit der Protonenzahl aus der Summenformel.
- in der Kolonne E': experimentell ermittelte Anzahl Protonen in der Gruppe, indem die Gruppe B (Methylester-H + H an C-3, C-8, C-13 und C-19) als interner Standard verwendet wurde.

Bei kristallinen Proben lieferten die beiden Verfahren (Kolonne E und E') praktisch übereinstimmende Integralwerte (die ebenfalls mit den theoretischen Werten korrespondierten). Bei nicht kristallinen Proben wurde häufig zwischen ca. 2,0 und 0,5 ppm zu intensive Signale erhalten (Lösungsmittelrückstände, Polymerisationsprodukte des HCN? ('nicht corrinoiden Verunreinigungen')), sodass zum Teil recht grosse Differenzen auftraten.

Im Anhang wird versucht, einige Signale in den C_6D_6 -Spektren der Cobester-derivate noch näher zuzuordnen. (vgl. S. 258).

MASSENSPEKTREN

Die Spektren der Dicyano-Co-III-cobesters verändern sich während der Aufnahme laufend. Als Beispiel ist eine Serie von drei Spektren abgebildet, die von der gleichen Probe, dem 15-nor-Cobester-f-nitril- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ -(17) (MG 1041) (vgl. S. 198) erhalten worden waren (Abb. 5):

Spektrum A: direkt nach Einführung der Probe bei ca. 100° C aufgenommen. Oberhalb $m/e = 400$ wird praktisch nur die Signalgruppe bei $m/e = 915$ gefunden ($M^+ - 2 CN - CH_3COOCH_3$).

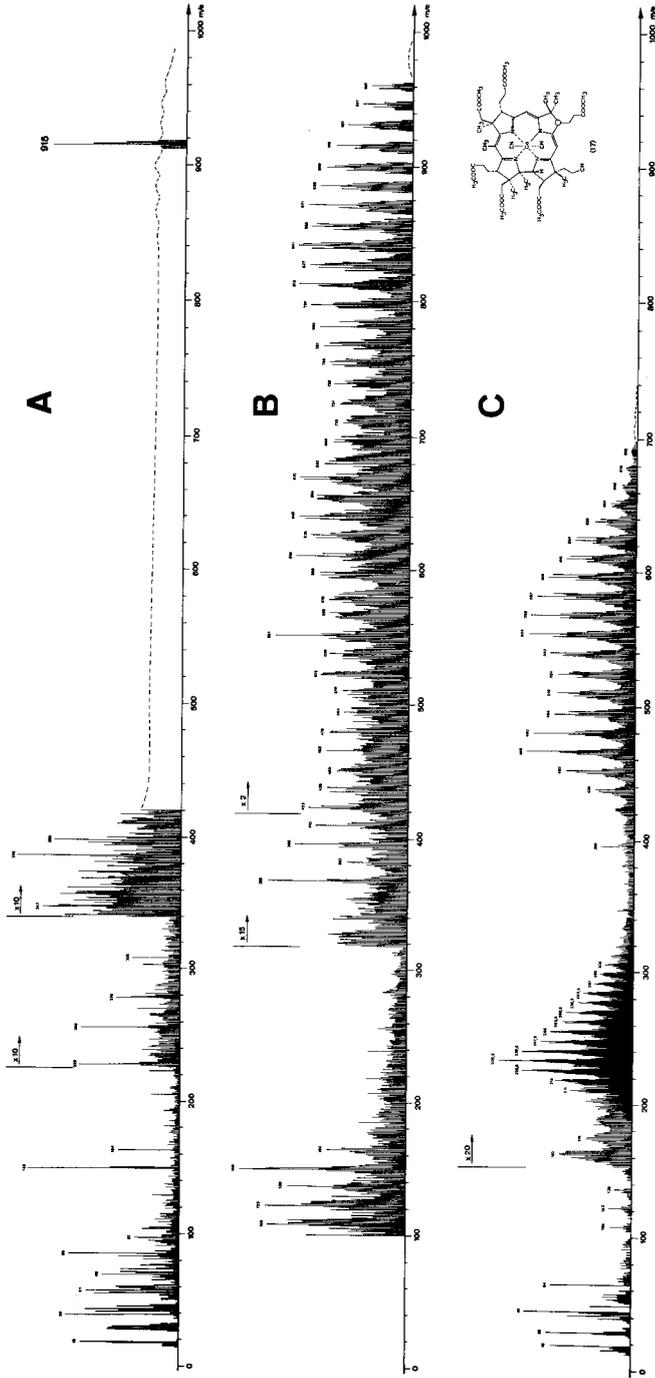


Abb. 5

Infolge des Fehlens von eigentlichen Signalen zwischen $m/e = 400$ und 900 , konnte die Massenzahl dieser Gruppe nur anhand der gleichen Auslenkung wie im Spektrum B ermittelt werden.

Spektrum B: Nach Erwärmen der Probe auf ca. 195° C aufgenommen (Signale bis $m/e = 100$ sind in Abb. 5 nicht abgebildet).

Spektrum C: Nach Erwärmen der Probe auf ca. 245° C aufgenommen.

In keinem Spektrum wird ein Signal für M^{+} beobachtet. Als erste (und einzige!) signifikante Signalgruppe wird diejenige bei $m/e = M^{+} - 126$ erhalten, die dem Fragment $M^{+} - 2 \text{CN} - \text{CH}_2\text{COOCH}_3$ zugeschrieben wird. Neben den beiden Cyanoliganden des Kobalts wird die Essigsäureseitenkette c in einer McLaffarty-Fragmentierung abgespalten. Dies konnte dadurch erkannt werden, da aus dem 5,15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid-f-nitril (4) Essigsäuredimethylamid und aus dem Cobester-c-lacton (13) CO_2 (+ 2 CN) abgespalten wird. Die übrigen Signalgruppen werden vermutlich durch extensive Methyltransfers unter gleichzeitiger Abspaltung von weiteren Seitenketten gebildet [73]. Diese Methyltransfers treten praktisch nur bei den Kobalt-corrin-komplexen auf, während die entsprechenden Zink- oder Cadmium-komplexe 'einfache' Spektren (interpretierbare Abspaltung von Seitenketten) liefern [35].

Bei den meisten Proben wurde ein Spektrentyp registriert, der zwischen denjenigen in den Spektren A und B der Abb. 5 lag. Bei einem solchen Spektrum ist es möglich, durch Zählen die Position der Signale bis über $m/e = 900$ festzulegen. Bei der Angabe der Spektren wird jeweils nur der Bereich oberhalb ca. $m/e = 840$ angegeben, wobei jeweils nur das höchste Signal einer Gruppe angeführt wird. Das intensivste Signal oberhalb $m/e = 840$ wird als Basis (= 100%) benützt.

Zu einander isomere Komplexe zeigten die gleichen Massenspektren. Komplexe mit Phenylthiomethyl- oder Methoxymethylgruppen (an C-5 oder C-15) zeigten den gleichen Basepeak wie die entsprechenden Komplexe mit Methylgruppen (nach der Reduktion) (vgl. S. 115).

FLUESSIG-FLUESSIG VERTEILUNGSCROMATOGRAPHIE (LLC)

Die von Dr. J. Schreiber selbst aufgebaute Apparatur [40] zeichnet sich durch eine sehr grosse Effizienz aus, indem relativ grosse Substanzmengen (bis 1 mg) (für diese Chromatographieart stellt 1 mg eine grosse Substanzmenge dar) mit grossem Trennvermögen (Bodenzahlen bis $10'000/m$) getrennt werden können. Die Chromatographie-systeme wurden durch Zusammengeben der vier Lösungsmittel in den unten angegebenen Verhältnissen erhalten, wobei sich das Gemisch in zwei Phasen trennte. Die polare Phase (praktisch nur Wasser und Methanol) wurde als Stationärphase auf dem Kieselgur benützt, die apolare Phase (praktisch nur Isooktan und Chloroform) als Mobilphase verwendet. Die folgenden drei Systeme wurden eingesetzt:

- System I (S I) : Isooktan: CHCl_3 : $\text{MeOH:H}_2\text{O}$ = 30:10:10:3
(Zusatz von 0,01% HCN) (g/Vol) *6
- System II (S II) : Isooktan: CHCl_3 : $\text{MeOH:H}_2\text{O}$ = 50:10:10:3
(Zusatz von 0,01% HCN)
- System III (S III) : Isooktan: CHCl_3 : $\text{MeOH:H}_2\text{O}$ = 40:15:10:3
(Zusatz von 0,01% Acetoncyanhydrin)

Jede Säule besass ihr eigenes Trennvermögen, verwendet wurden die folgenden drei Säulen:

- Kolonne A: (Kol. A) : Länge 50 cm, Innen- ϕ 0,5 cm gepackt mit durch Flotation vereinheitlichtem Kieselgur, Korngrösse $\leq 32 \mu$.
- Kolonne B: (Kol. B) : Länge 50 cm, Innen- ϕ 0,5 cm, Kieselgur, Korngrösse 5-10 μ .
- Kolonne C: (Kol. C) : Länge 50 cm, Innen- ϕ 0,2 cm, Kieselgur, Korngrösse 5-15 μ .

Als Detektor wurde eine Durchflussküvette (Inhalt ca. 2 μ l) verwendet, das Photometer arbeitete mit Licht um 570 nm. Die Detektionsgrenze lag bei ca. 0,5 γ /ml für Cobester (7).

Normalerweise konnten die Proben nicht in der sehr apolaren Mobilphase gelöst, sondern es musste zusätzlich noch etwas Chloroform zugefügt werden. Für präparative Trennungen wurde dabei ca. 1 mg Substanz in ca. 7 μ l Mobilphase und 3 μ l Chloroform gelöst und eingespritzt. Durch das zusätzliche Chloroform wurde bei präparativem Arbeiten (repetives Einspritzen in Abständen von ca. 10 min, bis 60 mg Gemisch an einem Tag trennbar) langsam ein Teil der auf der Säule sitzenden Stationärphase ausgewaschen. Von Zeit zu Zeit musste die Säule deshalb wieder mit Stationärphase neu beladen werden, was gleichzeitig den Vorteil hatte, dass alle polaren Verunreinigungen am Kolonnenkopf herausgewaschen wurden. Da dadurch der Zustand der Säule änderte, musste zu einem Vergleich von zwei Substanzen dieselben möglichst direkt hintereinander, oder besser miteinander, eingespritzt werden. Bei der Angabe der chromatographischen Daten wird deshalb in den meisten Fällen noch eine Referenzverbindung angeführt, die unter den möglichst identischen Bedingungen chromatographiert worden war.

*6) Für die gleichen Systeme wurden von W. Fuhrer [35] die folgenden Bezeichnungen verwendet:

- System I : 'schnelles' System
System II : 'langsames' System
System III : 'Ursystem'

Bei der Angabe der chromatographischen Daten wurde folgendermassen vorgegangen: *7

- in Klammern: das Chromatographie-system (SI, II oder III), die Kolonne (Kol. A, B oder C) und die Durchflussmenge in ml/h, z. B. (S I, Kol. A, 90 ml/h)
- für die Substanz: die Retentionszeit (R_t), danach in Klammern die theoretische Bodenzahl N und der Kapazitätsfaktor k' , z. B. $R_t = 7,5$ min ($4'500$, $k' = 3,2$)

Die theoretische Bodenzahl N ($N = (\frac{R_t}{\delta})^2$) wurde nach einem vereinfachten Verfahren bestimmt, indem für die Standardabweichung der Gausskurve δ die Halbwertsbreite in 60% der Peakhöhe angenommen wurde. Der angegebene Wert für N bezieht sich in allen Fällen auf eine Säule von 50 cm Länge.

Zur Bestimmung des Kapazitätsfaktors $k' = \frac{R_t - R_0}{R_0}$ wurde für die

Retentionszeit der unverzögerten Substanz (R_0) das sehr schwache Signal benutzt, das vom zusätzlich beigefügten Chloroform stammte. Leider konnte dies nicht in allen Fällen beobachtet werden.

Bei einigen Verbindungs-paaren wird auch die erreichte Auflösung R_s angegeben

$$(R_s = \frac{R_{t1} - R_{t2}}{4\delta})$$

Unter dem Begriff 'LLC-Identifikation' von zwei Proben wird folgendes Vorgehen verstanden: Hintereinander werden zuerst die einzelnen Proben und danach ein ca. 1:1 - Gemisch eingespritzt. Verglichen werden die Retentionszeiten sowie die theoretischen Bodenzahlen der drei Einspritzungen.

Im allgemeinen war das chromatographische Verhalten der Substanzen gleich wie beim DC, nur dass das Trennvermögen im LLC um einige Potenzen höher war. Substanzen mit kleinem R_t im DC besaßen im allgemeinen auch grössere Retentionszeiten im LLC.

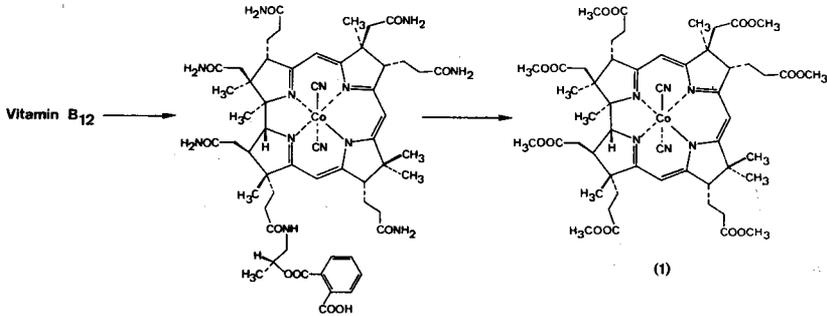
C-13-Epimere konnten nur in einigen wenigen Fällen voneinander getrennt werden, im Gegensatz zum Absorptions-Chromatographiesystem (LC) der Harvard-Gruppe, wo C-13-Epimere leicht getrennt werden. Dafür aber, für die Synthese von unschätzbarem Wert, gelang die Abtrennung von C-3 und C-8 Isomeren (vgl. die Auftrennung der Isomere des 5,15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid-f-nitrils (4) von W. Fuhrer) mit dem "Schreiber-LLC" in einfacher Weise.

*7) vgl. 'Modern Practice of Liquid Chromatography'
Ed. J. J. Kirkland, Wiley 1971.

II 5,15 - BIS - NOR - COBYRINSAEURE - HEPTAMETHYLESTER

II 1. 5,15-BIS-NOR-COBYRINSAEURE-HEPTAMETHYLESTER AUS VITAMIN B₁₂

('authentischer 5,15-bis-nor-Cobester')



Zur Veresterung gelangte ein Material, das von der Gruppe von Prof. K. Bernhauer (Universität Stuttgart) auf folgende Weise hergestellt worden war [30]:

- Vitamin B₁₂ wurde durch Behandlung mit Ce(OH)₃ zu Cobinamid abgebaut, Ausbeute nach Chromatographie an DEAE-OH-Cellulose ca. 75% [74].
- Das Cobinamid wurde in wasserfreiem Pyridin mit Phthalsäureanhydrid verestert (85 min, 100° C). Nach Chromatographie an Sephadex LH 20 und DEAE-Ac-Cellulose wurde in ca. 75% Ausbeute Cobinamidphthalat erhalten.
- Das Cobinamidphthalat wurde unter möglichst gutem Wasserausschluss in Pyridin mit einem Ueberschuss an KMnO₄ (Molverhältnis = 1:35) während 5 h bei 40° C im Dunkeln oxidiert. Durch DEAE-Ac-Cellulose-Chromatographie wurden jene Produkte abgetrennt, die nicht zwei 'starke' Säuren (niedere pK-Werte (2,1 - 2,3)) enthielten. Die Ausbeute an starken Di-säuren (Corrine mit 5,15-Dicarbonsäuren) betrug ca. 20%, bei einer Chromophorausbeute von 45%.
- Die starken Di-säuren konnten durch Erhitzen auf 60° C während 24 h unter H₂ in Eisessig decarboxyliert werden. Durch Chromatographie an CM-Cellulose wurden die nicht vollständig decarboxylierten Produkte abgetrennt. Die Ausbeute an decarboxylierten Produkten betrug ca. 35%, was eine Gesamt-Ausbeute bezüglich Vitamin B₁₂ von ca. 4% ergibt.

Das so erhaltene Produktgemisch enthielt (nach Angabe von Prof. K. Bernhauer) neben Ballast vor allem 5,15-bis-nor-Cobinamid-phthalat, im weiteren 5,15-bis-nor-Cobinamid, die entsprechenden Lactone (Ring B) und weiter hydrolysierte oder oxidierte Produkte (Komplexe mit zusätzlichen Hydroxylgruppen). Ein solches Gemisch wurde ohne weitere Reinigung wie folgt verestert *8:

*9 45 μMol *10 5,15-bis-nor-Cobinamid-phthalat (vgl. oben) wurden in 6 ml ca. 1,2 M Schwefelsäure in Methanol (1 ml konz. H_2SO_4 *11 in 15 ml MeOH) gelöst, und die orange-rote Lösung wurde in 2 Ampullen transferiert. Durch viermaliges Ausfrieren (N_2 fl.), Evakuieren am HV und wieder Auftauen wurden die Lösungen entgast, die Ampullen unter Vakuum zugeschmolzen und anschliessend während 6 Tagen auf 65° C (Ölbadtemp.) erhitzt. Nach dem Abkühlen auf RT wurde die Reaktionslösung (beide Ansätze wieder vereinigt) am Rotovap bis auf ca. 2 ml eingeeengt. Nach dem Verdünnen mit 15 ml H_2O wurde die Lösung unter Rühren mit festem NaHCO_3 *12 neutralisiert und darauf mit ca. 10 mg KCN *13 versetzt (Farbumschlag von orange nach rot). Anschliessend wurde die wässrige Lsg. dreimal mit je 15 ml CCl_4 , dann dreimal mit je 15 ml CH_2Cl_2 extrahiert (Die wässrige Phase war danach nur noch schwach rot gefärbt, spektroskopisch ca. 1 μMol Corrine). Die organischen Auszüge wurden durch Watte filtriert und am Rotovap eingedampft, die öligen Rückstände trocknete man während 4 h am HV bei 0,03 Torr:

CCl_4 -Auszug	:	39,1 μMol ($\mathcal{E}(\text{C}_6\text{H}_6/570) = 12'000$) entspricht
		41,6 mg 86,8% (gewogen: 67,1 mg)
CH_2Cl_2 -Auszug:		14,6 μMol ($\mathcal{E}(\text{CH}_3\text{OH}/562) = 11'000$) entspricht
		15,5 mg 32,2% *14 (gewogen: 46,7 mg)

-
- *8) Wir möchten Prof. K. Bernhauer für die grosszügige Ueberlassung einer respektablen Menge an 5,15-bis-nor-Corrinen danken.
- *9) Ein erster Veresterungsversuch war von L. Werthemann durchgeführt worden, die Reaktionsbedingungen wurden ohne Aenderungen übernommen. L. Werthemann, Arbeitsbericht Dez. 1968, vgl. auch Herstellung von Cobester: L. Werthemann, Diss. ETH 1968, S. 67.
- *10) spektroskopisch bestimmt, entspricht 52,2 mg (gewogen 116 mg), μMol -Angabe von Prof. K. Bernhauer. Leider war diese Angabe von uns nicht überprüft worden (vgl. hohe Ausbeute!).
- *11) Konz. Schwefelsäure Merck, 95-97%, zur Analyse
- *12) Natriumbicarbonat p. a. Riedel deHaen
- *13) Kaliumcyanid, Merck p. a.
- *14) Die Strukturierung der UV-Spektren entsprach derjenigen des kristallinen 5,15-bis-nor-Cobesters. Die Chromophorausbeute von über 100% (119%) kann dahin interpretiert werden, dass die α -Bande (UV/VIS) erstens durch nicht corrinoide Verunreinigungen (zunehmende Untergrundabsorption nach kürzeren Wellenlängen) und zweitens durch ein Nebenprodukt mit $\lambda_{\text{max}}/\text{C}_6\text{H}_6 = 647 \text{ nm}$ höher erschien als im kristallinen (1) (vgl. S. 67). Das Verhältnis der Intensitäten der Banden bei 570 und 647 nm im CCl_4 -Auszug betrug 10:1. Der Anteil an nicht corrinoiden Verunreinigungen war im CH_2Cl_2 -Auszug bedeutend grösser als im CCl_4 -Auszug (vgl. die Chromophorausbeute von 95% nach Nachveresterung*4).

Gemäss DC im Vorversuch (Werthemann) enthielt der CCl_4 -Auszug fast ausschliesslich vollständig veresterte Produkte, während der CH_2Cl_2 -Auszug hauptsächlich nur teilweise veresterte Corrine aufwies. Das Material der CH_2Cl_2 -Auszüge aus vier Veresterungsversuchen wurde in drei Ansätzen nachverestert (4 Tage 65°C , 1,2 M $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{MeOH}$, vgl. oben). Dadurch konnten aus total 100 μMol 5,15-bis-nor-Cobinamid-phthalat 94,9 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/570) = 12'000$) 94,9% roher 5,15-bis-nor-Cobester obiger Qualität gewonnen werden (CCl_4 -Auszüge aus den vier Veresterungs- und den drei Nachveresterungsansätzen).

Das gesamte 5,15-bis-nor-Cobester-Rohprodukt wurde in zwei Teilen an der 200-fachen Menge Silicagel *15 chromatographiert (Lösungsmittelsystem: Hexan:Isopropanol:Methanol = 5:2:1 (+ 0,01 Vol.% Acetoncyanhydrin)). Zuerst wurde der 5,15-bis-nor-Cobester (1) zusammen mit einem grünen Nebenprodukt (2) ($\lambda_{\text{max}}/\text{C}_6\text{H}_6 = 647\text{ nm}$) eluiert, gefolgt vom 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton (3) (DC- R_f -Werte im gleichen System: 0,28 resp. 0,23). Nach nochmaligem Chromatographieren der Mischfraktionen (ca. 18% des am Anfang eingesetzten Materials) konnten total 55,1 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/570) = 12'000$) 55,1% 5,15-bis-nor-Cobester (1) (verunreinigt mit ca. 20% des Nebenprodukts (2) mit $\lambda_{\text{max}}/\text{C}_6\text{H}_6 = 647\text{ nm}$, Verhältnis der Intensitäten der Banden bei 570 und 647 $\text{nm} = 5:1$) und 30,4 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/575) = 12'000$) 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton (3) 30,4% isoliert werden. (Charakterisierung des Lactons S. 75)

Das grüne Nebenprodukt im Ester (1) wurde durch partielle Kristallisation abgetrennt, die direkt anschliessend an die Säulenchromatographie fraktionsweise durchgeführt wurde. Hier ein Beispiel einer Kristallisation: 13,85 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/570) = 12'000$), durch Säulenchromatographie erhaltener 5,15-bis-nor-Cobester wurden in 5 ml Methylacetat gelöst, und langsam wurden zur Lösung 10 ml Hexan zugegeben. Zuerst wurde die Lösung 4 h bei RT stehengelassen, anschliessend bei beginnender Kristallisation 3 h bei 0°C , dann 2 Tage bei -5°C im Kühlschrank. Nach der Zugabe von weiteren 5 ml Hexan wurde erneut 1 Tag im Kühlschrank stehengelassen. Anschliessend wurde die Mutterlauge (vorwiegend 5,15-bis-nor-Cobester) von den gebildeten ca. 3 mg grünen Kristallen ($\lambda_{\text{max}}/\text{C}_6\text{H}_6 = 647\text{ nm}$) abpipettiert (Charakterisierung des Nebenprodukts S.71). *16
Die Mutterlauge (12,1 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/570) = 12'000$)) wurde in 3 ml Methylacetat und 6 ml Hexan zur Kristallisation angesetzt. Nach dem Animpfen mit Kristallen aus einem Vorversuch wurde die Lösung 2 h bei RT stehengelassen, worauf nochmals 2 ml Hexan zugefügt wurden.

*15) Kieselgel Merck unter 0,08 mm für die Säulenchromatographie

*16) Die partielle Kristallisation gelang nicht mit allen Fraktionen der Säulenchromatographie so gut. Nach Einführung der flüssig-flüssig Verteilungschromatographie konnten die beiden Verbindungen jedoch leicht getrennt werden. Rund 2 Jahre später wurde der, zu jenem Zeitpunkt nicht kristalline, 5,15-bis-nor-Cobester auf diese elegantere Art gereinigt und konnte dann leicht kristallisiert werden.

Beispiel:

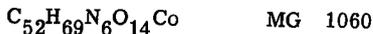
LLC (S.I, Kol.B, ca. 100 ml/h):

5,15-bis-nor-Cobester (1): $R_t = 4,5\text{ min}$ (1800)

grünes Nebenprodukt (2) : $R_t = 5,5\text{ min}$ (1100)

Nach 2 Tagen im Kühlschrank wurden 4 ml Hexan zugegeben und erneut 1 Tag im Kühlschrank stehengelassen. Anschliessend wurde die Mutterlauge abpipettiert. Die roten Kristalle (leider nicht separat weiter verwendet) und die Mutterlauge wurden zusammen mit Kristallen und Mutterlauge aus einer parallelen Kristallisation (ausgehend von 18,8 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/570) = 12'000$), grünes Nebenprodukt vorgängig wie oben abgetrennt) weiter verarbeitet. Zusammen verfügte man nun über 25,2 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/570) = 12'000$) kristallinen 5,15-bis-nor-Cobester (Mutterlauge: 6,63 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/570) = 12'000$)). Der einmal kristallisierte 5,15-bis-nor-Cobester (25,2 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/570) = 12'000$)) wurde zur Umkristallisation in 3 ml Methylacetat gelöst, und zur roten Lösung wurden langsam 7,5 ml Hexan zugegeben. Dreimal wurden je nach 2 Tagen bei RT 2 ml Hexan zugegeben, 24 h nach der letzten Zugabe wurden die gebildeten roten Kristalle mit der Mutterlauge auf eine Glasfilternutsche (G 3) transferiert und einmal mit der Mutterlauge gewaschen. Nach dem Trocknen am HV während 12 h bei RT wurden 23,8 mg (22,4 μMol) kristalliner 5,15-bis-nor-Cobester (1) in Form von tiefroten, mehrreieckigen Klötzen erhalten (Mutterlauge: 3,05 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/570) = 12'000$)). Die UV/VIS, IR, NMR und ORD-Spektren dieser Probe sind von R. B. Woodward [32] und P. Schneider [18] als Vergleichsspektren zu synthetischem 5,15-bis-nor-Cobester publiziert worden. Zur endgültigen Charakterisierung wurde das Material nach Aufnahme der Spektren noch dreimal aus Methylacetat/Hexan umkristallisiert. Die dabei erhaltenen 12 mg Kristalle wurden vor der Charakterisierung während 12 h bei RT am HV (0,03 Torr) getrocknet. Die spektroskopischen Daten der zweimal kristallisierten ('Riga-Probe') und der fünfmal kristallisierten Probe waren identisch.

5,15-bis-nor-Cobester (1)



m.p. 120 - 122° C

UV (C_6H_6) 0,693 mg gelöst in 20 mg
 (Abb. 6^b) 570(11'900 max), 547(7'000 min), 534(8'100 max), 497(3'800 sh),
 445(1'900 min), 418(4'400 max), 405(3'400 min), 396(4'000 sh),
 362(26'700 max), 333(7'200 min), 320(9'300 max), 311(7'800 min),
 305(8'900 max), 296(7'200 min), 293(7'200 sh), 287(6'800 min),
 276(12'200 max).
 $\gamma/\alpha = 2,22$

UV ($\text{CH}_2\text{OH}/$ 0,353 mg gelöst in 10 ml
 0,01% KCN) 562(10'900 max), 539(6'500 min), 525(7'400 max), 491(4'200 sh),
 (Abb. 6a) 438(1'700 min), 411(3'400 max), 398(2'500 min), 390(3'900 sh),
 357(27'800 max), 340(12'100 sh), 325(5'200 min), 315(7'300 max),
 308(6'200 min), 301(8'000 max), 291(6'500 sh), 284(5'900 min),
 272(11'200 max), 256(5'400 min), 215(47'000 max)).

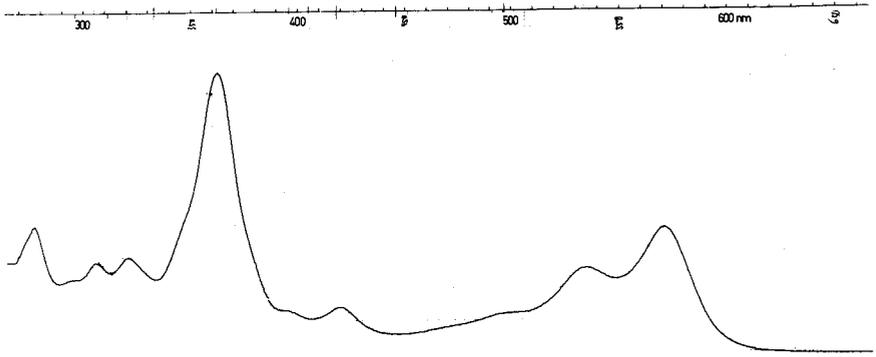


Abb. 6

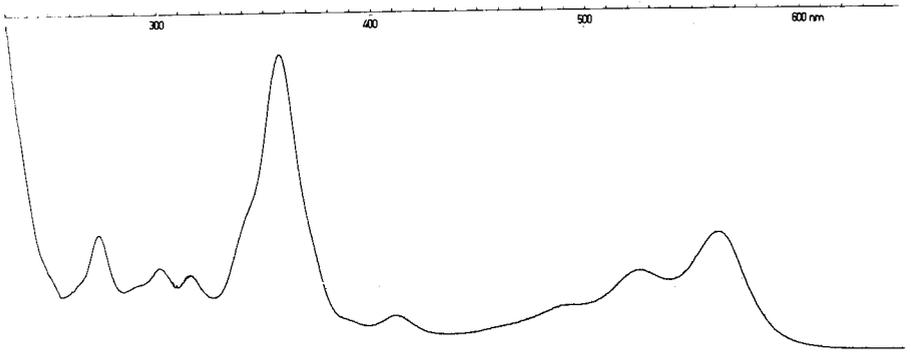


Abb. 6a

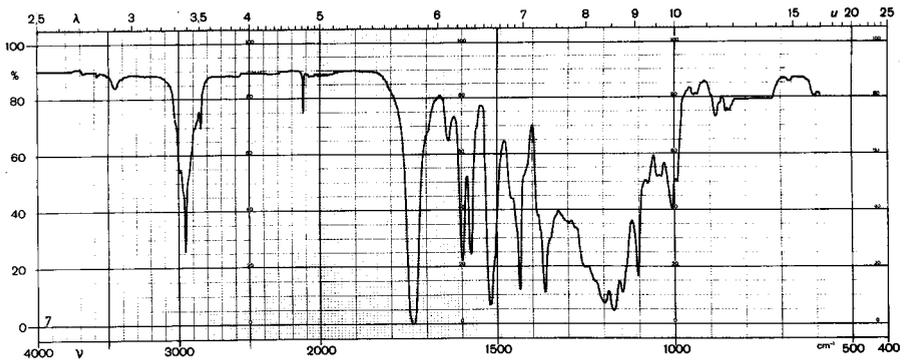


Abb. 7

IR (CCl₄) 2120 w (CoCN), 1740 s (COOCH₃), 1636 w/1598m/
 (Abb. 7) 1574 m/1520 (Chromophor), 1435 s, 1365 s, 1172 s, 1103s,
 1008 m.

NMR (C₆D₆)*17 10,5 mg in 100 µl Mikrozelle
 (Abb. 8)

	Bereich	Integral T	E	E'
A:H-C-5:5,95,H-C-10: 5,77/H-C-15:5,70 *18	6,0 - 5,5 ppm	3	2,6	2,6
B: Ester: 3,55/3,44/ 3,42/3,37(2)/3,25/3,22	4,4 - 3,0 ppm	25	24,8	25,0
C: (ohne H ₂ O-Signal) D: Methyl: 1,46/1,38/ 1,12/1,06/1,00/0,98	3,0 - 1,65 ppm	23	23,2	23,5
H ₂ O ? : 1,74 (ca. 2,7H)	1,65 - 0,9 ppm	18	18,5	18,7

MS (Di 140°) 1034(0,7%, M⁺ - CN), 1020(1,2%), 1006(1,0%), 990(2,2%),
 976(6,5%), 962(13%), 948(29%), 934(75%, M⁺ - 2 CN -
 CH₂COOCH₃), 918(42%), 904(53%), 888(66%), 874(100%),
 860(85%), 844(77%), etc.

MS (Di 160°) 962(ca. 9%), 948(37%), 934(100%), alle folgenden Signal-
 gruppen bis m/e = 570 mit Intensitäten unter 10% (vgl.
 Spektrum vom Typus A S. 60).

CD (CH₃OH/
 0,01% KCN) c = 4,05 x 10⁻⁵ Mol/lit (ε(CH₃OH/562) = 11'000)
 (Abb. 9) 562(-11,2), 525(-5,6 sh), 480[0.0], 415(+9,7), 409(+8,5),
 393(+11,4), 385(+10,3), 380(+11,2), 354[0.0], 337(-6,8),
 321(0,0), 313(-6,2), 309(-4,4), 299(-13,5), 279(-0,9)
 270(-2,6 sh), 249(-16,2), 231[0.0].

ORD (CH₃OH/
 0,01% KCN) c = 4,18 x 10⁻⁵ Mol/lit (ε(CH₃OH/562) = 11'000)
 (Abb. 10) 575(-13'200), 563[0.0], 545(+23'500 sh), 510(+34'800)
 483(+30'200 sh), 456(+26'800), 428(+30'600), 409(+15'500),
 404(-16'600), 391[0.0], 358(-42'400), 327(0.0), 316(-23'000),
 311(-11'300), 304(-21'200), 299[0.0], 288(+22'600), 268[0.0],
 252(-22'600), 248[0.0], 236(+51'700).

DC R_f = 0,28 (1,04), einheitlich

*17) Ich danke Herrn Prof. J. F. M. Oth (ETH Zürich) für die persönliche Aufnahme dieser Spektren.

*18) Die Zuordnung der Vinyl-H erfolgte in Analogie zu den Resultaten von W. Fuhrer an den Isomeren des 5,15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid-f-nitrils (4) [35].

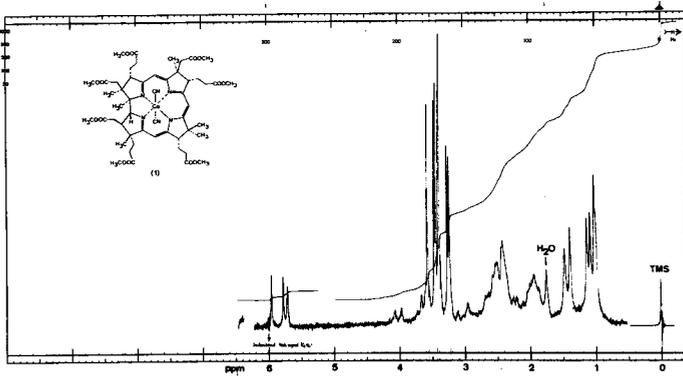


Abb. 8

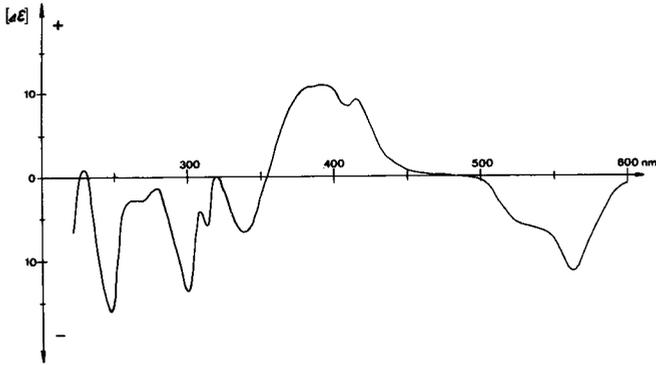


Abb. 9

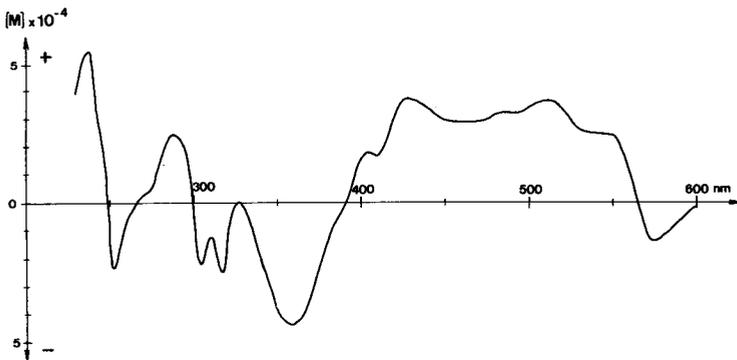


Abb. 10

LLC	(S I, Kol.B, ca. 100 ml/h)	$R_t = 5,0 \text{ min (2'200)}$, einheitlich.
	Cobester:	$R_t = 4,5 \text{ min (1'800)}$
	Cobester-c-lacton:	$R_t = 7,2 \text{ min (1'900)}$
	(S II, Kol.C, 44 ml/h)	$R_t = 8,4 \text{ min (3'350)}$, $k' = 1,4$, einheitlich.
	Cobester:	$R_t = 7,4 \text{ min (3'250)}$, $k' = 1,1$
	Cobester-c-lacton:	$R_t = 17,7 \text{ min (4'000)}$, $k' = 4,0$

-Grünes Nebenprodukt (2)

Das durch partielle Kristallisation abgetrennte Nebenprodukt (total 7,28 μMol , ($\mathcal{E}(\text{C}_6\text{H}_6/647) = 12'000$)) wurde einmal aus Methylacetat/Hexan bei RT umkristallisiert. Nach dem Trocknen am HV bei RT während 12 h wurden 6,2 mg Kristalle in Form von grün-schwarzen, feinen Nadeln erhalten (Mutterlauge: 0,51 μMol ($\mathcal{E}(\text{C}_6\text{H}_6/647) = 12'000$):

(Summenformel, Molgewicht, \mathcal{E} -Werte und NMR-Integral-daten beziehen sich auf den nachfolgend diskutierten Strukturvorschlag)



UV (C_6H_6) 1,604 mg in 50 ml
 (Abb. 11) $\overline{647(9'700 \text{ max})}$, $\overline{623(6'200 \text{ min})}$, $\overline{600(8'700 \text{ max})}$, $\overline{559(4'200 \text{ sh})}$,
 $\overline{483(1'000 \text{ min})}$, $\overline{455(4'000 \text{ max})}$, $\overline{442(3'700 \text{ min})}$, $\overline{428(4'900 \text{ max})}$,
 $\overline{406(3'700 \text{ sh})}$, $\overline{396(3'400 \text{ min})}$, $\overline{368(20'800 \text{ max})}$, $\overline{350(13'600 \text{ sh})}$,
 $\overline{310(5'500 \text{ min})}$, $\overline{297(6'600 \text{ max})}$, $\overline{289(5'600 \text{ min})}$.

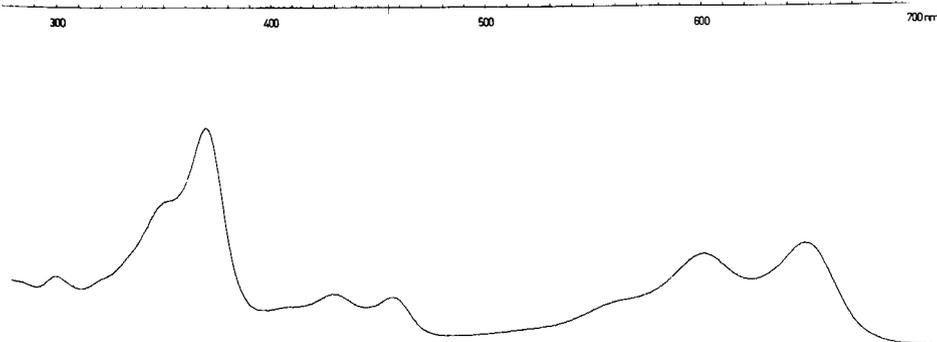


Abb. 11

IR (CCl₄) 2125 w (CoCN), 1740 s (COOCH₃ + ?) *19, 1640 w/
1605 m/ 1578 m/ 1530 s/ 1500 m (Chromophor).

NMR (C₆D₆) 6,2 mg in Mikrozelle

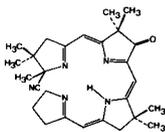
	Bereich	Integral		
		T	E	E'
A: 6,39 (1H), 6,21 (1H) 5,89 (1H)	6,5 - 5,8 ppm	3	1,9	2,5
B: Ester: 3,54/3,47/ 3,43/3,37(2)/3,17	4,3 - 3,0 ppm	21	16,5	21,0
C:	3,0 - 1,6 ppm	19	16,9	21,4
D: Methyl: 1,48/1,38 1,07/1,04/0,95/0,92	1,6 - 0,7 ppm	18	25,6	32,5

MS (Di 200°) 976(ca. 1%), 970(2%), 962(4%), 948(18%), 936(89%), 920(11%),
904(14%), 890(35%), 876(100%), 862(46%), 850(16%), 830(24%).
*20 (Zuordnung vgl. unten)

DC R_t = 0,273 (2,02), einheitlich

LLC (S I, Kol. B, ca. 100 ml/h) R_t = 5,5 min (1'100) einheitlich,
5,15-bis-nor-Cobester: R_t = 4,5 min (1'800)

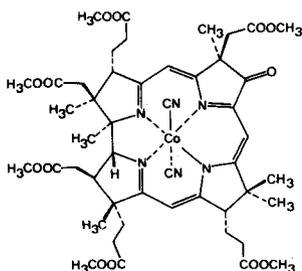
*19) Diese Carbonylbande ist gegenüber derjenigen im Spektrum des 5,15-bis-nor-Cobesters (1) breiter. Aus den Arbeiten von K. W. Ehler an diesem Laboratorium muss angenommen werden, dass ein Keton an C-8 eine Carbonylbande im IR bei ca. 1740 cm⁻¹ zeigen würde. In der Modellreihe wurden die folgenden Resultate erhalten.
(K. W. Ehler, Arbeitsbericht 1973):



$\nu_{C=O}$ Freier Ligand: 1740 cm⁻¹ (CCl₄)
(Ni-II-Komplex: 1745 cm⁻¹ (KBr))

*20) aufgenommen mit einer noch zusätzlich zweimal umkristallisierten Probe.

Gegenüber dem 5,15-bis-nor-Cobester (1) ist vor allem der VIS-Teil des Elektronenspektrums stark bathochrom verschoben (z.B. α -Bande von 570 nach 647 nm (in C_6H_6)). Im NMR-Spektrum findet man nur 6 Methylester-singletts anstatt 7, und die Signale der 3 Vinyl-H erscheinen bei tieferem Feld. Im IR ist die Carbonylbande (1740 cm^{-1}) etwas breiter, hingegen entsprechen die Banden des Corrinchromophors ($1640/1605/1578/1530\text{ cm}^{-1}$) denjenigen des 5,15-bis-nor-Esters (1) (zusätzliche Bande bei 1500 cm^{-1}). Im Massenspektrum findet man das erste intensive Signal bei $m/e = 936$ (anstatt 934). Die beiden Verbindungen liessen sich chromatographisch nur mit LLC trennen. Mit diesen Daten und unter Berücksichtigung der Herkunft ist der folgende Strukturvorschlag vereinbar:



8-des-(Methoxy-propionyl)-
5,15-bis-nor-8-oxo-cobester

(2)

Aufgrund dieser Strukturannahme können im NMR und MS noch folgende Zuordnungen getroffen werden:

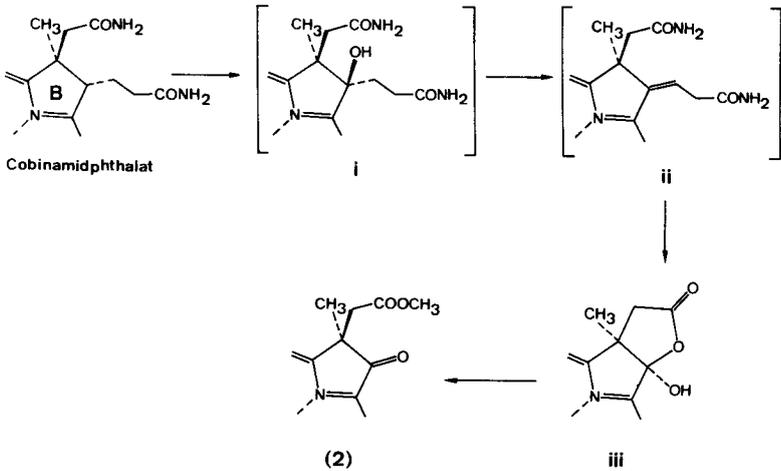
-NMR:

H-C-10: 6,39 ppm (in (1): 5,77 ppm $\Delta\delta$: 0,62 ppm)
 H-C- 5: 6,21 ppm (in (1): 5,95 ppm $\Delta\delta$: 0,26 ppm)
 H-C-15: 5,89 ppm (in (1): 5,70 ppm $\Delta\delta$: 0,19 ppm)
 Die Signale, der zum Chromophor allylisch stehenden Protonen an C-3, C-8, C-13 und C-19 befinden sich unter denjenigen der Methylestergruppen, sodass nicht ermittelt werden konnte, ob das H an C-8 in (2) wirklich fehlt.

-MS

$m/e = 936 = M^+ - 2\text{ CN}$ (McLaffarty-Signal beim 5,15-bis-nor-Ester (1): 934 m/e). Die McLaffarty-Abspaltung der Essigsäureseitenkette c ist in einem Komplex mit dieser Struktur nicht möglich.

Die Bildung dieses Nebenprodukts kann man sich folgendermassen vorstellen (Schema 10):

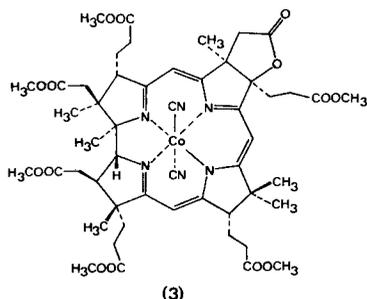


Schema 10

Während der Oxidation mit Kaliumpermanganat in Pyridin zur Ueberführung der chromophorgebundenen Methylgruppen in die Carboxylfunktionen treten Produkte auf, die eine zusätzliche Hydroxylgruppe tragen *21. Die Positionen dieser Hydroxylgruppen sind nicht bekannt; aber aus der c-Lacton- und c-Lactambildung beim Vitamin B₁₂ [49] und der Lactonisierung des 5,15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid-f-nitrils (4) [38] ist bekannt, dass das Corrinssystem am C-8 relativ leicht oxidiert werden kann. Wird unter den Reaktionsbedingungen aus dem primären Oxidationsprodukt i (oder dem entsprechenden Lacton) Wasser abgespalten, so kann die neue Doppelbindung in ii mit KMnO₄ weiter oxidiert werden. Das dabei entstehende Lactol iii würde dann unter den Veresterungsbedingungen (vgl. S. 65) in das c-Methyl-ester-8-keton (2) überführt.

*21) D. Jauering, Diss. Uni Stuttgart 1968, S.113 - 122.

5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton (3)



Das bei der chromatographischen Auftrennung des bis-nor-Methanolysgemisches (vgl. oben) isolierte ölige Lacton wurde nochmals auf Dickschichtplatten chromatographiert. Nach mehreren erfolglosen Kristallisationsversuchen (Methylacetat/Hexan, Benzol/Hexan) gelangte eine frisch auf Dickschichtplatten chromatographierte und während 40 h am HV (0,02 Torr) bei RT getrocknete Probe zur Charakterisierung:

$C_{51}H_{65}N_6O_{14}Co$

MG 1044

UV (C_6H_6)
(Abb. 12)

16,8 mg (zusätzlich noch 3 h bei 40-50°C am HV getrocknet) gelöst in 50 ml, davon 5 ml auf 50 ml verdünnt:
 575(10'200 max), 552(6'400 min), 538(7'200 max), 500(3'430 sh),
 447(1'830 min), 420(4'050 max), 408(3'300 min), 396(4'300 sh),
 361(22'200 max), 333(7'600 min), 318(8'400 max), 310(7'600 sh),
 290(5'700 min), 278(9'600 max).
 $\delta/\alpha = 2,18$

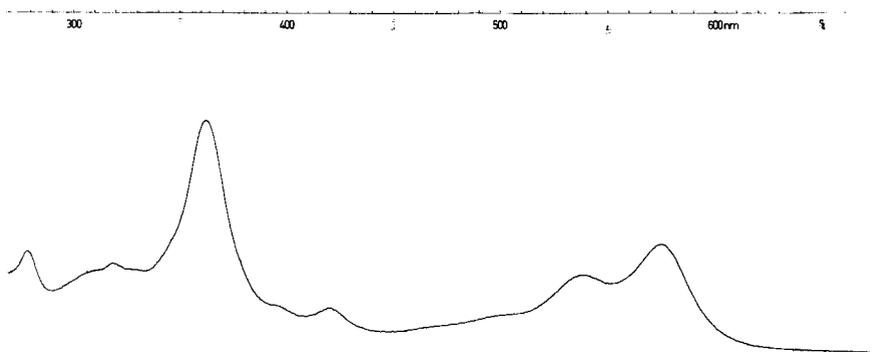


Abb. 12

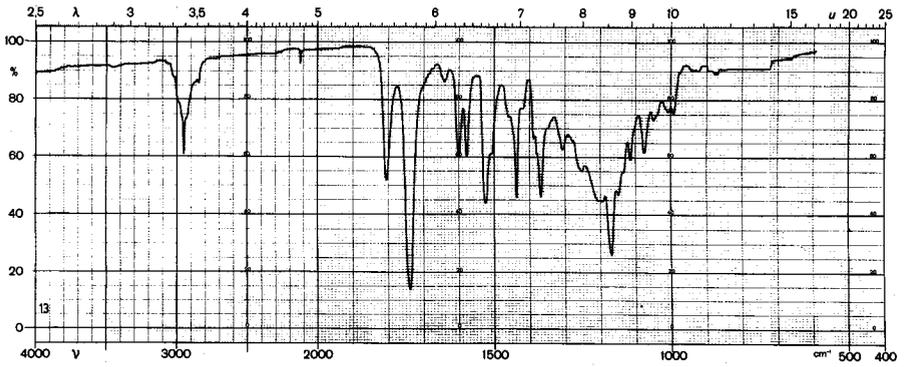


Abb. 13

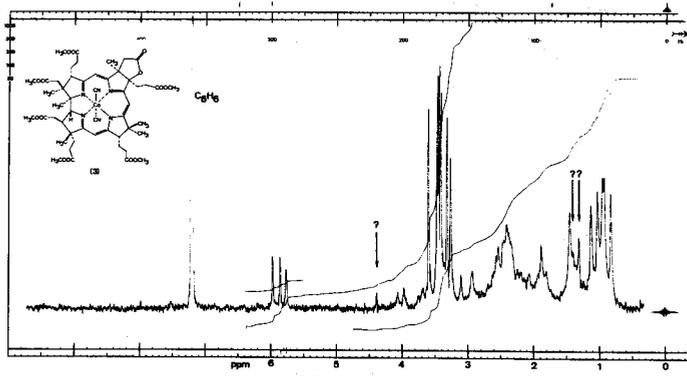


Abb. 14

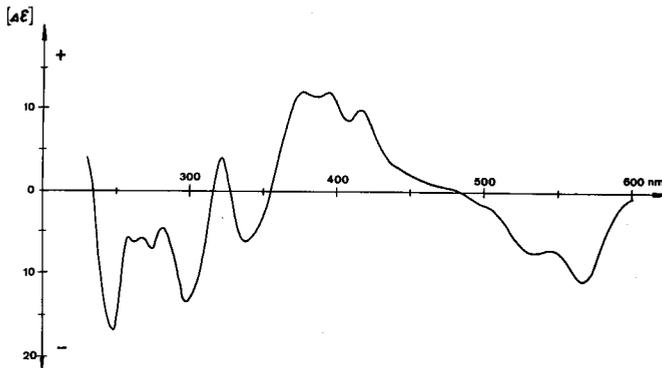


Abb. 15

UV (CH₃OH/
0,02% HCN)

qualitativ
566(0,385 max), 544(0,267 min), 530(0,292 max),
493(0,172 sh), 438(0,084 min), 412(0,151 max), 400(0,124 min)
388(0,159 sh), 356(1,000 max), 323(0,296 min), 306(0,348 max)
298(0,332 sh), 287(0,296 min), 274(0,477 max), 259(0,347 min).

IR (CCl₄)
(Abb. 13)

2120 w (Co-CN), 1805 m (Lacton), 1740 s (COOCH₃),
1640 w/ 1600 m/1577 s/ 1525 s (Chromophor).

NMR C₆D₆)
(Abb. 14)

16 mg in 0,4 ml

Bereich	Integral			
	T	E	E'	
A: H-C-5: 5,96/H-C-10:5,85/H-C-15:5,76 *22	6,0 - 5,5 ppm	3	2,2	2,3
B: Ester: 3,59/3,46/ 3,43/3,40/3,31/3,25	4,3 - 3,0 ppm	21	20,6	21,0
C:	3,0 - 1,6 ppm	23	22,2	22,5
D: Methyl: 1,43/1,11/ 1,01/0,93/0,91/0,81 H ₂ O: 1,30 ppm (1,7 H)? (NMR leider in verunreinigtem C ₆ D ₆ aufgenommen, Signale bei 4,30, 1,40(s), 1,30, 0,95 ppm).	1,6 - 0,6 ppm	18	20,0	20,3

CD (CH₃OH/
0,02% HCN)
(Abb. 15)

c = 4,27 x 10⁻⁵ Mol/lit (ε (CH₃OH/567) = 11'000)
567(-10,9), 546(-6,9), 535(-7,2), 493(-1,4 sh), 482 [0.0],
415(+9,7), 407(+8,5), 392(+11,9), 385(+11,4), 377(+12,1),
355 [0.0], 338(-6,3), 327 [0.0], 321(+3,9), 316 [0.0],
298(-13,5), 282(-4,6), 274(-7,0), 268(-5,8), 262(-6,1)
258(-5,9), 248(-16,8), 234 [0.0].

DC

R_f = 0,225 (0,84), einheitlich

Aufgrund des NMR-Spektrums handelt es sich beim authentischen 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton (3) um eine isomerenreine Verbindung. Dass der Lactonring am Ring B sitzt (Seitenkette c nach C-8), scheidet durch die folgenden Tatsachen erwiesen zu sein:

- In der ganzen B₁₂-Chemie wurde bis jetzt nur das c-Lacton gefunden.
- Bei der nachfolgenden Methylierung von (3) (vgl. S.97) wird Cobester (7) erhalten, d.h. das Lacton verhindert die Substitution an C-10. Das Lacton (3) erfüllte die gleiche Funktion wie das 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitril (6) (vgl. S.146), das durch Lactonisierung des c-Dimethylamid-f-nitrils (4) hergestellt worden war. [38].

*22) Zuordnung in Analogie zu den Resultaten von W. Schilling an den Isomeren des 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitrils (6), [38].

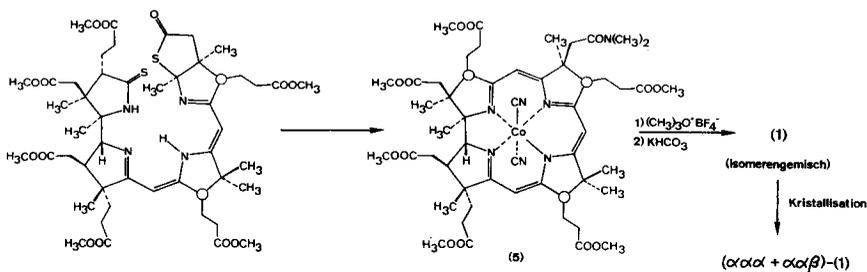
- Im weiteren existiert eine volle Parallelität zwischen den spektroskopischen Eigenschaften des Paares Cobester (7)/Cobester-c-lacton (13) (vgl. S.224) und des Paares 5,15-bis-nor-Cobester (1)/5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton (3), z. B.:
 - Das UV-Spektrum des Lactons ist bathochrom verschoben, insbesondere der VIS-Teil: (in C_6H_6)
 - α -Bande: 575 nm in (3) gegenüber 570 in (1)
 - 597 nm in (13) gegenüber 592 in (7)
 - Das Lacton und der entsprechende Ester besitzen praktisch das gleiche CD-Spektrum: (3): Abb. 15, (1): Abb. 9, (13): Abb.122, (7): Abb. 28.
 - DC: Das Lacton besitzt den kleineren R_f -Wert als der Ester:
 - (3): $R_f = 0,225$ (0,84), (1): 0,280 (1,04)
 - (13): $R_f = 0,200$ (0,75), (7): 0,267 (1.00)

II 2. TOTALSYNTHETISCHER 5,15-BIS-NOR-COBYRINSAEURE-HEPTAMETHYLESTER

('synthetischer 5,15-bis-nor-Cobester')

Charakterisierung des totalsynthetischen 5,15-bis-nor-Cobesters (Isomeren-
gemisch) hergestellt nach der Harvard-ETH-Variante

Der hier charakterisierte totalsynthetische 5,15-bis-nor-Cobester war von P. Schneider [18] nach folgendem Schema hergestellt worden (Harvard-ETH-Variante der Vitamin-B₁₂-Synthese):



Bereits in einem ersten Identifikationsexperiment (Juni 1970, 'Riga') waren vom synthetischen, kristallisierten 5,15-bis-nor-Cobester (ca. 1,5 mg Material) zu den Spektren des auth. Esters (1) gut übereinstimmende UV, IR und ORD-Spektren erhalten worden [18], [32]. Die Unterschiede in den beiden NMR-Spektren war den unterschiedlichen Aufnahmebedingungen (auth: 16 mg, 1 scan; synth: 1,5 mg, 200 scans CAT) und der verschiedenen Qualität der beiden Proben zugeschrieben worden (auth: 3 x krist.; synth: 1 x krist.). *23 Da das nicht klare NMR-Spektrum des synthetischen Materials und die Unterschiede der Schmelzpunkte der beiden Proben (auth: 122^o; synth: 115^o C) nicht befriedigten, wurde im November 1970 ein zweites Identifikationsexperiment mit mehr Material (ca. 20 mg) gestartet. Das hier beschriebene Experiment wurde aber immer noch mit der Annahme in Angriff genommen, dass der Hauptanteil des synthetischen 5,15-bis-nor-Cobesters (nach DC einheitlich, noch kein LLC vorhanden) aus dem $\alpha\alpha\alpha$ -Isomeren bestehen würde. Erst das gut aufgelöste NMR-Spektrum des viermal kristallisierten Materials zeigte, dass der kristallisierte Hauptanteil aus einem 1:1 Gemisch der $\alpha\alpha\alpha$ - und $\alpha\alpha\beta$ -Isomere bestand (vgl. S. 84), also nicht wie ursprünglich angenommen nur aus dem $\alpha\alpha\alpha$ -Isomeren.

Zuerst konnte dann später W. Fuhrer alle 8 möglichen Isomere (bzgl. C-3, C-8 und C-13) des 5,15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid-f-nitrils (4) rein darstellen und charakterisieren, die er auf photochemischem Weg erhalten hatte [35]. Dadurch war es der Harvard-Gruppe möglich, den nach der Harvard-ETH-Variante ('Schneider-Cyclisierung') erhaltenen Komplex (4) ebenfalls in die Isomere aufzutrennen und zu untersuchen. Dabei wurde das folgende Isomerengemisch festgestellt: *24

C-3	C-8	C-13	%	
α	α	α	36,0	
α	α	β	31,0	
α	β	α	6,6	C-3- α : 78,9%
α	β	β	5,3	
β	α	α	9,6	
β	α	β	7,9	
β	β	α	1,9	C-3- β : 21,1%
β	β	β	1,7	

(LLC-Chromatogramm dieses Gemisches (vgl. Abb. 23))

Die zu P. Schneider analoge Ueberführung des 5,15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamids (5) mit $\alpha\alpha\alpha$ -Konfiguration mit Trimethyloxoniumtetrafluorborat in den Methylester (1), führte zu keiner Isomerisierung an den Seitenketten [35]. Aus diesem Grund musste dann später angenommen werden, dass der von P. Schneider synthetisierte 5,15-bis-nor-Cobester ursprünglich aus einem ähnlichen Isomerengemisch bestanden haben musste, wie dasjenige des von der Harvard-Gruppe erhaltenen 5,15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid-f-nitrils (4) (vgl. oben).

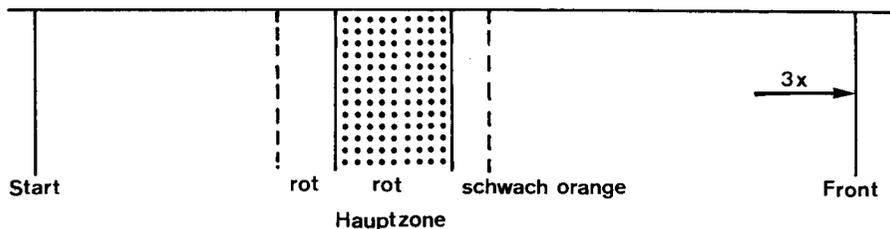
Rund zwei Jahre nach der zweiten Charakterisierung des synthetischen 5,15-bis-nor-Cobesters (als $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ -Gemisch) wurde dann auch noch das nicht kristallisierbare Material der Mutterlaugen mit Hilfe der flüssig-flüssig Verteilungschromatographie weiter untersucht (Feb. 1973).

*23) vgl. S. 141 in P. Schneider, Diss. ETH 1972

*24) R. B. Woodward, Vortrag Universität Freiburg i. Br. 12. 2. 1973

Mit einiger Sicherheit konnte dann noch das $\beta\alpha\alpha/\beta\alpha\beta$ -Isomerenpaar nachgewiesen werden (Der Anteil dieser zwei Isomere am ursprünglichen Gemisch konnte zu ca. 15% abgeschätzt werden). Obschon das LLC (vgl. Abb. 22) noch weitere Zonen zeigte, konnten die weiteren möglichen Isomere ($\alpha\beta\alpha/\alpha\beta\beta - \beta\beta\alpha/\beta\beta\beta$) infolge zu geringer Substanzmengen leider nicht mehr nachgewiesen werden.

22,9 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_8/570) = 12'000$) einmal chromatographierter, synthetischer 5,15-bis-nor-Cobester *25 wurde nochmals auf einer Dickschichtplatte chromatographiert:



Das Silicagel der Hauptzone und der vereinigten (!) Randzonen wurde mit Methylchlorid/Methanol (9:1) extrahiert. Die roten Lösungen wurden am Rotovap vollständig eingeeengt und die resultierenden Öle trocknete man während 15 min am HV bei RT. Das Material der Hauptzone wurde anschließend in 10 ml Benzol/Hexan (4:1) aufgenommen und diese Lösung dreimal mit 15 ml gesättigter KCl/0,1% KCN-Lsg. gewaschen, die wässrigen Auszüge wurden noch zweimal mit Benzol/Hexan extrahiert. Die organischen Phasen wurden durch Watte filtriert, das Lösungsmittel am Rotovap entfernt und der verbleibende Rückstand während ca. 1 h am HV getrocknet.

Die spektroskopische Ausmessung ergab folgende Werte:

Hauptzone: 18,1 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_8/570) = 12'000$) entsprechend 19,2 mg
 Randzonen: 3,33 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_8/570) = 12'000$) entsprechend 3,5 mg

Aufgrund des IR-Spektrums *26 bestand das Material der vereinigten Randzonen aus ca. 50% 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton (vor allem aus Nachlaufzone, vgl. R_f -Werte S. 78), während der Anteil dieses Nebenprodukts in der Hauptzone nur noch ca. 5% betrug, und somit deutlich kleiner war, als im eingesetzten Material (Anteil ca. 15%).

*25) Material aus dem in P. Schneider, Diss. ETH 1972 auf S. 135-139 beschriebenen Ansatz und drei analogen Nachschubansätzen.

*26) Die Abschätzung der Lactonanteile erfolgte aufgrund der relativen Intensität der Lactonbande bei 1805 cm^{-1} zur Chromophorbande bei 1600 cm^{-1} (CCl_4):

Hauptzone: 0,08 (nur sehr schwache Schulter zur COOCH_3 -Bande bei 1740 cm^{-1}).
 Randzonen: 0,68

eingesetztes Material (Schneider): 0,27 (vgl. Abb. 87, S. 138, P. Schneider, Diss. ETH, 1972)

5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton (vgl. Abb. 13): 1,15

Kristallisation

18,1 μMol ($\mathcal{E}(\text{C}_6\text{H}_6/570) = 12'000$) des obigen Hauptzonenmaterials wurden in 2,4 ml Methylacetat *27 und 6,5 ml Hexan *28 bei RT zur Kristallisation angesetzt. Nach dem Animpfen mit Kristallen aus einem Vorversuch *29 fielen langsam rote Kristalle in Form von langen dünnen Nadeln an. Nach 24 h wurden 1,3 ml Hexan zugegeben und nach einem weiteren Tag nochmals 0,5 ml Hexan. Da anschliessend das Corrin langsam auszublößen begann, wurde nach weiteren 4 Tagen bei RT die Mutterlauge abpipettiert und die an der Kolbenwand haftenden Kristalle zweimal mit ca. 2 ml Hexan gewaschen (Mutterlauge I: 4,80 μMol ($\mathcal{E}(\text{C}_6\text{H}_6/570) = 12'000$)). Die Kristalle der ersten Kristallisation wurden in ca. 1 ml Methylacetat *27 gelöst und unter Filtration durch Watte in ein neues Kölbchen transferiert. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels am Rotovap wurde der ölige Rückstand während 1 h am HV bei RT (0,05 Torr) getrocknet.

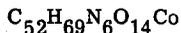
Die folgenden drei Umkristallisationen wurden in ähnlicher Zeit und ähnlichen Lösungsmittelmengen wie die erste Kristallisation durchgeführt. Am Schluss der letzten Umkristallisation wurden die Kristalle mit der Mutterlauge auf eine G 3 Glasfilternutsche (\varnothing ca. 1 cm) transferiert und einmal mit der Mutterlauge gewaschen. Die Kristalle wurden auf der Nutsche während 12 h am HV (0,05 Torr) getrocknet, in ein Analysenröhrchen transferiert und erneut während 12 h am HV getrocknet; 8,8 mg (entspr. 8,3 μMol) rote, lange, feine Nadeln.

Substanzmengen in den Mutterlauge:

Mutterlauge	II:	1,31 μMol	($\mathcal{E}(\text{C}_6\text{H}_6/570) = 12'000$)
"	III:	0,48 μMol	"
"	IV:	2,38 μMol	"
Summe " I-IV :		8,97 μMol	"

(Die eigentliche Mutterlauge IV enthielt nur ca. 0,3 - 0,4 μMol Corrine. Die oben angegebenen 2,38 μMol resultierten aus der eigentlichen Mutterlauge und dem kristallinen Material, das an der Kolbenwand, der Nutsche und dem Spatel hängengeblieben war und nicht ins Analysenröhrchen hatte transferiert werden können.)

Viermal kristallisiertes Material: 8,8 mg 5,15-bis-nor-Cobester- $\alpha\alpha\alpha + \alpha\alpha\beta$ (synth.) *30



MG 1060

m.p. 112 - 115^o C (auth. 5,15-bis-nor-Cobester: 120 - 122^o C)

*27) Methylacetat, dest. Sikkon, filtriert durch bas. Alox I, erneut dest. unter Argon.

*28) Hexan, zweimal dest. über P_2O_5 , filtriert durch bas. Alox I.

*29) ca. 50-100 γ Material aus dem 1. Identifikationsexperiment Juni 1970.

*30) Die Spektren dieser Probe wurden parallel und unter gleichen Bedingungen wie diejenigen des auth. 5,15-bis-nor-Cobesters (1) (vgl. S. 67) aufgenommen.

UV (CH₃OH/
0,01% KCN
(Abb. 16)

0,322 mg in 10 ml
562(10'700 max), 539(6'500 min), 525(7'000 max),
496(4'200 min), 491(4'300 max), 437(1'900 min),
410(3'400 max), 397(2'500 min), 390(3'100 sh) 357(28'300 max),
343(14'100 sh), 326(5'800 min), 315(7'900 max),
308(6'700 min), 300(8'500 max), 290(7'000 sh), 284(6'600 min),
272(11'600 max), 257(6'800 min), (211(51'700 max)).

Die Positionen der Maxima sind identisch mit denjenigen des reinen $\alpha\alpha\alpha$ -Isomeren (auth. 5,15-bis-nor-Cobester, vgl. Abb. 6), ebenso sind die Intensitäten auf den ersten Blick gleich. Bei sehr detaillierter Untersuchung der Spektren werden die folgenden sehr geringen Unterschiede in den Intensitätsverhältnissen (Werte des $\alpha\alpha\alpha$ -Isomeren in Klammern) beobachtet:

α -Bande zu Minimum zwischen α und β -Bande: 1,66 (1,70)
 α -Bande zu β -Bande: 1,50 (1,40)
 γ -Bande zu α -Bande: 2,65 (2,55)

Die Schulter bei 491 nm im Spektrum des $\alpha\alpha\alpha$ -Isomeren erscheint hier etwas intensiver, sodass eine eigentliche, allerdings sehr schwache, Bande bei 491 nm und ein Minimum bei 496 nm vorliegen.

UV (C₆H₆)
(Abb. 16 a)

0,329 mg in 10 ml
570(12'000 max), 547(7'000 min), 534(7'900 max), 497(3'800 sh),
446(2'000 min), 418(4'400 max), 405(3'400 min), 395(4'100 sh),
362(27'300 max), 334(7'400 min), 320(9'600 max),
312(8'000 min), 305(9'100 max), 296(7'600 min),
293(7'700 max), 288(7'600 min), 276(13'400 max).

$\gamma/\alpha = 2,29$

Wie in CH₃OH sind auch in C₆H₆ die Positionen der Maxima gleich wie beim $\alpha\alpha\alpha$ -Isomeren, Intensitätsverhältnisse ($\alpha\alpha\alpha$ - (1) in Klammern):

α -Bande zu Minimum zwischen α und β -Bande: 1,71 (1,69)
 α -Bande zu β -Bande: 1,51 (1,48)
 γ -Bande zu α -Bande: 2,29 (2,22)

Bei 497 nm ausgeprägtere Schulter gegenüber dem $\alpha\alpha\alpha$ -Isomeren (vgl. Abb. 6).

IR (CCl₄)
(Abb. 17)

2120 w (CoCN), 1740 s (COOCH₃), 1640 w/1600 m/1575 m/
1520 s (chromophor), 1435 s, 1364 s, 1172 s, 1103 s, 1008 m.
Gegenüber dem Spektrum des auth. 5,15-bis-nor-Cobesters werden einzig zwei sehr geringe Intensitätsunterschiede in den Doppelbanden bei 1040 und 940 cm⁻¹ beobachtet (vgl. Abb. 7 und Abb. 17)

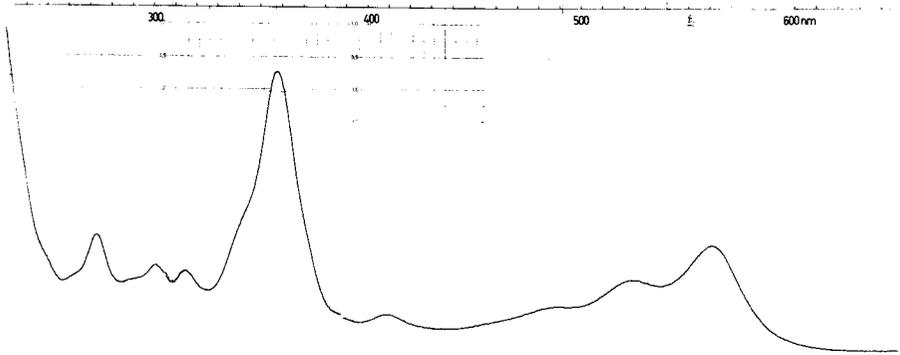


Abb. 16

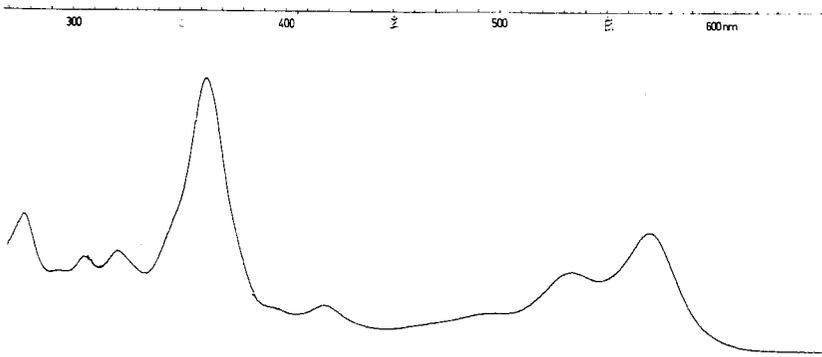


Abb. 16a

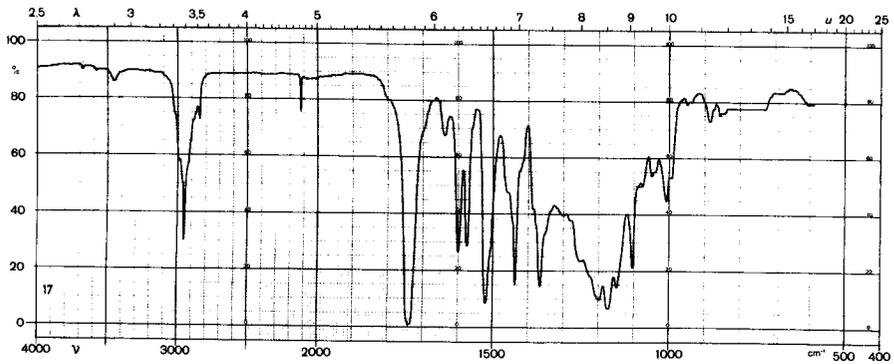


Abb. 17

NMR (C_6D_6)
*17

(Abb.18)

8,2 mg in 100 μ l Mikrozelle

	Bereich	Integral T	E	E'
A: H-C-5: 5,96/H-C-10:5,77/H-C-15:5,71	6,0 - 5,5 ppm	3	2,75	2,75
B: Ester: 3,56/3,45 (0,5)/3,43/3,38(2)/3,35 (0,5)/3,25/3,22	4,4 - 3,0 ppm	25	25,0	25,0
C: (ohne H_2O -Signal)	3,0 - 1,6 ppm	23	23,7	23,7
D: Methyl: 1,48/1,40/ 1,10(ca. 2)/1,07(ca. 0,5) 1,01(ca. 1)/0,89(ca. 0,5)	1,6 - 0,8 ppm	18	17,6	17,6
H_2O ? : 1,69 (ca. 2,4 H)				

Unterschiede gegenüber dem Spektrum des $\alpha\alpha\alpha$ -Isomeren (vgl. Abb. 8):

Vinyl-H: Die Lage der Signale ist identisch, das Signal für das H-C-10 ist etwas kleiner, dafür aber breiter. Die generell etwas geringere Auflösung im Spektrum des kristallinen synth. 5,15-bis-nor-Cobesters ist vermutlich auf das Isomeren-gemisch zurückzuführen und nicht auf apparative Schwierigkeiten (vgl. die in beiden Fällen gleich breiten Signale für TMS).

Ester: Das Signal bei 3,45 ppm ist nur halb so hoch (nur einem 'halben' Ester entsprechend), dafür findet man ein neues, ebenfalls in der Intensität einem 'halben' Ester entsprechendes Signal bei 3,35 ppm. Die Lage und die Intensität der übrigen Estersignale (3,56/3,43/3,38(2)/3,25/3,22) sind gleich wie beim $\alpha\alpha\alpha$ -Isomeren.

Methyl: Aus der Art der Signale können 50% des Materials dem $\alpha\alpha\alpha$ -Isomeren entsprechen. Bei den restlichen 50% müssten dann mindestens 3 Methylgruppen eine Verschiebung erfahren haben, was zum nicht leicht interpretierbaren Signalhaufen führt (vgl. Abb. 18).

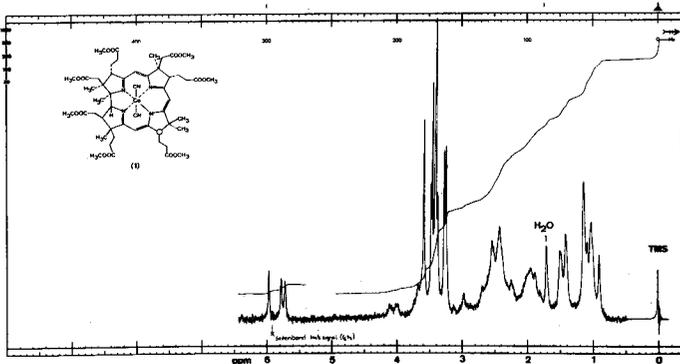


Abb. 18

CD (CH₃OH/
0,01% KCN
(Abb. 19)

$c = 3,95 \times 10^{-5}$ Mol/lit (\mathcal{E} (CH₃OH/562) = 11'000)
562(-13,3), 524(-6,4), 482[0.0], 415(+8,5), 407(+7,9),
393(+11,3), 388(+11,0), 382(+10,9), 354[0.0], 337(-5,7),
324[0.0], 321(+1,3), 318[0.0], 313(-3,6), 308(-1,3),
296(-6,9), 285[0.0], 274(+3,9), 254[0.0], 244(-7,0), 233[0.0].

Auf den ersten Blick bestehen nur sehr unbedeutende Unterschiede zwischen diesem Spektrum und demjenigen des auth. Esters (1) ($\alpha\alpha\alpha$). Die Unterschiede können dadurch besser sichtbar gemacht werden, dass angenommen wird, dass 50% des Materials dem $\alpha\alpha\alpha$ -Isomeren entspricht und danach mit Hilfe des Spektrums des $\alpha\alpha\alpha$ -Isomeren (vgl. Abb. 9) das Spektrum des unbekanntens Anteils konstruiert wird. Dieses konstruierte Spektrum ist in Abb. 20 dargestellt und zeigt nur unterhalb 350 nm deutliche Unterschiede. Um die Unterschiede noch besser sichtbar zu machen, ist noch das Differenz-CD-Spektrum *31 zwischen dem auth. $\alpha\alpha\alpha$ -Isomeren und dem konstruierten Spektrum des unbekanntens Anteils in Abb. 21 dargestellt (Das gleiche Differenz-CD kann erhalten werden, wenn die Unterschiede der ursprünglichen Spektren (auth. $\alpha\alpha\alpha$ -Isomeres gegenüber dem synth. Gemisch) verdoppelt aufgetragen werden).

ORD (CH₃OH/
0,01% KCN)

$c = 4,23 \times 10^{-5}$ mol/lit (\mathcal{E} (CH₃OH/562) = 11'000)
579(-25'100), 559[0.0], 545(+15'800 sh), 510(+27'900),
482(+24'600 sh), 453(+19'500), 429(+24'100), 403(+11'100 sh),
393[0.0], 356(-43'700), 326(0,0), 316(-19'500), 310(-10'700),
304(-18'600), 298[0.0], 285(+13'900), 275[0.0], 252(-19'500),
247[0.0], 234(30'200).

Der Verlauf dieses Spektrums ist über den ganzen Bereich gleich wie beim auth. $\alpha\alpha\alpha$ -Isomeren. Als einziger Unterschied findet man, dass alle Drehwerte oberhalb 400 nm nach der negativen Seite hin verschoben sind (praktisch zur Nulllinie nur parallele Verschiebung). Dies zeigt sich an den weniger positiven Werten zwischen 400 nm und 560 nm und den stärker negativen Werten oberhalb 560 nm.

DC

$R_f = 0,277$ (1,03) einheitlich, nicht unterscheidbar vom auth. $\alpha\alpha\alpha$ -Isomeren

*31) Für die Differenz-CD aller 8 Isomere des 5,15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid-f-nitrils (4) und ihre Bedeutung für die Zuordnung vgl. W. Fuhrer, Diss.ETH 1973.

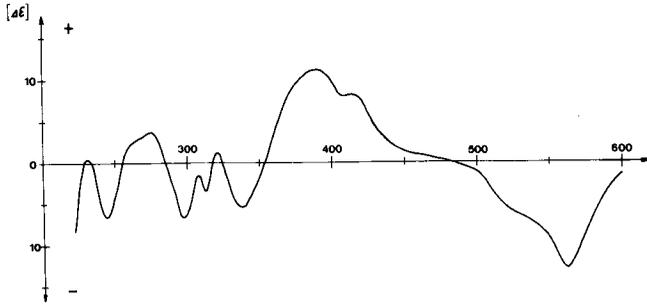


Abb. 19: CD-Spektrum: 5,15-bis-nor-Cobester-C-13-Epimerengem.

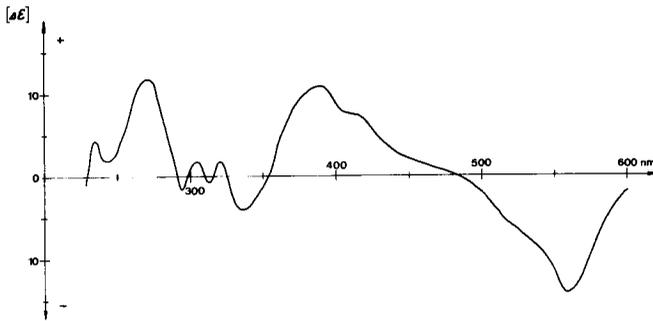


Abb. 20: konstr. CD-Spektrum des $\alpha\alpha\beta$ -5,15-bis-nor-Cobesters

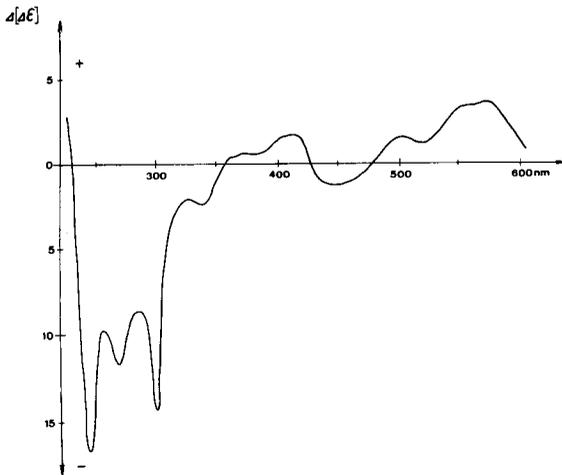


Abb. 21: Differenz CD-Spektrum: $\alpha\alpha\alpha - \alpha\alpha\beta$ (1)

LLC (S I, Kol. A, 90 ml/h) $R_t = 7,0$ min ($3'100, k'=0,52$)
einheitlich
auth. 5,15-bis-nor-Cobester $R_t = 7,0$ min ($3'150, k'=52$)
(S II, Kol. C, 26 ml/h) $R_t = 16,1$ min ($800, k'=1,8$)
einheitlich
auth. 5,15-bis-nor-Cobester $R_t = 16,3$ min ($1000, k'=1,8$)
Die beiden Isomere der synth. Probe waren durch LLC nicht trennbar. In analytischen Mengen hatten die beiden Isomere durch die Harvard-Gruppe auf ihrem LC-System getrennt werden können. Eingehende Versuche zur präparativen Trennung misslangen aber leider.

Die Zuordnung des $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ -Isomerenpaars zum kristallinen synthetischen 5,15-bis-nor-Cobester wurde vor allem durch die systematische Untersuchung aller 8 Isomere des 5,15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid-f-nitrils (4) von W. Fuhrer ermöglicht. Am wichtigsten waren dabei die folgenden Tatsachen:

-NMR: Durch die beiden 'halben' Estersignale kann die Isomerie im wesentlichen nur einen Ester betreffen, der zudem nur geringe oder keine Wechselwirkungen mit weiteren Estergruppen haben kann. Dies trifft zuerst für die Seitenkette e (C-13) zu, da in diesem Fall keine Essigsäureseitenkette in α -Stellung vorhanden ist. Bei den angulären Methylgruppen müssen gleichzeitig mehrere betroffen sein, was wiederum am ehesten am Ring C möglich ist.

CD: Das Differenz-CD-Spektrum (Abb. 21) besitzt den für Ring C-Isomerie typischen Verlauf und ist charakteristisch verschieden von den Differenz-CD-Spektren der Isomere an C-3 und C-8 wie W. Fuhrer sehr schön zeigen konnte.

IR: Die IR-Spektren von C-13-Isomeren waren in allen Fällen praktisch deckungsgleich, sogar bei Cobester (5,15-dimethyl). Die C-3 und C-8 Isomere von (4) wiesen auch nur sehr geringe Differenzen auf, die aber jeweils für das betreffende Isomerenpaar typisch waren.

UV: Die Identität der Absorptionsmaxima schliesst eine C-3-Epimerie aus, da die Fuhrer'schen 3- β -Isomere (4) durchwegs eine um ca. 5 nm bathochrom verschobene α -Bande zeigen (vgl. S. 89).

LLC: Die schlechte Trennbarkeit oder die Nichttrennbarkeit von C-13-Epimeren scheint ein typisches Merkmal für das verwendete LLC-System zu sein. Isomerenverteilung im ursprünglichen Gemisch (vor Kristallisation): Auch beim analogen Aufbau des Corrin-systems im differenzierten Fall ($f = \text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CN}$) hat das $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ -Isomerenpaar einen Anteil von über 60% (vgl. Isomerenverteilung S. 79).

$\beta\alpha\alpha/\beta\alpha\beta$ -Isomerenpaar des synthetischen 5,15-bis-nor-Cobesters

Das Material der auf Seite 80 beschriebenen Randzonen und dasjenige der Mutterlaugen I - IV (S. 81) wurde zusammengenommen (total $12,4 \mu\text{Mol}$ ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/570) = 12'000$)) den analogen Veresterungsbedingungen unterworfen, die bei der Herstellung des authentischen Materials angewendet worden waren (5,5 Tage, 65°C , $1,2 \text{ M H}_2\text{SO}_4/\text{MeOH}$, vgl. S. 65). Man erhoffte von diesem Vorgehen, mögliche andere Isomere (an C-3 und C-8), hauptsächlich zum $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ -Isomerenpaar isomerisieren zu können.

Ueber Isomerisierungsmöglichkeiten der Seitenketten am Corrin waren damals noch nichts bekannt, ebenso fehlte die flüssig-flüssig Verteilungschromatographie. Nach Aufarbeitung und Dickschichtchromatographie wurden 9,82 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/570) = 12'000$) 80% corrinoides Material isoliert. Beim nachfolgenden Kristallisationsversuch konnten nur 3 mg (30%) des Materials kristallisiert werden. Diese Menge entspricht mehr oder weniger der Substanzmenge in der Mutterlauge IV (S. 81) des eingesetzten Materials, die wahrscheinlich fast ausschliesslich aus dem $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ -Gemisch bestanden hatte. Wie dieses Resultat, sowie die Isolierung von nur einem Isomeren bei der Herstellung des authentischen 5,15-bis-nor-Cobesters, und schliesslich die Ergebnisse von W. Schilling [38] bei der Isomerisierung des $\beta\alpha/\beta\beta$ -5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitrils (6) (an C-3) zeigen, findet unter den Veresterungsbedingungen keine Isomerisierung statt.

Rund zwei Jahre später wurde das noch vorhandene, nicht kristalline, synthetische Material der flüssig-flüssig Verteilungschromatographie unterworfen:

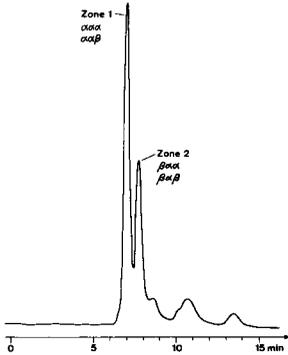


Abb. 22

(S I, Kol. A, 90 ml/h) Abb. 22
Mengenberechnung aus $\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/570)=12'000$

eingesetztes Material: 5,94 μMol
Zone 1 ($R_t = 7,0$ min): 2,88 μMol
Zone 2 ($R_t = 7,8$ min): 1,68 μMol
nachfolgende Zonen: 1,10 μMol , anhand des UV- und IR-Spektrums besteht der Hauptanteil dieser Zonen aus Lacton-komplexen; dieses Material wurde nicht mehr weiter untersucht.

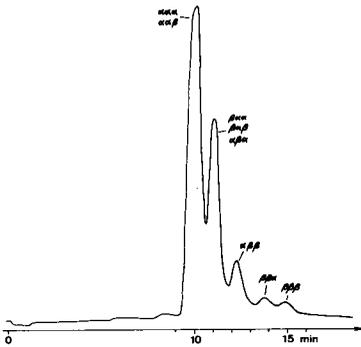


Abb. 23

Zum Vergleich ist nebenstehend das Chromatogramm des durch den gleichen Corrin-aufbau erhaltenen Gemisches im Fall des 5,15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid-f-nitrils (4) angegeben *32. Abb. 23

*32) hergestellt von der Harvard-Gruppe, chromatographiert an der ETH.

Das Material der Zone 1 ($R_t = 7,0$ min) entsprach aufgrund des UV-Spektrums und dem LLC- R_t -Wert (inkl. Bodenzahl) dem kristallinen $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ -Isomerenpaar und konnte aus Methylacetat/Hexan zu 80% kristallisiert werden.

Zone 2 ($R_t = 7,8$): Zur vollständigen Abtrennung von der Zone 1 wurde das rote Oel dieser Zone nochmals der flüssig-flüssig Verteilungschromatographie unterworfen. Das so gereinigte Material ($1,45 \mu\text{Mol}$ ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/576) = 12'000$) wurde zur Abtrennung von Lösungsmittelrückständen auf einer Silicagel-Dünnschichtplatte chromatographiert. Das Silicagel der Corrinzone wurde mit Methylenchlorid/Methanol (9:1) extrahiert und das Lösungsmittel am Rotovap entfernt. Der rote Rückstand wurde in ca. 7 ml Methylenchlorid aufgenommen und die Lösung zweimal mit ca. 15 ml gesättigter KCl/0,1% KCN-Lösung gewaschen. Die wässrigen Phasen extrahierte man noch zweimal mit 5 ml Methylenchlorid. Die organischen Phasen wurden durch Watte filtriert und das Filtrat am Rotovap vollständig eingeeengt. Der ölige Rückstand wurde während 30 min am HV bei RT getrocknet. Nach der spektroskopischen Ausmessung ($1,35 \mu\text{Mol}$ ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/576) = 12'000$)) wurde das Material in ca. 1 ml CCl_4 aufgenommen und die Lösung unter Filtration durch Watte in einen neuen Kolben transferiert. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels am Rotovap wurde das rote Oel während 14 h am HV bei RT getrocknet und dieses Material zur Bestimmung der spektroskopischen Daten benutzt.

$\beta\alpha\alpha/\beta\alpha\beta$ -5,15-bis-nor-Cobester

$\text{C}_{52}\text{H}_{69}\text{N}_6\text{O}_{14}\text{Co}$

MG 1060

UV ($\text{CH}_3\text{OH}/$
0,02% HCN)

qualitativ
567(0,388 max), 543(0,237 min), 530(0,272 max), 495(0,152 sh),
440(0,070 min), 415(0,133 max), 401(0,104 min), 360(1,000max),
346(0,520 sh), 328(0,210 min), 317(0,294 max), 310(0,242 min),
302(0,316 max), 292(0,260 sh), 285(0,244 min), 273(0,441 max),
258(0,276 min), (218(1,710 max)).

IR (CCl_4)

2118 w (CoCN), 1738 s (COOCH_3), 1633 w/ 1595 m/ 1570 m/
1518 s (Chromophor), 1435 m, 1363 m, 1160 s, 1108 m, 1010w.

MS (Di 170⁰)

1034(ca.1%, M^+ -CN), 1020(2%), 1006(3%), 988(1%), 974(4%),
962(9%), 948(45%), 934(100%, M^+ -2CN- $\text{CH}_3\text{COOCH}_3$), 918(11%),
904(16%), 888(30%), 874(37%), 860(29%), 846(14%).

CD ($\text{CH}_3\text{OH}/$
0,02% HCN)

$c = 4,27 \times 10^{-5} \text{ Mol/lit}$ ($\epsilon(\text{CH}_3\text{OH}/567) = 11'000$)
567(-8,8), 533(-4,4 sh), 478[0.0], 418(+8,8), 411(+8,0),
396(+11,5), 390(+11,3), 383(+11,5), 372(+7,5 sh), 362[0.0],
353(-5,4 sh), 340(-8,0), 323(-2,1), 316(-6,0), 309(-2,7),
301(-9,0), 282[0.0], 277(+1,3), 268[0.0], 249(-10,7),
236[0.0].

DC $R_f = 0,273 (1,02)$ einheitlich

LLC (S I, Kol. A, 90 ml/h) $R_t = 7,8$ min ($2'500, k' = 0,73$)
 einheitlich
 krist. $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ -Gemisch $R_t = 7,0$ min ($3'100, k' = 0,52$)

Die spektroskopischen Unterschiede gegenüber dem kristallinen $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ -Gemisch entsprechen denjenigen, die W. Fuhrer zwischen dem $\alpha\alpha\alpha$ und $\beta\alpha\alpha$ Isomeren von (4) gefunden hat:

UV: Das ganze Spektrum ist bathochrom verschoben: (in CH_3OH)

α -Bande:	5 nm (567 nm gegenüber 562 im $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ -Gemisch)
β -Bande:	5 nm (530 nm " 525 im ")
D-Bande:	5 nm (415 nm " 410 im ")
γ -Bande:	3 nm (360 nm " 357 im ")

CD: Das Differenz-CD ($\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta - \beta\alpha\alpha/\beta\alpha\beta$, vgl. Abb. 24) *31, berechnet aus den CD-Spektren des kristallinen $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ -Paares und obiger Probe, zeigt den für Ring-A-Isomere typischen Verlauf. Bestünde die vorliegende Probe zum Beispiel nur aus dem $\beta\alpha\alpha$ -Isomeren, wäre dies nicht der Fall.

LLC: Erstaunlich war das analoge Verhalten der gleichen Isomere der Komplexe (1) und (4) im LLC (vgl. Abb. 22 und 23).

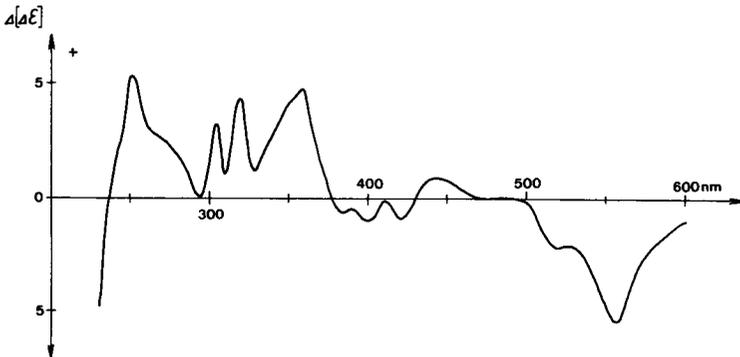


Abb. 24: Differenz CD-Spektrum: $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta - \beta\alpha\alpha/\beta\alpha\beta$ (1)

Da zwischen der Kristallisation der Hauptmenge und der LLC-Untersuchung des übrigen Materials zwei Jahre verstrichen (mit einem Isomerisierungsversuch und mehreren Kristallisationsexperimenten), kann der Anteil des $\beta\alpha\alpha/\beta\alpha\beta$ -Gemisches am ursprünglichen rohen 5,15-bis-nor-Cobester nur noch ganz grob zu 15% abgeschätzt werden. Dieser Wert passt zu der in der Einleitung erwähnten Annahme, dass der synthetische 5,15-bis-nor-Cobester ein analoges Isomerengemisch aufwies, wie das durch den gleichen Corrinaufbau synthetisierte 5,15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid-f-nitril (4).

III EINFUEHRUNG DER METHYLGRUPPEN AN C-5 UND C-15

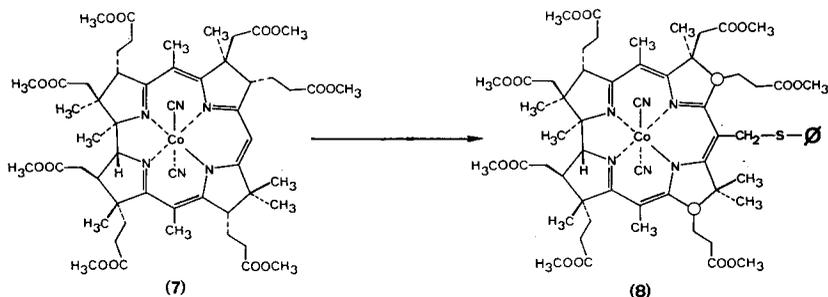
Die Versuche zur Einführung der Methylgruppen an C₅ und C₁₅ des Corrinchromophors sind in historischer Reihenfolge beschrieben:

- Vorversuch: Methylierung von Cobester (7) zu 10-Methyl-cobester (11).
- Methylierung von auth. 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton (3) zu Cobester (7) (S.97).
- Methylierung von synth. 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitril (6) mit Chlormethyl-methyl-äther, die nicht zum erwarteten Cobester-f-nitril (9), sondern zu Cobester (7) führte ('Black Friday') (S.107)
- Methylierung von (6) zu f-Nitril (9) und Ueberführung ins f-Amid (10), 1. Identifikation mit ca. 100 γ synthetischem Material. (S.126)
- Methylierung unter den endgültigen Reaktionsbedingungen mit Identifikation der f-Nitrile (9) und der f-Amide (10), sowie spektroskopische Untersuchung der Nebenprodukte der Alkylierung (S.146).

Die Zuordnungen von Produkten der vorläufigen Versuche beruhen häufig auf den gut charakterisierten Produkten der letzten Versuchsreihe.

III 1. VORVERSUCH: 10 - METHYL - COBESTER

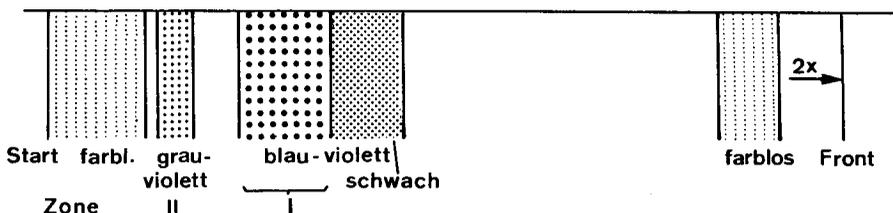
III 1.1. Alkylierung von Cobester (7) zu 10-Phenylthiomethyl-cobester (8)



30,3 mg (27,8 μMol) krist. Cobester (7) *33 wurden in 1 ml Sulfolan *34 unter Argon gelöst und die Lösung mit 0,1 ml (ca. 0,725 mMol) Chlormethylbenzyläther *35 versetzt, wobei sich die anfänglich violette Lösung dunkelrot färbte. Unter Argon rührte man die Lösung während 12,5 h bei 50° C (Oelbadtemp.). Nach dem Abkühlen auf RT wurden unter Rühren 0,3 ml (ca. 2,94 mMol) Thiophenol *36 zugegeben und die Lösung während 2 h bei RT weitergerührt *37. Zuerst wurden 0,1 ml N-Aethyl-diisopropylamin *38 zugegeben, 3 min bei RT gerührt, worauf nach der Zugabe von nochmals 0,2 ml Base (total ca. 1,74 mMol) und einer weiteren Minute Rühren die

braungrüne Lösung in ca. 5 ml Benzol/Hexan (4:1) aufgenommen und zwölfmal mit je ca. 15 ml gesättigter KCl/0,1% KCN-Lösung gewaschen wurde *39. Die wässrigen Auszüge extrahierte man jeweils noch zweimal mit je ca. 5 ml Benzol/Hexan (4:1). Die organischen Phasen wurden durch Watte filtriert und das blau-violette Filtrat wurde am Rotovap bis auf ca. 0,1 ml eingengt *40.

Dieser Rückstand wurde sofort mit Benzol auf eine Silicagel-Dickschichtplatte aufgetragen und chromatographiert:



Das Silicagel der beiden Zonen I und II wurde je mit Methanol/Methylenchlorid (5:95) extrahiert und die beiden Filtrate am Rotovap vollständig eingengt. Aufgrund der Elektronenspektren wurden folgende Ausbeuten bestimmt:

I: 16,4 μMol ($\epsilon(\text{C}_8\text{H}_6/609) = 11'000$) 59% 10-Phenylthiomethyl-cobester(8)

II: 3,73 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/602) = 11'000$) 13% ? λ_{max} bei 602 und 374 nm ($\gamma/\alpha = 2,60$) anhand des bathochromen UV/VIS-Spektrums handelt es sich um ein C-10-substituiertes Produkt, die Art des Substituenten wurde nicht abgeklärt.

*33) Hergestellt nach L. Werthemann, Diss. ETH 1968, S.67

*34) Sulfolan, Fluka purum, gereinigt nach Whiting et al. J.chem.Soc. 4707 (1964), und dreimal durch eine Vakuummantelvigreuxkolonne am HV destilliert.

*35) Chlormethylbenzyläther, hergestellt nach D. S. Connor et al. Org. Syntheses 52, 16 (1972), und am HV destilliert, enthält nach NMR höchstens 3% Benzylchlorid.

*36) Thiophenol Fluka purum, am Wasserstrahlvakuum (13 Torr) destilliert.

*37) Zwischen der Kontaktzeit von 2 h oder wenigen Minuten (≤ 5 min) des Thiophenols konnten sowohl in der Ausbeute wie in der Produktverteilung keine Unterschiede festgestellt werden.

*38) N-Aethyl-diisopropylamin Fluka purum, über Natrium destilliert.

*39) Durch das mehrmalige Ausschütteln kann das Sulfolan abgetrennt werden, vgl. P. Schneider, Diss. ETH 1972, S.68.

*40) Bei allen Alkylierungsversuchen mit Chlormethyl-benzyl-äther wurde beim Einengen der aufgearbeiteten Reaktionslösung ein schwerflüchtiger, farbloser Anteil gefunden, der mengenmässig ungefähr dem eingesetzten Chlormethylbenzyläther entsprach. Der Geruch sowie das chromatographische Verhalten (ein Teil läuft praktisch mit der Front, der andere überzieht das Silicagel vom Start weg bis er anscheinend aufgebraucht ist) deuten auf nicht umgesetzten Chlormethylbenzyläther hin.

Zur Kristallisation wurde der 10-Phenylthiomethyl-cobester (8) (16,4 µMol) in 2 ml Methylacetat *27 gelöst, und die Lösung versetzt man langsam mit ca. 4 ml Hexan. Die Kristallisation setzte spontan ein und nach 20 h wurden 3 ml, nach weiteren 8 h und nach nochmals 12 h je 3 ml Hexan zugegeben. 4 h nach der letzten Zugabe wurden die Kristalle (grün-schwarze Nadeln) mit der Mutterlauge auf eine Glasfilternutsche transferiert und dort einmal mit der Mutterlauge gewaschen. Nach dem Trocknen am HV während 2 h bei RT erhielt man 18,25 mg kristallinen 10-Phenylthiomethyl-cobester (54%) (Mutterlauge: 1,48 µMol, $\epsilon(C_6H_6/609) = 11'000$ 5%). Zusammen mit 8,4 mg (1 x krist.) 10-Phenylthiomethyl-cobester aus zwei Vorversuchen wurden die oben erhaltenen 18,25 mg aus Methylacetat/Hexan einmal umkristallisiert. Nach 20-stündigem Trocknen am HV bei RT wurden 24,7 mg kristalliner 10-Phenylthiomethyl-cobester (8) isoliert mit den folgenden spektroskopischen Eigenschaften:

10-Phenylthiomethyl-cobester (8) (Isomerengemisch, vgl. NMR)

$C_{61}H_{79}N_6O_{14}S$ Co

MG 1210

UV (C_6H_6) 3,024 mg gelöst in 100 ml (Diese Probe enthielt aufgrund des NMR-Spektrums ca. 1 Mol Methylacetat und 0,8 Mol Hexan pro Mol Corrin. (Die ϵ -Werte wurden entsprechend korrigiert) 609(11'100 max), 581(8'100 min), 573(8'150 max), 526(4'000sh) 461(2'150 min), 434(3'200 sh), 379(33'700 max), 342(7'500 min), 325(10'400 max), 316(9'900 sh), 304(8'100 min), 288(13'600max).
 $\chi/\alpha = 3.04$

IR (CCl_4) 2120 w (CoCN), 1740 s ($COOCH_3$), 1610 w/1560 w/1540 w/1496 m (Chromophor).

NMR (CCl_4)

A: m	Bereich	Integral	
		T	E
B: Ester: Signale bei *41:3,74/3,69/ 3,66/ 3,64/ 3,57/ 3,55/3,53	7,5-7,0 ppm	5	5,25
C: 2,28(3H), 2,20(3H), (1,98(3H) MEE)	4,6-3,1 ppm	27(+3 MEE)	29,4
D: Methyl: Signale bei *41:1,68/1,49/ 1,39/ 1,31/ 1,29	3,1-1,95ppm	29(+3 MEE)	32,4
	1,95-1,0ppm	18	29,9

*41) Aufgrund der Tatsache, dass mehr als die erwartete Anzahl Signale für die Methylester- und die angulären Methylgruppen gefunden werden, die untereinander keine ganzzahligen Verhältnisse besitzen, muss angenommen werden, dass ein Isomerengemisch vorlag (vgl. Diskussion der Reaktionsbedingungen).

Während das Signal bei 1,98 ppm für Methylacetat (MEE) charakteristisch ist, wurde der Hexananteil in den Kristallen nur aufgrund des Integrationswertes zwischen 1,95 und 1,0 ppm vermutet.

DC $R_f = 0,42 (1,25)$

Diskussion der Reaktionsbedingungen

Alkylierungsversuche unter den Bedingungen, die E. L. Winnacker [51] bei der Methylierung des Dicyanocobalt-(III)-1,2,2,7,7,12,12-heptamethyl-corrins angewendet hatte ($C_6H_5-S-CH_2-Cl/AgBF_4/Lsm: CH_3CN$, 20 h, RT), lieferten auch bei der Verwendung eines 100-fachen Reagensüberschusses und bei höheren Temperaturen ($65^\circ - 120^\circ C$) im Fall des Cobesters (7) keine Substitutionsprodukte (Lsm: CH_3CN und Sulfolan).

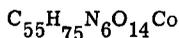
Bei den Alkylierungsversuchen mit Chlormethylbenzyläther in Sulfolan wurden oberhalb ca. $40^\circ C$ Substitutionsprodukte (Bathochromes UV/VIS-Spektrum) erhalten. Der DC- R_f -Wert dieser durch einfache Extraktion isolierten Produkte war kleiner als derjenige des Edukts. Je nachdem wie die Reaktionslösungen transferiert (MeOH, Benzol etc) und extrahiert (mit und ohne Base) worden war, zeigten sich verschiedene Produkte; in keinem wurden im NMR-Spektrum Signale zwischen 7,0 und 7,5 ppm beobachtet. Erst durch die Aufarbeitung mit Thiophenol zeigte das Hauptprodukt, neben einem bathochromen Elektronenspektrum, einen grösseren R_f -Wert als das Edukt; ebenso konnten im NMR-Spektrum Signale zwischen 7,0 und 7,5 ppm beobachtet werden. Es wird deshalb vermutet, dass unter den Reaktionsbedingungen das primäre Substitutionsprodukt ($-CH_2-O-CH_2-C_6H_5$) in das chlormethyl-substituierte Produkt überführt wird. Dieses sehr reaktive Zwischenprodukt reagiert dann bei der Aufarbeitung entweder mit Thiophenol, oder, wenn dieses nicht vorhanden ist, mit Wasser, Methanol usw.

Bei allen Alkylierungsreaktionen an den 5,15-bis-nor-Lactonen (3) und (6) wurde Isomerisierung an C-13 beobachtet (vgl. S. 97/173). In saurem Medium konnte bis jetzt an Vitamin B₁₂ nur an C-13 isomerisiert werden. Die Frage, ob bei der Alkylierung von Cobester neben der Isomerisierung an C-13 auch noch an C-8 isomerisiert wurde, blieb offen. Die relativ komplexen Signale für die Methylester im obigen NMR lassen dies als möglich erscheinen. Anschliessend an den obigen Versuch führte N. Hashimoto eingehende Substitutionsversuche mit Chlormethyl-phenyl-sulfid ohne Silberkatalyse an Cobester durch. Im besten Fall wurde nach 14-stündigem Alkylieren bei $95^\circ C$ in Sulfolan neben ca. 10 weiteren Produkten (nach DC) 19% 10-Phenylthio-methyl-cobester (8) isoliert (nach DC, IR, UV).

III 1.2. Reduktion des 10-Phenylthiomethyl-cobesters (8) zu
10-Methyl-cobester (11)

Das oben erhaltene 10-Phenylthiomethyl-cobester-Isomerengemisch (8) wurde zu Reduktionsversuchen benützt, die hauptsächlich von N. Hashimoto ausgeführt worden waren. Das aus verschiedenen Versuchen mit Raney-Nickel (Methanol/Wasser) erhaltene blaue Produkt (Reaktionsbedingungen analog denjenigen der Reaktion (12)→(7) auf S.100, beste Ausbeute ca. 75%), das bezüglich UV-Spektrum und R_f -Wert mit demjenigen aus einer Zinkamalgam-Reduktion in Essigsäure (vgl. S.181) erhaltenen identisch war, zeigte folgende spektroskopische Eigenschaften *42:

10-Methyl-cobester (Isomerengemisch, C-13 und/oder C-8 ?)



MG 1102

UV(C_6H_6)

qualitativ

619(0,398 max), 584(0,310 sh), 460(0,066 min), 434(0,100 sh),
379(1,000 max), 363(0,504 sh), 343(0,235 min), 326(0,342 max),
320(0,332 min), 316(0,336 max), 304(0,276 min), 291(0,396max),
 $\chi/\alpha = 2,51$

IR ($CHCl_3$)

2120 w ($CoCN$), 1730 s ($COOCH_3$), 1610 w/ 1555 w/ 1540 sh/
1497 s (Chromophor), 1435 s, 1347 m, 1173 s, 1148 s,
1102 m, 1008 m.

NMR (C_6D_6)

ca. 5,5 mg in 0,15 ml

	Bereich	Integral		
		T	E	E'
A: (keine Vinyl-H)		-	-	-
B: Ester: Signale bei *41 3,44/ 3,41/ 3,36/ 3,34/ 3,32/ 3,30/ 3,26/ 3,22	4,3-3,0 ppm	25	21,2	25,0
C: 2,18 (ca. 6 H), 2,10 (ca. 3 H)	3,0-1,75ppm	32	27,0	32,0
D: Methyl: Signale bei *41 1,39/ 1,37/ 1,34/ 1,20/ 1,13/ 0,99	1,75-0,75 "	18	27,0	32,0
DC	$R_f = 0,28$ (1,04)			

*42) Wie später gefunden wurde, wurden bei der Raney-Nickel-Reduktion häufig Produkte erhalten, bei denen die Phenylthiomethylgruppe nicht reduziert, sondern durch Substitution in die Methoxymethylgruppe umgewandelt worden war. Bei der Reduktion des 5,15-Di-phenylthiomethyl-cobester-c-lactons (12) zu Cobester (7) besass ein solches Nebenprodukt ein zu Cobester sehr ähnliches UV-Spektrum und einen fast gleichen R_f -Wert. (vgl. S.117). Bei der für die Reduktion des 5,15-Di-phenylthio-methyl-cobester-c-lacton-f-nitrils (14) ausgearbeiteten Reduktion mit Zink-amalgam (vgl. S.181). trat dieses Nebenprodukt nicht mehr auf. Da das hier charakterisierte Produkt in beiden Reduktionsarten erhalten wurde, sollte es sich um den 10-Methyl-cobester handeln.

Diese vorläufigen spektroskopischen Daten lieferten für die Alkylierung der 5,15-bis-nor-Komplexe wichtige Hinweise für 10-substituierte Kobalt-III-corrin-komplexe:

- die starke bathochrome Verschiebung gegenüber Cobester im UV/VIS-Spektrum (C_6H_8):

α -Bande um 26 nm (von 593 nm nach 619 nm)

γ -Bande um 6 nm (von 373 nm nach 379 nm)

zwischen	23 nm
5,15-bis-nor-	
Cobester	11 nm
und Cob-	
ester:	4 nm

Bande bei 280 nm um 11 nm(von 280 nm nach 291 nm)

- die charakteristische Strukturierung der Chromophorbanden im IR-Spektrum (bei allen 10-substituierten Cobester-derivaten beobachtet:

10-Br, 10-CN, 10-SCN, 10- $CH_2-S-C_6H_5$):

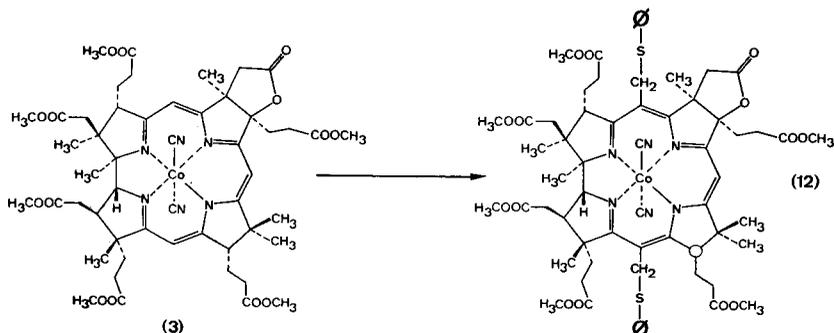
nur eine starke Bande bei 1497 cm^{-1} , die übrigen Banden (1610, 1555, 1540 cm^{-1}) erscheinen nur schwach.

III 2. VORLAEUFIGE (HISTORISCHE) VERSUCHE

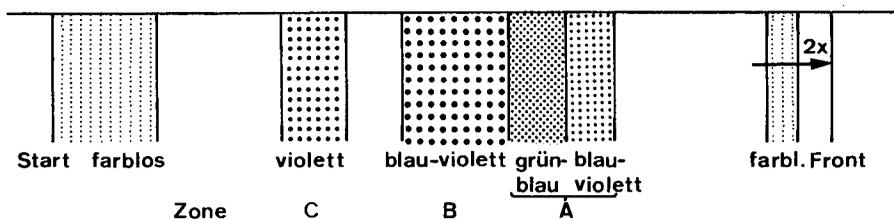
III 2. 1. MAI 1971

Methylierung von auth. 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton (3) durch Alkylierung mit Chlormethylbenzyläther in Sulfolan und Reduktion mit Raney-Nickel

Alkylierungsansatz



7,27 μMol (ϵ ($\text{C}_6\text{H}_6/575$) = 12'000) authentisches 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton (3) (vgl. S.75) wurden in zwei Parallelansätzen umgesetzt: 3,63 μMol wurden in einem Glühröhrchen (Innen- \emptyset = 4,5 mm) in 0,2 ml Sulfolan *34 gelöst, und zur roten Lösung wurden unter Argon bei RT 20 μl (ca. 146 μMol) Chlormethyl-benzyl-äther *35 gegeben. Das Röhrchen wurde unter Argon mit einem PVC-Stopfen und Parafilm verschlossen und anschliessend während 42 h auf 72 - 74° C erhitzt (Oelbad), wobei die Farbe der Lösung auf braun-violett wechselte. Nachdem das Röhrchen mit Eis auf ca. 0° C abgekühlt worden war, wurden unter Argon 72 μl (ca. 705 μMol) Thiophenol *36 zur Reaktionslösung gegeben. Durch kurzes Umschütteln wurde die Mischung homogenisiert und anschliessend während 10 min bei 0° C stehengelassen (Eis/Wasser). Mit total 4 ml Benzol wurde die braunrote Lösung in einen Scheidetrichter transferiert, wo zuerst 0,5 ml Hexan, dann 130 μl (ca. 755 μMol) N-Aethyl-diisopropylamin *38, sofort gefolgt von 10 ml vorgekühlter (1 h mit Eis/Wasser gekühlt) gesättigter KCl-Lösung zugegeben wurden. So schnell als möglich wurde darauf ausgeschüttelt, wobei die Farbe der organischen Phase auf grün wechselte. Total wurde die organische Phase achtmal mit je 10 ml gesättigter KCl/0,1% KCN-Lösung (Farbwechsel auf blauviolett) gewaschen. Die wässrigen Auszüge wurden jeweils zweimal mit je 4 ml Benzol/0,5 ml Hexan extrahiert. Die organischen Phasen wurden durch Watte filtriert, und das blauviolette Filtrat wurde am Rotovap bis auf ca. 0,1 ml eingengt. *40. Der ölige Rückstand wurde sofort auf einer Silicagel Dickschichtplatte chromatographiert:



Da die Chromatogramme der beiden Parallelansätze gleiches Aussehen hatten, wurde das Silicagel der entsprechenden Zonen zusammen mit Methanol/Methylenchlorid (5:95) extrahiert. Das Material der Hauptzone (B) und dasjenige aller übrigen (zusammengenommenen) Zonen, wurden direkt nochmals chromatographiert (je 3 x entwickelt). Das Silicagel der entsprechenden drei Zonen A, B und C aus den zweiten Chromatogrammen wurde je mit Methanol/Methylenchlorid (5:95) extrahiert. Die einzelnen Fraktionen wurden am Rotovap vollständig eingeeengt und ihre Anteile spektroskopisch bestimmt:

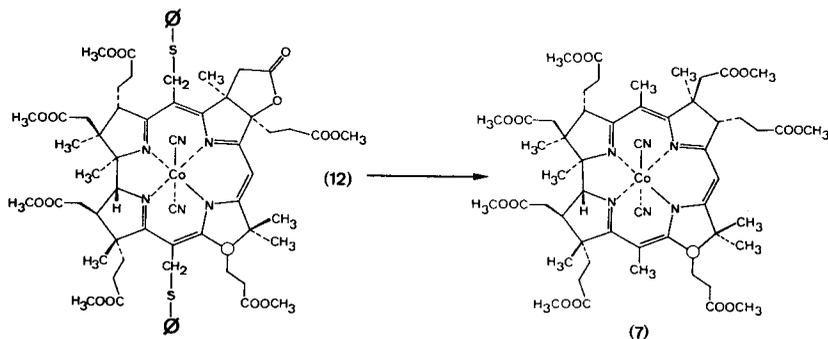
- A: 0,435 μMol ($\mathcal{E}(\text{C}_6\text{H}_6/600) = 17'000$) 8%
 UV (C_6H_6): 600(0,61 max), 564(0,48 sh), 376(1,00 max), $\gamma/\alpha = 1,64$
 In diesem Fall wurde dieses Gemisch (nach DC mindestens 2 Produkte) nicht mehr weiter untersucht. Die elektronenspektroskopischen Daten stimmen mit denjenigen Produkten mit ebenfalls grösseren R_f -Werten als das Hauptprodukt im Falle des f-Nitrils überein (vgl. S. 147).
- B: 3,47 μMol ($\mathcal{E}(\text{C}_6\text{H}_6/598) = 17'000$) 48% 5,15-Di-phenylthiomethyl-cob-
 ester-c-lacton (12)
 UV (C_6H_6): 598(0,63 max), 563(0,49 sh), 374(1,00 max), $\gamma/\alpha = 1,59$
 IR (CCl_4): 2120 w (CoCN), 1805 m (Lacton), 1740 s (COOCH_3), 1585 m/
 1505 m breit (Chromophor), 685 w (Phenyl).
 DC: $R_f = 0,53$ (1,59) / Edukt: $R_f = 0,28$ (0,84)
 Aufgrund der Strukturierung des VIS-Teils des Elektronenspektrums muss angenommen werden, dass dieses Substitutionsprodukt als C-13-Epimerengemisch vorliegt, was durch die nachfolgende Reduktion (S. 99) bestätigt wird.
- C: 0,87 μMol ($\mathcal{E}(\text{C}_6\text{H}_6/590) = 17'000$) 12% ?
 UV (C_6H_6): 590(0,53 max, breit), 556(0,43 sh), 372(1,00 max), $\gamma/\alpha = 1,88$
 IR (CCl_4): 2120 w (CoCN), 1805 m (Lacton), 1740 s (COOCH_3), 1585 m/
 1508 m breit (Chromophor).
 DC: $R_f = 0,28$ (0,86)
 Die Konstitution dieses Produkts konnte nicht abgeklärt werden. Gegenüber dem Hauptprodukt zeigten sich folgende spektroskopische Unterschiede: UV: Der Teil im sichtbaren Bereich des Spektrums ist hypsochrom verschoben (ca. 8 nm) und weniger strukturiert. Im IR-Spektrum ist die Chromophorbande bei 1585 cm^{-1} schwächer und breiter, die Lage der beiden Chromophorbanden ($1585/1508\text{ cm}^{-1}$) entsprechen einem 5,15-disubstituierten Komplex (UV- und IR-Spektrum des durch Reduktion mit Raney-Nickel erhaltenen Produkts vgl. S. 106).

Diskussion der Reaktionsbedingungen:

Unter den Bedingungen, bei denen Cobester zu ca. 60% an C-10 alkyliert werden konnte (12,5 h, 50 ° C), wurde beim 5,15-bis-nor-Lacton (3) neben 23% Edukt ($\epsilon(C_6H_6/576) = 12'000$) nur 5% 5,15-Di-phenylthiomethyl-cobester-c-lacton (12) ($\epsilon(C_6H_6/598) = 17'000$) und 28% 5- oder 15-Phenylthiomethyl-5- oder 15-nor-cobester-c-lacton ($\epsilon(C_6H_6/585) = 14'000$) erhalten. Das monosubstituierte Produkt besitzt einen R_f -Wert (0,37(1,17)) der zwischen demjenigen von (12) ($R_f = 0,53(1,59)$) und demjenigen des Edukts (3) ($R_f = 0,28(0,88)$) liegt, ebenso ist das UV-Spektrum ungefähr halb so stark bathochrom verschoben ($\lambda_{max}(C_6H_6) = 585 \text{ nm}$) als in (12). Die monosubstituierten Produkte wurden im Fall des f-Nitrils eingehender untersucht (vgl. S.165). Bei der Erhöhung der Reaktionstemperatur wurde mehr (12) und weniger monosubstituierte Produkte isoliert, als Nebenprodukt wurde dafür langsam mehr Zone C erhalten.

Bei allen Produkten, die eindeutig charakterisiert werden konnten, wurde festgestellt, dass unter allen Alkylierungsbedingungen (in Sulfolan oder Acetonitril) während der Reaktion Isomerisierung an C-13 eintrat. Es muss deshalb angenommen werden, dass alle Produkte, die aus Alkylierungsreaktionen isoliert werden, als C-13-Isomergemische anfallen (vgl. Alkylierung des $\alpha.\alpha$ -5,15-bis-nor-f-Nitril-c-lactons (6) S. 173).

Reduktion des 5,15-Di-phenylthiomethyl-cobester-c-lactons- $\alpha.\alpha/\alpha.\beta$ -(12) zu Cobester- $\alpha.\alpha.\alpha/\alpha.\alpha.\beta$ -(7)



0,8 ml *43 Raney-Nickel *44 in H₂O wurden mit 1,5 ml Methanol versetzt und unter Argon mit Eis/NaCl (Badtemp. -5° C) auf ca. 0° C gekühlt, während 2 min wurde mit einer Kapillare Argon durch die Suspension geleitet. Anschliessend wurden unter Argon 2,43 μMol (ϵ (C₆H₆/598) = 17'000) 5,15-Di-phenylthiomethyl-cobester-c-lacton (12) in 1,5 ml Methanol zugegeben, und die Suspension wurde während 8 min heftig gerührt (nach ca. 2 min war die Lösung nur noch ganz schwach gelbgrün gefärbt). Danach wurden 3 ml einer Lösung aus 4 ml Acetoncyanhydrin, 12 ml Methanol und 4 ml Essigsäure zugegeben, und nach einer weiteren Minute Rühren wurde während 1,5 min O₂ durch die Suspension geleitet, wobei eine braungelbe Lösung erhalten wurde. Durch Filtration durch Watte wurde das Raney-Nickel abgetrennt und dreimal mit 1,5 ml obiger Cyanhydrin-Essigsäure-Methanol-Lösung gewaschen. Das rotbraune Filtrat wurde in 5 ml Methylenchlorid aufgenommen und dreimal mit 10 ml 15% KCl/0,1% KCN-Lösung gewaschen. Die wässrigen Auszüge wurden jeweils noch viermal mit 7 ml Methylenchlorid extrahiert. Die organischen Phasen wurden durch Watte filtriert und am Rotovap bis auf ca. 0,1 ml eingengt. Das neben dem Corrin verbliebene schwerflüchtige Öl (vermutlich Acetoncyanhydrin) wurde am HV bei 0,1 Torr und 40° C in ca. 30 min entfernt. Der rotbraune Rückstand wurde in 4 ml Methylenchlorid aufgenommen und die Lösung zweimal mit 10 ml gesättigter KCl/0,1% KCN-Lösung gewaschen. Nach Filtration der organischen Phasen durch Watte wurde zur Bestimmung der Rohausbeute direkt ein UV-Spektrum aufgenommen:

2,02 μMol (ϵ (CH₂Cl₂/584) = 11'000) 83% DC-R_f = 0,04(0,15) Cobester-c-säure

(Vorgängig war durch Reduktion des Cobester-c-lactons (13) unter den obigen Bedingungen nachgewiesen worden, dass der c-Lactonring reduktiv geöffnet und die freie c-Säure (sehr kleiner R_f-Wert) erhalten wird) Nach dem vollständigen Einengen der Lösung am Rotovap wurde der Rückstand während 30 min am HV bei RT getrocknet. Nach der Zugabe von 0,2 ml Methylenchlorid wurde die Lösung auf 0° C gekühlt und während 30 sec HCl-Gas durchgeleitet (Farbwechsel von violett nach rot). Darauf wurde das Lsm. mit Argon abgeblasen und der Rückstand während 10 min am HV getrocknet. Erneut wurde in 0,2 ml Methylenchlorid aufgenommen, und die Lösung wurde unter Argon auf 0° C gekühlt. Dann wurden 20 μl einer ca. 0,25 M Diazomethanlösung in Aether *45 (ca. 2 Aeq.) zugegeben, und unter Argon wurde während 5 min bei 0° C gerührt. Unter Beibehaltung der Kühlung wurde das Lsm. mit Argon abgeblasen. Der Rückstand wurde in 4 ml Benzol aufgenommen und die Lösung dreimal mit 10 ml gesättigter KCl/0,1% KCN-Lösung gewaschen.

*43 Abgemessen und transferiert mit einer 1 ml Stabpipette, Trockengewicht des Raney-Nickels (bestimmt nach der Reaktion): 730 mg

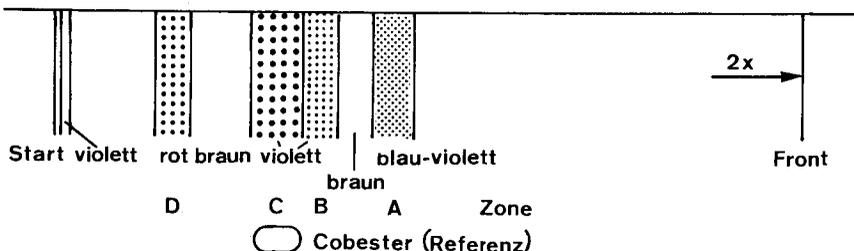
*44 hergestellt nach L. F. Fieser u. M. Fieser 'Reagents for Organic Synthesis' Wiley 1967, S. 729; Alter ca. 9 Monate, aufbewahrt unter Wasser bei RT.

*45 Diazomethanlösung, hergestellt nach Org. Syntheses, Coll. Vol. IV, 250 (1967)

Die wässrigen Auszüge wurden jeweils einmal mit 4 ml Benzol extrahiert. Die organischen Phasen wurden durch Watte filtriert und das Filtrat am Rotovap vollständig eingengt.

Chromophor-Rohausbeute: 2,00 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/591) = 11'000$) 82%.

Der rohe Cobester wurde auf einer Dickschichtplatte chromatographiert:

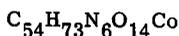


Das Silicagel der entsprechenden Zonen wurde mit Methanol/Methylenchlorid (1:9) extrahiert, die Filtrate am Rotovap vollständig eingengt und anschließend spektroskopiert:

A:	ca. 0,04 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/590) = 11'000$)	1,5%	?
B:	0,23 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/590) = 11'000$)	9,6%	?
C:	0,73 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/591) = 11'000$)	30,0%	Cobester- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$
D:	0,20 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/585) = 11'000$)	8,4%	?

Der Cobester- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ wurde zusammen mit 0,33 μMol einmal chromatographiertem Material aus drei Vorversuchen auf einer Dünnschichtplatte rechromatographiert. Nach dem Extrahieren des Silicagels mit Methanol/Methylenchlorid (1:9) konnten nach dem vollständigen Einengen des Filtrates am Rotovap 0,89 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/590) = 11'000$) Cobester mit den folgenden spektroskopischen Eigenschaften isoliert werden:

partial-synthetischer Cobester- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ (aus auth. 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton):



MG 1088

UV (C_6H_6)

qualitativ, aufgenommen auf PE 402

(Abb. 25)

590(0,403 max), 565(0,305 min), 555(0,310 max),
 513(0,193 sh), 455(0,123 min), 425(0,160 sh), 373(1,000 max),
 340(0,288 min), 327(0,366 sh), 317(0,427 max), 294(0,307 min),
 280(0,460 max).

$\gamma/\alpha = 2,47$

IR (CCl_4)

2120 w (CoCN), (1800 w (Lacton), 1740 s (COOCH_3), 1582 m/
 1502 s (Chromophor), 1435 s, 1370 m, 1353 m, 1200 s,
 1170 s, 1105 m, 1008 m.

(Abb. 26)

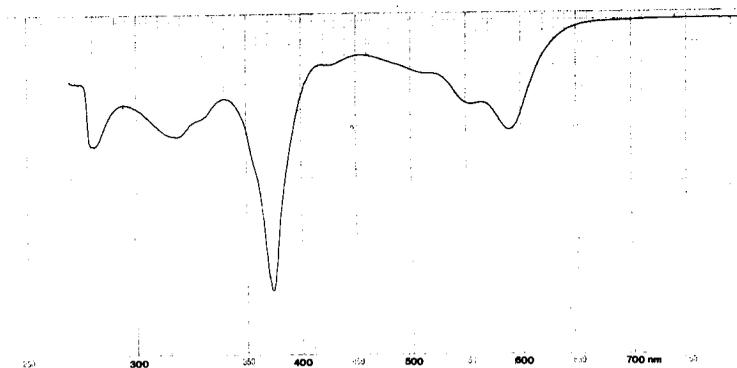


Abb. 25

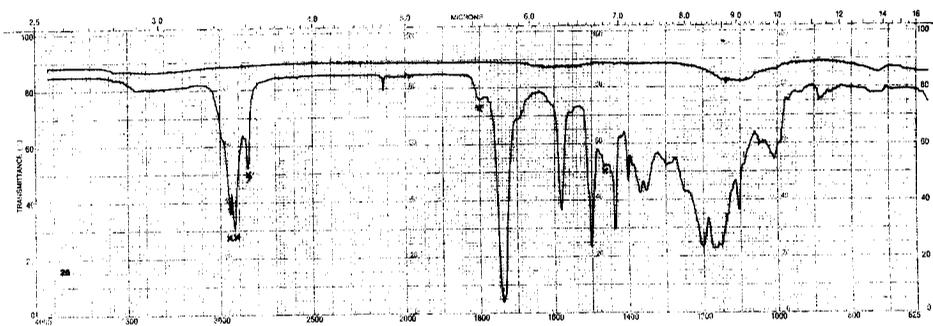


Abb. 26

CD (CH₃OH/
0,01% KCN) $c = 4,82 \times 10^{-5}$ Mol/lit (ϵ (CH₃OH/585) = 9'750, PE 402)
(Abb. 27) 584(-3,7), 560(-2,6), 535(-3,3), 522(-3,1) 511(-3,3), 475[0.0],
432(+8,2), 417(+6,7), 402(+9,5), 380[0.0], 369(-5,7), 359(-2,5),
343(-6,9), 327(-4,5 sh), 321[0.0], 316(+2,5), 307(+0,5)
282(+3,3), 267[0.0], 250(-6,3).

DC R_f identisch mit auth. Cobester

MS *46 Basepeak: 962 m/e (M⁺ - 2CN- CH₃COOCH₃)

*46) aufgenommen auf AEI MS 9, Harvard Laboratorium

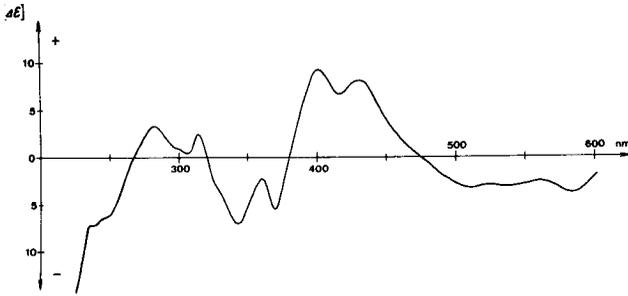


Abb. 27: CD-Spektrum partial-synth. Cobester- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$

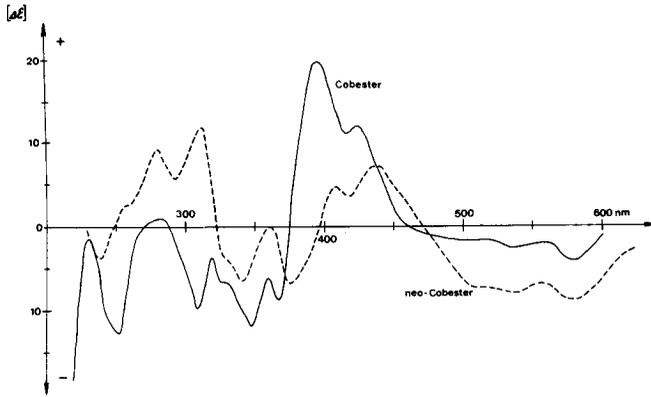


Abb. 28: CD-Spektren von auth. Cobester und neo-Cobester

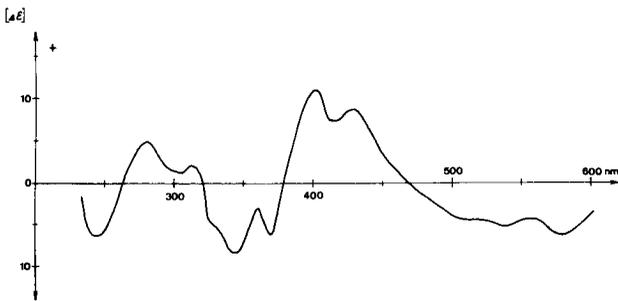


Abb. 29: konstr. CD-Spektrum 1:1 Gemisch von Cobester und neo-Cobester

Die spektroskopischen Daten sind mit einem ca. 1:1-C-13-Epimerengemisch des Cobesters vereinbar:

- IR: ausser sehr schwachen Banden von Verunreinigungen (zwischen 3000 und 2900 cm^{-1} , 1800 (Lactone), 1700, 1460 cm^{-1}) ist das Spektrum identisch mit demjenigen des auth. Cobesters.
- UV: Das Minimum zwischen der α -(590 nm) und der β -Bande (555 nm) ist nur noch schwach sichtbar, die β -Bande erscheint praktisch als Schulter der α -Bande.
- CD: Dieses Spektrum lieferte den Haupthinsweis auf das Isomerengemisch. Dazu wurden die CD-Spektren des auth. Cobesters und des neo-Cobesters benötigt, die ebenfalls in Methanol gemessen wurden:

auth. Cobester: (Analysematerial von L. Werthemann [16])
CD (CH_3OH / c = $4,27 \times 10^{-5}$ Mol/lit ($\epsilon(\text{CH}_3\text{OH}/585) = 11'000$, PE 402)
0,01% KCN) 581(-4,0), 559(-1,9), 536(-2,5), 508(-2,0 sh), 460[0.0],
424(+13,5), 417(+11,1), 397(+19,8), 374[0.0], 367(-8,9),
(Abb. 28) 360(-6,1), 348(-11,8), 327(-6,9 sh), 320(-3,9), 307(-9,7),
287[0.0], 280(+1,1), 270[0.0], 252(-12,8).

neo-Cobester: *47
CD (CH_3OH / c = $5,53 \times 10^{-5}$ Mol/lit ($\epsilon(\text{CH}_3\text{OH}/585) = 8'500$, PE 402)
0,02% HCN) 580(-8,7), 557(-6,8), 535(-7,8), 512(-7,1 sh), 472[0.0],
437(+7,1), 417(+3,5), 407(+4,5), 396[0.0], 377(-6,5),
(Abb. 28) 361(0,0), 342(-6,2), 328(-3,5 sh), 323[0.0], 312(+11,7),
293(+5,9), 280(+9,4), 257(+2,6 sh), 248[0.0], 238(-3,5).

Aus diesen beiden Spektren wurde das CD-Spektrum eines 1:1-Gemisches konstruiert (Abb. 29), das gut mit demjenigen des synth. Materials (Abb. 27) übereinstimmt.

Diskussion der Reduktionsbedingungen:

Die Reduktionsbedingungen waren aus Vorversuchen mit 10-Phenylthiomethylcobester (8) und Cobester-c-lacton (13) erhalten worden (teilweise durchgeführt von N. Hashimoto). In allen Fällen zeigte es sich, dass nur dann reduzierte Produkte erhalten wurden, wenn die Lösung während der Reduktion praktisch farblos wurde, d.h. die Corrin-komplexe vollständig auf dem Raney-Nickel adsorbiert worden waren. Die besten Resultate wurden mit stark desaktiviertem Raney-Nickel (im vorliegenden Fall sehr altem) durchgeführt, wobei eine grosse Menge an Reduktionsmittel benötigt wurde. Schwierigkeiten bereitete die Ablösung der Komplexe am Schluss der Reduktion von der Metalloberfläche. Ueberleiten von O_2 über die mit Essigsäure versetzte Suspension bewirkte eine rasche und vollständige Ablösung.

*47) Aufgenommen mit einer gefriergetrockneten Probe von neo-Cobester, die Prof. A. Eschenmoser von Prof. R. Bonnett zur Verfügung gestellt worden war. Vgl. die CD-Spektren von Cobester und neo-Cobester in verschiedenen Lsm. in [72].

Wie aber später gefunden wurde, wurde dabei schon ein Teil der Komplexe zu gelben Produkten oxidiert *48. Diese Produkte mit einem λ_{\max} zwischen 450 und 500 nm erhöhten auch die α -Bande des Cobesters, was bewirkte, dass vor dem Chromatographieren erstaunlich hohe Rohausbeuten bestimmt wurden.

Weitere Schwierigkeiten bereitete anfänglich die Veresterung der durch Reduktion des Lactons erhaltenen c-Säure. Da die Veresterung mit Diazomethan nur in der Säureform mit vernünftiger Geschwindigkeit abläuft, musste darauf geachtet werden, dass beim vorhergehenden Einengen der Lösung nicht aus dem Komplex HCN abgespalten wurde, unter Ausbildung eines Aquo-cyano-carboxylat-komplexes. Die Behandlung mit HCl-Gas (der dabei auftretende Farbwechsel von violett nach rot lässt vermuten, dass der Chloro-cyano-komplex gebildet wird) unmittelbar vor der Veresterung hatte in Versuchen mit Cobester-c-lacton gute Ergebnisse gezeigt. Wie später gezeigt wurde (S. 112), genügt aber schon das viel mildere einmalige Waschen einer CH_2Cl_2 -Lsg. mit 0,1 N H_2SO_4 und Einengen der Lösung in Gegenwart von HCN, um gute Veresterungsergebnisse zu erreichen. Im vorliegenden Fall hatte aber die Verwendung von HCl-Gas erst viel später realisierte Vorteile. In allen folgenden Versuchen mit Raney-Nickel wurde nach Veresterung im LLC-Chromatogramm nicht nur 1 Zone, sondern 3 Zonen mit ähnlichem R_f -Wert wie Cobester erhalten. Wie gezeigt werden konnte, bestehen die beiden zusätzlichen Zonen aus nur teilweise reduzierten Komplexen, bei denen der Lactonring geöffnet, hingegen eine der beiden Methylgruppen als Phenylthiomethyl- oder Methoxymethylgruppe (durch Substitution anstatt Reduktion erhalten) vorlag. Hingegen wurde im obigen Versuch noch eine rote Zone (Zone D, $R_f = 0,19$ (0,52)) gefunden, die in den Versuchen ohne HCl nicht erhalten wurde. Aus dieser Tatsache wird vermutet, dass auch in diesem Versuch nur teilweise reduzierte Produkte (Zone A und B gehören aufgrund späterer Resultate auch dazu) erhalten wurden, die bei der Behandlung mit HCl-Gas in Komplexe mit Chlormethylgruppen überführt wurden. Bei der Rechromatographie dieser Zone D ($R_f = 0,19$ (0,52)) wurde nicht hauptsächlich eine Zone, sondern 3 Zonen mit R_f -Werten von 0,37 (1,00), 0,19(0,52), und 0,08(0,23) erhalten, was mit der teilweise Ueberführung der reaktiven Chlormethylkomplexe ($R_f = 0,19$ (0,52)) in Komplexe mit Hydroxy-methyl- ($R_f = 0,08$ (0,23)) oder Methoxymethylgruppen ($R_f = 0,37$ (1,00)) erklärt werden könnte.

C-8- β -Komplexe: In keinem Reduktionsversuch wurde ein Hinweis auf 8-Epi-corrinoide [41] gefunden (was vor allem aus dem CD-Spektrum ersichtlich sein müsste). Eindeutig konnte dies im Fall der ZnHg-Reduktion zu den f-Nitrilen (S. 181), sowie bei der Reduktion von Cobester-c-lacton zu Cobester (unter den gleichen Bedingungen wie oben, Ausbeute ca. 50%), wo der zu ca. 90% kristallisierte Cobester nach NMR mit authentischem Material identisch war.

*48) Vgl. die Diskussion über 'stable yellow corrinoids' in J. M. Pratt, "Inorganic Chemistry of Vitamin B₁₂", Academic Press, 1972, S. 286.

Reduktion des Substitutions-Nebenprodukts (Zone C S.98)

Durch analoge Reduktion (Raney-Nickel, HCl, CH₂N₂) wurde aus der Zone C Seite 98 ein Hauptprodukt mit den folgenden spektroskopischen Daten erhalten (einmal DC-chromatographiert, Ausbeute 38% ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/585) = 11'000$)):

UV (C₆H₆) qualitativ aufgenommen auf PE 402
585(0,415 max), 554(0,370 sh), 455(0,180 min), 423(0,235 sh),
372(1,000 max), 339(0,425 min), 328(0,260 sh), 318(0,530 max),
296(0,440 min), 280(0,570 max).
 $\gamma/\alpha = 2,40$

IR (CCl₄) 2120 w (CoCN), (1800 w (Lacton)), 1738 s (COOCH₃), 1582 m/
1500 m (Chromophor), 1435 m, 1200 s, 1170 s, 1105 m,
1009 m.

DC R_f identisch mit Cobester.

Die Unterschiede zwischen dem Hauptprodukt (12) der Alkylierung und der Zone C (S.98) findet man auch in den reduzierten Produkten wieder: Gegenüber dem Cobester-C-13-Epimerengemisch ist der VIS-Teil des Elektronenspektrums wieder weniger strukturiert und ebenfalls hypsochrom verschoben, im IR ist die Chromophorbande bei 1582 cm⁻¹ schwächer und wenig breiter. Diese Daten lieferten keine weiteren Hinweise auf die Konstitution dieses Produkts.

III 2. 2. 'BLACK FRIDAY' (9. JULI 1971)

Cobester (7) durch Alkylierung des 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitrils (6) mit Chlormethylmethylether und Reduktion mit Raney-Nickel

Historischer Ueberblick

Ende Mai 1971 wurde mit dem ersten zur Verfügung stehenden synth. Material des Lacton-nitrils (6) (ca. 15 mg, dargestellt durch P. Schneider via (A→B) - Cyclisierung) die Alkylierung unter den gleichen Bedingungen wie im Fall des Ester-lactons (3) (S. 97) durchgeführt. Die Ausbeute an disubstituiertem Material betrug aber anfänglich nur 12% neben ca. 32% monosubstituierten Produkten und mehreren Nebenprodukten. Eine Verkürzung der Reaktionszeit (!) brachte höhere Ausbeuten (weniger Nebenprodukte) und das beste Resultat in den 12 Vorversuchen wurde mit den sonst gleichen Bedingungen bei einer Reaktionszeit von 25 h (gegenüber 42 h am Anfang) erreicht:

30% 5,15-Di-phenylthiomethyl-cobester-c-lacton-f-nitril (14) *49 und 27% monosubstituierte Produkte

Die nachfolgende Reduktion des disubstituierten Nitrils (14) mit Raney-Nickel (Anfang Juni 1971, 3 Versuche durchgeführt) lieferte nicht wie beim Ester hauptsächlich ein Produkt, sondern nach DC 2 Zonen (je ca. 20% Ausbeute) mit ähnlichen R_f -Werten wie derjenige des auth. f-Nitrils (9) *50. Neben sehr ähnlichen UV-Spektren zeigten die Massenspektren der beiden Zonen den erwarteten Basepeak bei $m/e = 929$ ($M^+ - 2CN - CH_3COOCH_3$) *46. Man nahm deshalb an, dass die Reduktion zum f-Nitril zwar konstitutionell richtig verläuft, jedoch über das C-13-Isomerenpaar hinaus noch weitere Diastereomere gebildet würden.

Da in jener Phase der Optimismus regierte, die Synthese des Vitamins B₁₂ bis zum IUPAC-Kongress in Boston (26.7.71) beenden zu können, wurde Mitte Juni 1971 versucht, vor allem die Alkylierungsstufe zu verbessern. Man nahm das Auftreten von mehreren Isomeren bei der Reduktion als nicht einfach zu verbessernde Tatsache hin und hoffte, eventuell auf der Stufe des f-Nitrils (9) isomerisieren zu können. Mit der gerade von J. Schreiber in Gang gesetzten LLC-Apparatur sollte es möglich sein, das anfallende Gemisch aufzutrennen. Mit den ca. 60 mg Lacton-Nitril (6) (von W. Fuhrer auf photochemischem Weg (A→D - Cyclisierung) hergestellt), die zu jenem Zeitpunkt zur Verfügung standen, sollte nach der Methylierung genügend Material vorhanden sein, um das Gemisch aufzutrennen und die einzelnen Produkte charakterisieren zu können.

*49) Nitril IR-spektroskopisch nachgewiesen (Bande bei 2250 cm^{-1})

*50) R_f -Werte der beiden Zonen: 0,44 (1,00) und 0,35 (0,80)
(auth. f-Nitril: 0,37 (0,85))

Zuerst wurde versucht, bei der Alkylierung Zinkchlorid als Katalysator zu verwenden, doch konnten diese Versuche nicht unter Kontrolle gebracht werden, da entweder keine Substitution erfolgte, oder dann direkt grüne Produkte mit λ_{\max} oberhalb 620 nm erhalten wurden. Zusätze von aliphatischen Nitrilen (Acetonitril, Isobutyronitril) zur Reaktionslösung zur Vermeidung einer möglichen Protonierung des f-Nitrils, welche für die geringere Reaktivität des Lacton-nitrils (6) bei der Substitution hätte verantwortlich sein können, hatten keinen Einfluss auf die Ausbeuten. Beim Wechsel von Chlormethyl-benzyl-äther auf Chlormethyl-methyl-äther in Sulfolan wurden ebenfalls ähnliche Ausbeuten erzielt. Als dann in reinem Chlormethyl-methyl-äther sprunghaft bessere Ausbeuten erreicht wurden, wurde in einem hektischen 5-Minuten-vor-Zwölf-Anlauf innert 7 Tagen die 60 mg des Lacton-nitrils (6) in 8 Alkylierungs- und 7 Reduktionsansätzen umgesetzt (1. - 7. Juli). Die 15 mg Material (2 DC-Zonen), die nach der Raney-Nickel-Reduktion erhalten wurden, wurden mit LLC in 3 Hauptzonen aufgetrennt (2/ 5/ 5,5 mg) und anschliessend jede Zone charakterisiert. Die Spektren wurden in der folgenden Reihenfolge aufgenommen: Zuerst NMR, dann UV und CD, am Freitag den 9.7.71 auch noch die IR-Spektren. Zur grossen Enttäuschung aller Beteiligten fehlte in den IR-Spektren aller 3 Zonen die schwache Bande bei 2250 cm^{-1} für die Nitrilgruppe der Seitenkette i.

Während der ganzen Blitzansatzreihe war kein IR-Spektrum aufgenommen worden, deshalb wurde auch nicht zu einem früheren Zeitpunkt erkannt, dass während der Alkylierung in Chlormethyl-methyl-äther die Nitrilgruppe quantitativ in eine Methylestergruppe überführt worden war. Alle Chromatogramme der verschiedenen Versuche hatten das gleiche Aussehen wie bei der Alkylierung mit Chlormethyl-benzyl-äther; nachträglich konnte dann gezeigt werden, dass die Unterschiede in den R_f -Werten (Nitril:Ester) bei den Zwischenprodukten viel zu gering sind, um bei der präparativen Dickschichtchromatographie erkannt zu werden.

Aufgrund der spektralen Daten konnte die Zone 2 aus dem LLC dem C-13-Epimerengemisch des Cobesters zugeordnet werden, während bei der Zone 1 und 3 nur vermutet wurde, dass es sich um die weiteren möglichen Isomere des Cobesters handelte.

In den noch verbliebenen 2 Wochen vor dem IUPAC-Kongress wurden die letzten 15 mg Lacton-Nitril (6), die noch irgendwie aufgetrieben werden konnten (aus beiden Synthesevarianten stammend), nach der ursprünglichen Vorschrift mit Chlormethyl-benzyl-äther alkyliert. Das disubstituierte Produkt wurde mit Raney-Nickel reduziert, und bei der anschliessenden Auftrennung im LLC wurden wie beim Ester wieder 3 Zonen erhalten (2 DC-Zonen), diesmal mit etwas grösseren Retentionszeiten. Von der Zone 2, die einem C-13-Epimerengemisch des f-Nitrils entsprach (nach UV und LLC- R_f -Wert) wurden gerade noch 120 μ erhalten. Durch Behandlung mit konz. Schwefelsäure wurde dieses Material in ca. 30 μ f-Amid (10) und 30 μ neo-f-Amid überführt und die beiden Amide nach UV und LLC mit authentischem Material identifiziert [39].

Nach dem Boston-Kongress nahm dann vor allem der Nachschub viel Zeit in Anspruch. Deshalb waren für die Alkylierung und die Reduktion noch keine besseren Bedingungen erarbeitet, als der nächste Kongress unmittelbar bevorstand (New Delhi, Feb. 1972). Für den Vortrag von Prof. R. B. Woodward wurde die Boston-Sequenz mit etwas mehr Material (40 mg Lacton-Nitril (6) hergestellt durch photochemische A-D-Cyclisierung) nochmals durchgespielt, obschon noch nicht feststand, ob es sich bei den LLC-Zonen 1 und 3 nach der Reduktion wirklich um Isomere des f-Nitrils handelt.

Mit viel Glück konnten 150 μ synthetisches f-Amid gewonnen werden, die sogar ohne Animpfen kristallisiert werden konnten (vgl. S. 136). Diese Probe konnte nach NMR (Fourier-Transform), UV, CD und Schmelzverhalten mit authentischem Material identifiziert werden und diese Identifikation erlaubte R. B. Woodward, die Synthese von Vitamin B₁₂ als abgeschlossen zu erklären [34]; da es kurz zuvor der Harvard-Gruppe gelungen war, durch Ammonolyse der Cobester-f-säure (23) Cobyrsäure (24) zu erhalten und diese partialsynthetische Cobyrsäure mit natürlicher zu identifizieren. In der nachfolgenden, weniger hektischen Zeit, konnten beide Stufen (Alkylierung und Reduktion) besser untersucht werden. Die daraus resultierenden Bedingungen sind ab S. 146 beschrieben.

Die wesentlichste Verbesserung brachte die Reduktion mit Zink (Zn/Mg oder Zn/Hg) in Essigsäure anstelle von Raney-Nickel, die zuerst von der Harvard-Gruppe aufgegriffen worden war (Frühling 1972). Bei diesen Reduktionsversuchen wurde nach DC und LLC nur eine Zone erhalten, die dem C-13-Epimerengemisch des f-Nitrils (resp. Cobesters) entsprach, d.h. die LLC-Zonen 1 und 3 der Raney-Nickel-versuche traten nicht mehr auf. Am Schluss der vorliegenden Arbeit (April 1973) wurden die LLC-Zonen 1 und 3 des "Black Friday-Cobester", sowie des "New Delhi-f-Nitrils" noch genauer untersucht. Dabei wurde gefunden, dass in beiden Fällen die beiden Zonen mit Zinkamalgalam in Essigsäure zu den entsprechenden LLC-Zonen 2 reduziert werden können. Obwohl die identischen Basispeaks im MS der 3 Zonen beim Ester wie beim Nitril auf Konformationsisomere hinwiesen, handelt es sich bei den Zonen 1 und 3 um nicht vollständig reduzierte Produkte. Zur Zone 1 konnte die Konstitution des 5- oder 15-Phenylthiomethyl-cobesters (resp. f-nitrils) zur Zone 3 die Konstitution des 5- oder 15-Methoxymethyl-cobesters (resp. f-nitrils) zugeordnet werden (je als C-13-Isomerenpaar). Heute lassen sich die Ergebnisse des Black Friday folgendermassen interpretieren:

Bei der Reduktion des 5,15-Di-phenylthiomethyl-cobesters (12) (vgl. S. 100) mit Raney-Nickel war vor der Veresterung der c-Säure mit Diazomethan die CH₂Cl₂-Lösung mit HCl-Gas behandelt worden, wobei nach Veresterung im DC im wesentlichen nur eine Zone mit gleichem R_F-Wert wie Cobester (7) erhalten wurde. In anschliessend durchgeführten orientierenden Versuchen wurde bei der reduktiven Lactonöffnung des Cobester-c-lactons (13) gefunden, dass diese drastische Behandlung nicht nötig ist, sondern dass Schütteln mit 0,1 N H₂SO₄ genügt, um die freie c-Säure zu erhalten. Diese Aenderung wurde nun bei den Vorversuchen mit dem Di-phenylthiomethyl-f-nitril (14) (Mai 1971) angewandt, wobei für das Auftreten von zwei DC-Zonen irrtümlicherweise die Nitrilgruppe verantwortlich gemacht wurde. Der Unterschied lag aber darin, dass im Cobester-Fall bei der Behandlung der nur teilweise reduzierten Produkte mit HCl-Gas vermutlich Corrine mit Chlormethylgruppen erhalten worden waren, die im DC nicht als einheitliche Zonen liefen (Solvolyse, vgl. S. 105).

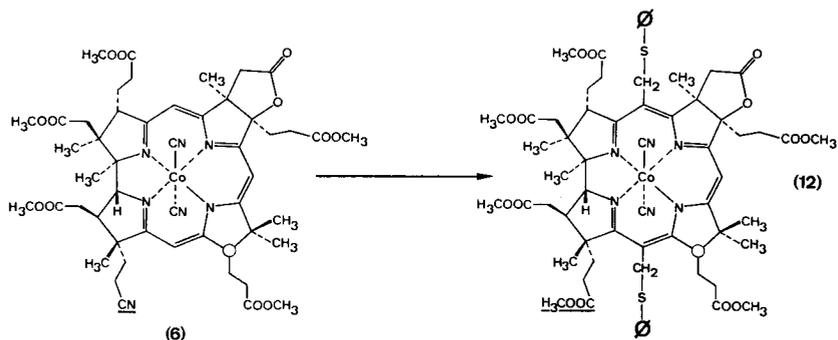
Während der Verzicht auf ein IR-Spektrum beim Wechsel des Alkylierungsreagenzes als eigentliche Unterlassungssünde bezeichnet werden muss, konnten die übrigen Fehlinterpretationen nur durch systematische Untersuchungen aufgedeckt werden:

- Die im Vorversuch als ungenügend betrachtete Ausbeute von 30% an disubstituiertem Lacton-nitril (14) muss nachträglich als gut bezeichnet werden, da von einem Lacton-Isomerenmisch (6) ($\alpha.\alpha/\alpha.\beta/\beta.\alpha/\beta.\beta$) ausgegangen worden war.

Wie später gefunden wurde, werden die Lactone mit C-3- β -Konfiguration nur zu monosubstituierten Komplexen alkyliert (S.174). Ihr Anteil am Edukt wurde damals noch nicht bestimmt, da noch keine LLC-Chromatographie zur Verfügung stand, er dürfte aber ca. 20% betragen haben ((6) war durch Lactonisierung eines Isomerenmischens von (4), hergestellt durch (A \rightarrow B)-Cyclisierung, (Isomerenverteilung siehe S.79) erhalten worden). Die im Vorversuch ermittelte Ausbeute hätte demnach nicht 30%, sondern 40% betragen. In allen nachfolgenden Versuchen war nur noch das $\alpha.\alpha/\alpha.\beta$ -Isomerenpaar des Lacton-nitrils (6) verwendet worden.

- Die durch die sehr ähnlichen UV- und IR-Spektren und die identischen Basepeaks im MS stimulierte Zuordnung von Konformationsisomeren zu den Zonen 1 und 3 der Raney-Nickel-Reduktion konnte erst durch die neue Reduktionsvariante korrigiert werden (vgl. oben).

Beispiel eines Alkylierungsansatzes (1. - 7. Juli 1971)

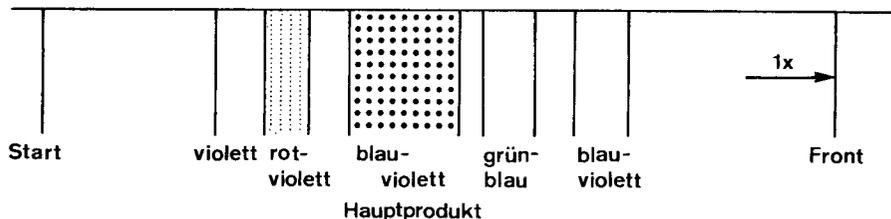


12,6 μ Mol ($\mathcal{E}(C_6H_6/575) = 12'000$) 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitril (6) *51 (entspricht ca. 12,6 mg) wurden in einer kleinen Ampulle (Inhalt ca. 2ml) unter Argon mit 0,6 ml Chlormethyl-methyl-äther *52 versetzt und die Ampulle unter Argon zugeschmolzen. Anschliessend wurde während 6,5 h im Ölbad auf 82° C erhitzt. Nach dem Abkühlen auf RT wurde die Ampulle geöffnet und der Chlormethyl-methyl-äther bei RT mit Argon abgeblasen. Das Ampullenrohr mit dem dunkelvioletten Rückstand wurde mit Eis/Wasser auf 0° C gekühlt, worauf 0,6 ml einer Thiophenol-Lsg. *36 in Benzol (2:5 Vol.) (auf 0° C gekühlt) zugegeben wurde.

*51) ca. 1:1-Gemisch der $\alpha.\alpha$ und $\alpha.\beta$ -Isomere ('Lacton I'), vgl. W.Schilling [38].

*52) Chlormethylmethyläther, Fluka techn. vor Gebrauch über K_2CO_3 im Kugelrohr unter Argon einmal destilliert.

Nach 4 min Stehenlassen bei 0° C wurde die rotbraune Lsg. in 25 ml Benzol / Hexan (4:1) aufgenommen und viermal mit 25 ml 4% KCN-Lsg. und zweimal mit 25 ml gesättigter KCl/0,1% KCN-Lsg. gewaschen. Die wässrigen Phasen wurden jeweils zweimal mit 10 ml Benzol/Hexan 4:1 extrahiert. Die organischen Phasen wurden durch Watte filtriert und am Rotovap vollständig eingengt, der blau-violette Rückstand wurde auf einer Dickschichtplatte chromatografiert:



Das Hauptprodukt, sowie alle übrigen Zonen zusammen, wurden nach Extraktion des Silicagels mit Methanol/Methylenchlorid (5:95) und Einengen der Filtrate am Rotovap spektroskopiert:

Hauptprodukt : 6,07 μMol (ϵ ($\text{C}_6\text{H}_6/598$) = 17'000) 48%
 alle Nebenprodukte : 3,45 μMol (ϵ ($\text{C}_6\text{H}_6/595$) = 17'000) 27%, diese Produkte wurden in dieser Blitzansatzreihe nicht mehr näher untersucht.

Das Hauptprodukt wurde auf einer Dickschichtplatte rechromatographiert (im wesentlichen eine einheitliche Zone), das Silicagel mit Methylenchlorid/Methanol (95:5) extrahiert und das Filtrat am Rotovap vollständig eingengt:

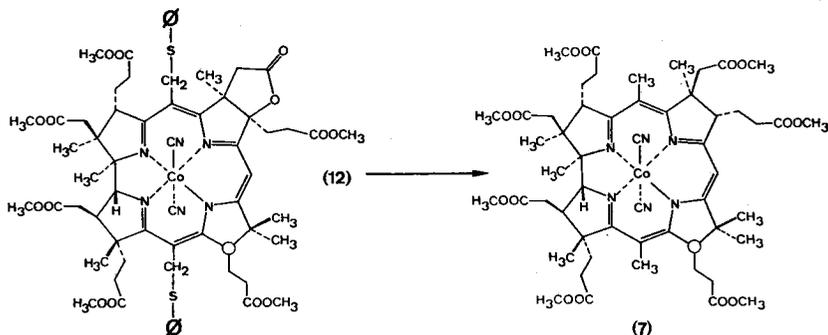
5,41 μMol (ϵ ($\text{C}_6\text{H}_6/598$) = 17'000) 43% 5,15-Di-phenylthiomethyl-cobester-lacton (12)

UV(C_6H_6) qualitativ, aufgenommen auf PE 402
 598(0,70 max), 575(0,53 min), 563(0,54 max), 458(0,11 min),
 428(0,20 max), 419(0,18 min), 374(1,00 max), 339(0,37 min),
 323(0,49 max), 311(0,44 sh), 302(0,37 min).
 $\gamma/\alpha = 1,43$

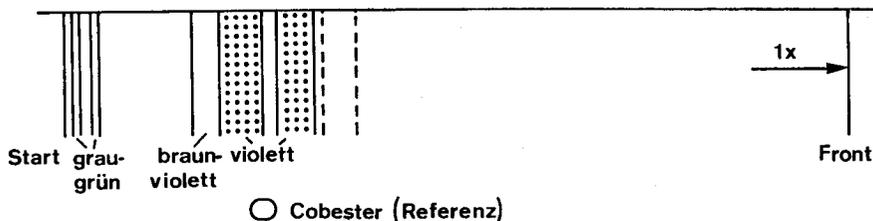
IR (CCl_4) *53 (keine Bande bei 2250 cm^{-1}) 2120 w (CoCN), 1805 m(Lacton)
 1735 s (COOCH_3), 1583 m/1500 m breit (Chromophor), 1435 s,
 1389 m, 1350 m, 1149 s, 1107 m, 1080 m, 685 w (Phenyl ?).

*53) Aufgenommen mit einer UV-spektroskopisch identischen Probe, die durch Rechromatographie der Nebenprodukte nach dem 9.7.71 erhalten worden war.

Beispiel eines Reduktionsansatzes (1. - 7. Juli 1971)



1,0 ml *43 Raney-Nickel *44 wurden mit 2 ml Methanol versetzt und die Suspension unter Argon auf ca. 0 - -5° C gekühlt (Badtemperatur -10° C, Eis/NaCl). Während 2 min wurde mit einer Kapillare Argon durchgeleitet, worauf das Disubstitutionsprodukt (12) (5,41 μMol (ϵ ($\text{C}_6\text{H}_6/598$) = 17'000)) in 2 ml Methanol zugegeben wurde. Während 4 min wurde die Suspension unter Argon heftig gerührt, ca. 2 min nach der Zugabe war die Lsg. nur noch schwach gelb-grün gefärbt (Temp. ca. -5° - 0° C). Danach wurden 2 ml einer Lsg. aus 4 ml Acetoncyanhydrin, 12 ml Methanol und 4 ml Essigsäure zugegeben, während 1 min wurde Luft über die Lsg. geleitet, wobei sich die Lsg. braunrot färbte. Nach Entfernung des Kühlbades wurde noch während 5 min weitergerührt. Durch Filtration durch Watte wurde das Raney-Nickel abgetrennt und noch dreimal mit 1,5 ml obiger Cyanhydrin-Essigsäure-Methanol-Lsg. gewaschen. Das braunrote Filtrat wurde in ca. 7 ml Methylenechlorid aufgenommen und zweimal mit gesättigter KCl/0,1% KCN-Lsg. und einmal mit 0,1 N H_2SO_4 gewaschen. Die wässrigen Auszüge wurden jeweils noch zweimal mit Methylenechlorid extrahiert. Die organischen Phasen wurden durch Watte filtriert, das Filtrat am Rotovap bis auf ca. 0,2 ml eingengt, das farblose schwerflüchtige Oel (vermutlich Acetoncyanhydrin) am HV bei 40° C in ca. 15 min entfernt und der rotviolette Rückstand während 10 h am HV bei RT getrocknet. In 1,0 ml Methylenechlorid aufgenommen, wurde die rohe Säure mit 60 μl einer ca. 0,5 N CH_2N_2 -Lsg. in Aether *45 (ca. 6 Aeq.) versetzt, die Lsg. 1 min bei RT stehengelassen und anschliessend am Rotovap vollständig eingengt. Der Rückstand wurde mit Benzol auf eine Dickschichtplatte aufgetragen und chromatographiert:



Das Silicagel der beiden violetten Zonen mit ähnlichem R_f -Wert wie Cobester wurde zusammen mit Methanol/Methylenchlorid (1:9) extrahiert, das Filtrat am Rotovap eingengt und der Rückstand UV-spektroskopisch ausgemessen:

3,87 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/590) = 12'000$) 71,5%

LLC-Chromatographie

Aus der ganzen Versuchsreihe (5 Ansätze in der beschriebenen Grösse und zwei kleinere Versuche) wurde das Material der beiden violetten DC-Zonen zusammengenommen (total 14,75 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/590) = 12'000$)) und gemeinsam LLC-chromatographiert.

(S III, Kol. A, ca. 100 ml/h) (Abb. 30)

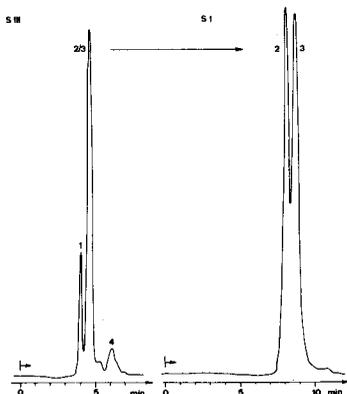
Zone 1: $R_t = 4,0$ min, 1,82 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/592) = 14'000$) 12,3%
(% bezüglich 14,75 μMol)

Zone 2/3: $R_t = 4,6$ min, 9,55 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/590) = 11'500$) 64,7%

Zwischenfraktion: R_t zwischen 5,0 und 5,8 min,
0,54 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/588) = 12'000$) 3,7%

Zone 4: $R_t = 6,1$ min 1,83 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/595) = 11'000$) 12,4%

Zone 2/3 wurde im System I nochmals chromatographiert (Abb. 30):



(S I, Kol. A, ca. 100 ml/h)

Zone 2: $R_t = 8,0$ min, 4,40 μMol
($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/592) = 11'000$) 29,8%

Zone 3: $R_t = 8,6$ min, 4,97 μMol
($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/588) = 12'000$) 33,7%

Abb. 30

Aufgrund des UV-Spektrums (λ_{max} bei 595 nm und Strukturierung zwischen 280 und 340 nm) wurde angenommen, dass Zone 4 aus c-Lacton-komplexen besteht. Diese wurden nicht näher untersucht.

Das Material der Zonen 1, 2 und 3 wurde je in 7 ml Benzol aufgenommen und die Lsg. zweimal mit 10 ml gesättigter $\text{KCl}/0,1\%$ KCN-Lsg. gewaschen. Die organischen Phasen (wässrige Auszüge zweimal mit Benzol extrahiert) wurden durch Watte filtriert und das Filtrat am Rotovap vollständig eingengt. Die violetten Rückstände wurden über Nacht bei RT am HV getrocknet. Mit möglichst wenig Methanol wurden die Corrinkomplexe unter Filtration durch Watte in einen neuen Kolben transferiert, wobei im ersten Kolben ein weisser, kristalliner Rückstand zurückblieb *54. Die methanolischen Lösungen (ca. 1,5 ml) wurden mit der gleichen Menge Benzol versetzt und anschliessend am Rotovap eingengt. Die Rückstände wurden während 4 h bei RT am HV getrocknet, anschliessend wurden die folgenden Spektren aufgenommen (UV-, IR-, NMR- und CD-Spektren um den 9.7.71 aufgenommen).

Zone 1 15- (oder 5) - Phenylthiomethyl-cobester- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ (?):

$C_{60}H_{77}N_6O_{14}SCo$

MG 1196

UV(C_6H_6) qualitativ
(Abb. 31) 592(0,511 max), 568(0,354 min), 555(0,378 max), 517(0,183 sh),
455(0,0,82 min), 426(0,147 max), 415(0,127 min),
373(1,000 max), 339(0,240 min), 327(0,316 sh), 316(0,408 max),
297(0,312 min), 281(0,620 max).
 $\gamma/\alpha = 1,95$

IR (CCl_4) 2120 w (CoCN), (1800 w (Lacton)), 1736 s ($COOCH_3$), 1582 m/
(Abb. 34) 1500 s (Chromophor), 1435 s, 1350 m, 1200 s, 1168 s,
1103 m, 1085 w, 1007 m, 688 w (Phenyl ?).
(Aufgrund der Intensität der Bande bei 1800 cm^{-1} ist der Lactonanteil nicht grösser als 5%)

NMR (C_6D_6) *17 2 mg in 120 μ l, CAT 27 scans, aufgenommen auf Varian XL-100. Aus dem Spektrum der noch verunreinigten Probe (Abb. 37) (4,31 und 1,35 ppm) können folgende Hinweise auf die Struktur der Verbindung herausgelesen werden :
- Die Signale zwischen 7,7 und 6,9 ppm (neben C_6H_6) und die breiten und, gegenüber dem Spektrum der Zone 2, intensiveren Signale zwischen 4,6 und 3,8 ppm deuten auf mindestens eine Phenylthiomethyl-gruppe hin.
- H-C-10 bei 5,71 ppm.
- Die Art der Estersignale lässt ein Isomerengemisch vermuten.
- Chromophorgebundene Methylgruppen : Bei 2,18 ppm wird ein relativ intensives Signal beobachtet (ca. 3 H entsprechend), daneben wird nur noch ein ganz schwaches Signal bei 2,12 ppm gefunden (vgl. die entsprechenden Signale bei der Zone 2). Daraus kann vermutet werden, dass die Phenylthiomethylgruppe vorwiegend am C-15 sitzt *55.

*54) Bei der flüssig-flüssig Verteilungschromatographie wurde gegenüber der Substanzmenge mit relativ grossen Lösungsmittelmengen gearbeitet. Dazu enthielt das Lösungsmittelsystem HCN, das leicht zur Polymerisation neigt (primäres Produkt: Diamino-maleinsäure-dinitril). Nach dem Einengen und Trocknen der Fraktionen wurden immer Anteile gefunden, die in Methanol nur schwer löslich waren. Diese Produkte lieferten im NMR-Spektrum eine breite Bande bei 1,35 ppm (C_6D_6). Ob es sich dabei um Lösungsmittelrückstände oder um HCN-Polymerisationsprodukte handelt, wurde nicht abgeklärt.

MS (Di 205^o) 992(20%), 976(40%), 974(47%), 962(100%, M⁺ - 2CN-
 $\text{CH}_3\text{COOCH}_3 - \text{SC}_6\text{H}_5 + \text{H}$), 948(50%), 932(40%), 918(43%),
 904(72%), 902(50%), 890(90%).
 109 (C₆H₅S⁺) gegenüber den Signalen in der unmittelbaren
 Umgebung erscheint dieses Signal intensiver als im Spek-
 trum des Cobesters (7). In der ersten Signalgruppe unter-
 halb des Basepeaks (m/e = 962) findet man bei Cobester
 das intensivste Signal bei m/e = 946 *56, in dieser Zone
 aber bei 948. Dieses Signal könnte dem Fragment (M⁺ -
 2CN - CH₃COOCH₃ - CH₂SC₆H₅ + H) zugeschrieben werden.

CD (CH₃OH/
 0,01% KCN c = 3,74 x 10⁻⁵ Mol/lit (ε(CH₃OH/587) = 12'500, PE 402)
 (Abb. 40) 583(+11,3), 553(+8,7), 477(+1,0), 429(+10,1), 414(+7,5),
 398(+10,5), 381 [0.0], 367(-17,8), 356(-10,8), 349(-13,0),
 325(-8,0 sh), 320(-7,1), 308(-11,0), 286(-2,9), 267(-7,6 sh),
 252(-16,2).

DC R_f = 0,49 (1,09)

Die Vermutung, dass es sich bei diesem Material um einen nur teilweise
 reduzierten Komplex handeln könnte, entstand aus dem zu kleinen Verhältnis
 der γ - zur α-Bande im UV (γ/α = 1,95; Cobester-(ααα):
 2,48; Cobester-(ααα/ααβ) (Zone 2): 2,58; Di-phenylthiomethyl-cobester (12):
 1,43). In allen Spektren wurden dann Hinweise gefunden, dass Zone 1 nicht
 isomer zu Cobester sein konnte, sondern aus dem 15-Phenylthiomethyl-
 cobester (C-13-Epimerengemisch) bestehen könnte. Neben dem oben diskutier-
 ten NMR und MS, sowie dem zu kleinen Verhältnis der γ zur α-Bande im
 UV, zeigt das UV-Spektrum in Methanol zwischen 240 und 290 nm höhere
 Absorptionswerte als dasjenige der Zone 2. Das CD-Spektrum besitzt
 einen ähnlichen Verlauf wie dasjenige des disubstituierten Nitrils (14) (vgl. S. 154).
 Es verläuft zwischen 480 und 600 nm gegenüber demjenigen der Zone 2 invers,
 unterhalb 480 nm aber sehr ähnlich.

*55) Chemische Verschiebungen der chromophorgebundenen Methylgruppen
 von Cobester und neo-Cobester (in C₆D₆) (vgl. die Zuordnungsdis-
 kussion im Anhang S. 258).

Cobester: CH₃-C-5: 2,18 ppm CH₃-C-15: 2,05 ppm
 neo-Cobester: CH₃-C-5: 2,11 ppm CH₃-C-15: 2,04 ppm

*56) MS des auth. Cobesters (Analysematerial Werthemann [16]):
 MS (Di 135^o) : 990(6%), 976(26%), 962(100%, M⁺ - 2CN - CH₃COOCH₃),
 946(17%), 930(28%), 918(28%), 916(28%), 904(42%),
 902(47%), 890(44%).

Die allylischen Phenylthiomethylgruppen können aus sterischen Gründen kaum in der Corrineebene liegen, ihr Beitrag zum CD führt zu einer Inversion der Banden, deren Polarisationsrichtung durch C-5 und C-15 geht. Neben den spektroskopischen Daten bestätigt vor allem die nachfolgend durchgeführte Reduktion mit Zinkamalгам, die ausschliesslich Material der Zone 2 (Cobester- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$) lieferte, diese Konstitutionsvermutung.

Zone 2 Cobester- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ (totalsynthetisch, photochemische Variante):

C₅₄H₇₃N₆O₁₄Co

MG 1088

UV (C₆H₆) qualitativ
 (Abb. 32) 592(0,388 max), 567(0,238 min), 555(0,294 max), 516(0,166 sh),
 454(0,085), 426(0,120 max), 417(0,115), 373(1,000 max),
 358(0,515 sh), 338(0,229 min), 328(0,296 sh), 317(0,372 max),
 293(0,255 min), 280(0,447 max).
 $\gamma/\alpha = 2,58$

IR (CCl₄) 2120 w (CoCN), 1736 s (COOCH₃), 1582 m/ 1502 s (Chromophor), 1435 m, 1402 m, 1367 m, 1350 m, 1200 s, 1150 s, 1105 m, 1008 m.

NMR (C₆D₆) 3,5 mg in 120 μ l, CAT 25 scans, aufgenommen auf Varian
 *17 XL-100.
 (Abb. 38) H-C-10: 5,66 ppm,
 Estersignale: Die Auflösung ist zu gering, um mögliche Isomerenverhältnisse abzuschätzen, das gleiche gilt für die angulären Methylgruppen (Verunreinigung bei 1,35 ppm *54).
 Chromophorgebundene Methylgruppen :Signale bei 2,18/ 2,12/ 2,05 ppm *55.

MS (Di 190°) 976(34%), 962(100%), M⁺ - 2CN - CH₂COOCH₃, 946(50%),
 932(45%), 918(47%), 904(55%), 890(62%), 874(46%), 860(44%)
 *56

CD (CH₃OH/ 0,01% KCN) c = 4,77 x 10⁻⁵ Mol/lit (ϵ (CH₃OH/585) = 9'750, PE 402)
 (Abb. 41) 581(-5,6), 555(-3,5), 539(-4,5), 516(-3,7), 508(-3,9), 468 [0.0],
 428(+9,1), 418(+7,6), 401(+11,2), 378 [0.0], 368(-5,7),
 361(-3,2), 344(-8,7), 327(-6,5), 319 [0.0], 316(+0,5), 313 [0.0],
 308(-1,1), 299 [0.0], 283(+3,5), 266 [0.0], 251(-6,9), 231 [0.0].

DC R_f = 0,45 (1,00)

LLC (S I, Kol.A, ca. 100 ml/h) R_t = 7,5 min (3'600)
 auth. Cobester: R_t = 7,4 min (3'500)
 Gemisch (auth. + synth.) R_t = 7,4 min (3'500)

Die obigen Daten lassen nur vermuten, dass es sich um ein ca. 1:1 Gemisch von Cobester und neo-Cobester handeln könnte (vgl. z.B. CD mit dem konstruierten Spektrum Abb. 29). Während mit dem LLC-System der ETH dieses Gemisch nicht aufgetrennt werden konnte, war es der Harvard-Gruppe mit ihrem LC-System möglich, durch "Recycling" das auf die gleiche unvorsichtige Weise synthetisierte Gemisch aufzutrennen.

Zone 3 5- oder 15-Methoxymethyl-cobester- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ (?)

$C_{55}H_{75}N_6O_{14}Co$

MG 1118

UV (C_6H_6) qualitativ
(Abb. 33) 588(0,430 max), 563(0,333 min), 555(0,336 max), 515(0,165 sh),
454(0,091 min), 426(0,149 max), 414(0,132 min), 371(1,000max),
338(0,249 min), 325(0,334 sh), 314(0,382 max), 293(0,272 min),
280(0,473 max),
 $\gamma/\alpha = 2,32$

IR (CCl_4) 2120 w (CoCN), (1800 w (Lacton)), 1738 s ($COOCH_3$),
(Abb. 36) 1582 m/1500 s (Chromophor), 1435 s, 1402 m, 1348 m,
1200 s, 1170 s, 1104 m, 1080 s (Aether), 1005 m.
(Aufgrund der Intensität der Bande bei 1800 cm^{-1} liegt der Lactonanteil unter 5%).

NMR (C_6D_6) 5 mg in 120 μ l, CAT 23 Scans, aufgenommen auf Varian
*17 XL-100.
(Abb. 39) H-C-10: 5,75 ppm
Zwischen 3,9 und 4,5 ppm intensivere Signale als in Zone 2 (CH_2-O-CH_3). Ob in der Gruppe der Estersignale noch ein Singlett einer Methyläthergruppe vorhanden ist, kann entweder ausgeschlossen noch bestätigt werden.
Chromophorgebundene Methylgruppen: Signale mit ähnlichen Intensitäten bei 2,20 und 2,13 ppm daraus, dass bei 2,05 ppm praktisch kein Signal gefunden wird, wird vermutet, dass der grössere Anteil die Methoxymethylgruppe an C-15 besitzt. (Verunreinigung bei 1,35 ppm *54)

MS (Di 200°) Infolge aufnahmetechnischer Schwierigkeiten wurde bei hohem m/e nur sehr schwache Signale erhalten, das höchste Signal (962) wies eine Höhe von 2 mm auf. Die Positionsbestimmung und die relativen Intensitäten der übrigen Peaks weisen deshalb Ungenauigkeiten auf:
992(25%, $M^+ - 2CN - CH_3COOCH_3$), 988(50%), 974(54%), 962(100%; $M^+ - 2CN - CH_3COOCH_3 - CH_3O + H$), 948(50%), 931(35%), 917(35%), 901(60%), 890(60%).
Analog wie bei der Zone 1 (vgl. S. 115) könnte das Signal bei m/e = 948 dem Fragment ($M^+ - 2CN - CH_3COOCH_3 - CH_3OCH_2 + H$) zugeordnet werden.

CD (CH₃OH/
0,01% KCN)
(Abb. 42)

$c = 4,16 \times 10^{-5}$ Mol/lit (ϵ (CH₃OH/580) = 10'750, PE 402)

582(-2,5), 556(-0,8), 493(-3,7)_t, 460[0.0], 429(+11,3),
413(+8,4), 398(+10,3), 375[0.0], 366(-5,0), 358(-3,3),
343(-7,3), 323(-3,8 sh), 315[0.0], 312(+0,6), 308[0.0],
304(-1,2), 300[0.0], 282(+5,9), 262[0.0], 250(-6,3).

DC $R_t = 0,43$ (0,96)

Aufmerksam gemacht durch das kleine Verhältnis zwischen der γ und der α Bande im UV (2,32 gegenüber 2,58 in Zone 2), wurde nach der Konstitution eines möglicherweise nur teilweise reduzierten Komplexes gesucht. Die LLC-Untersuchung der Produkte, die durch Raney-Nickel-Reduktion unter verschiedenen Bedingungen in Vorversuchen erhalten worden waren, zeigten ausschliesslich Zone 3 ($R_t = 6,5$ min) (in einem Fall sogar ein Produkt mit noch grösserer Retentionszeit ($R_t = 6,9$ min); Cobester: $R_t = 6,2$ min), wenn die Reduktion nur in Methanol (ohne H₂O, Raney-Nickel vorher mit Methanol gewaschen) durchgeführt worden war. Die einfachste Interpretation war, dass während der Reduktion ein Teil der Phenylthioäthergruppen statt reduziert, durch Substitution in Methoxymethylgruppen umgewandelt wurden; in Zone 3 nur eine, in der Zone mit $R_t = 6,9$ min aber beide Gruppen an C-5 und C-15. Die spektroskopischen Daten der Zone 3 liefern nur einige Hinweise, aber keinen Beweis der vorgeschlagenen Struktur:

- IR : Gegenüber dem Spektrum der Zone 2 besteht der einzige markante Unterschied in der Bande bei 1080 cm⁻¹.
- UV : γ/α -Verhältnis von 2,32 (Zone 2: 2,58)
- NMR: Signale bei ca. 4,3 ppm, aus den Signalen bei 2,20 und 2,13 ppm kann geschlossen werden, dass mindestens eine chromophorgebundene Methylgruppe vorhanden ist, die Frage ob sie spezifisch an einer Stelle sitzt, bleibt offen (vgl. Spektrum der Zone 1).
- MS : das qualitativ schlechte Spektrum erlaubt nicht, das Signal bei 992 m/e als Strukturhinweis heranzuziehen, neben der oben angegebenen Interpretation könnte es sich auch um ein Signal handeln, das zur Gruppe mit Zentrum bei 988 m/e gehört.
- CD : Die Unterschiede zum Spektrum der Zone 2 sind zu gering, als dass eine Aussage möglich wäre.

Bei dem durch analoge Reduktion erhaltenen Gemisch beim f-Nitril (S. 144) weisen die chromatographischen Daten der Zone 3 auf ein Gemisch zwischen dem 5-Methoxy- und dem 15-Methoxy-Isomeren hin.

Die Konstitutionszuordnungen der Zone 1 und 3 wurden erhärtet durch die nachfolgend angegebene Reduktion mit Zinkamalgam in Essigsäure, die am Schluss der Arbeit (April 1973) durchgeführt wurde, und ausschliesslich Material lieferte, das der Zone 2 (Cobester + neo-Cobester) entsprach (vgl. S.123).

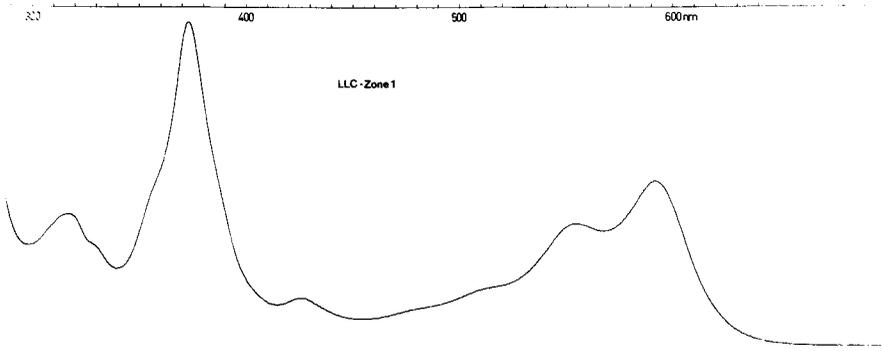


Abb. 31

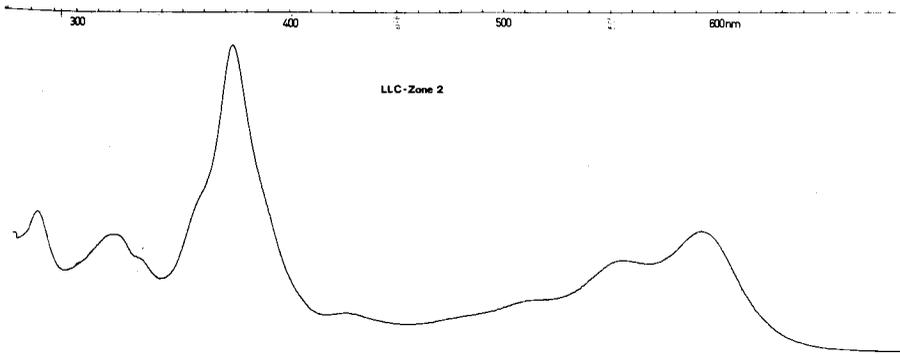


Abb. 32

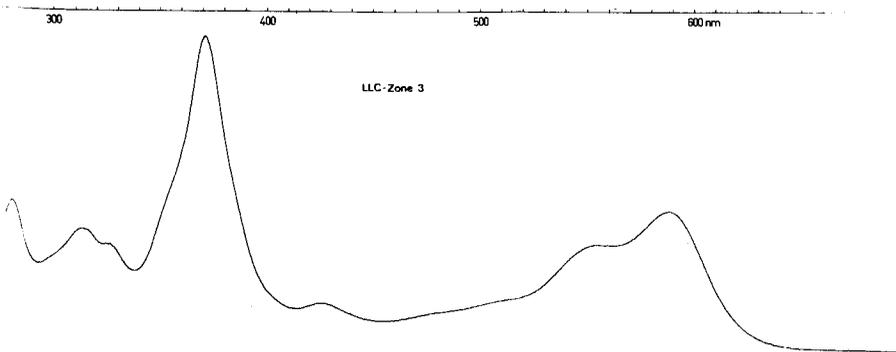


Abb. 33

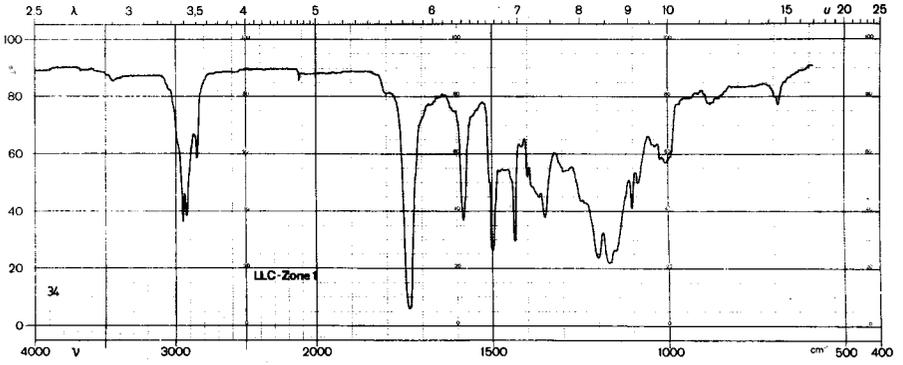


Abb. 34

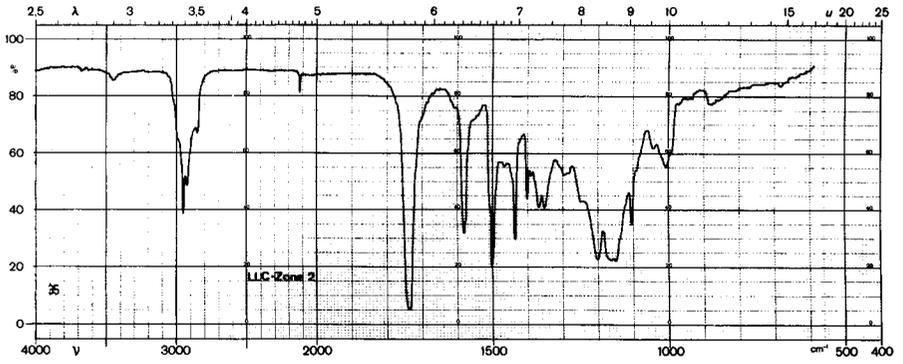


Abb. 35

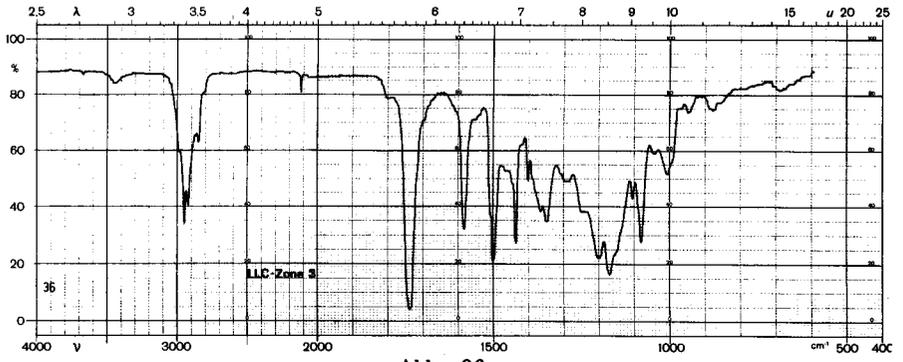


Abb. 36

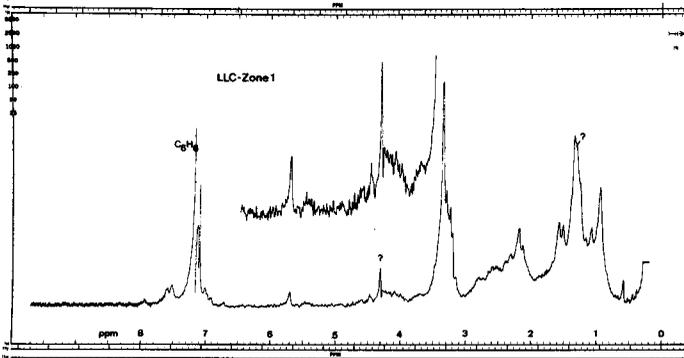


Abb. 37

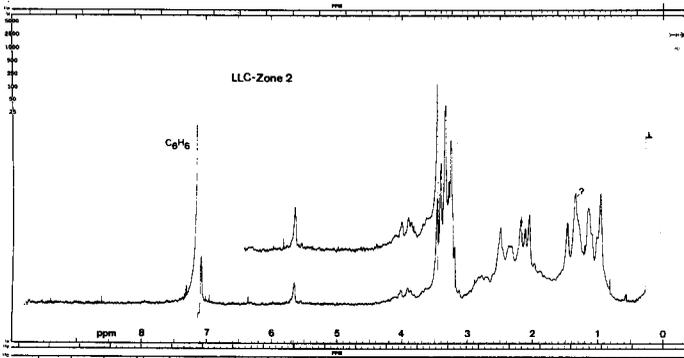


Abb. 38

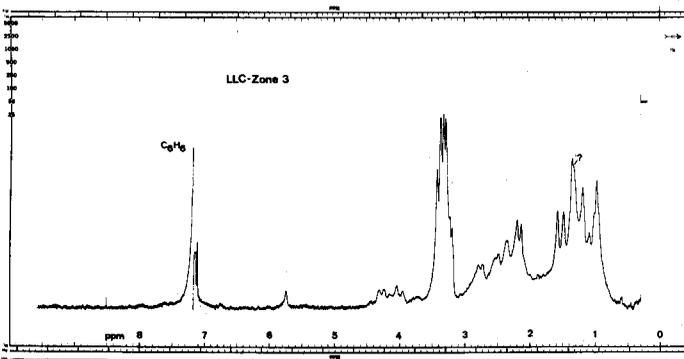


Abb. 39

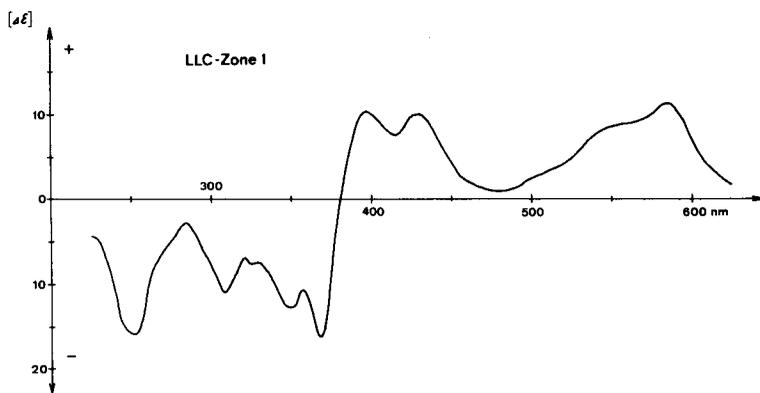


Abb. 40

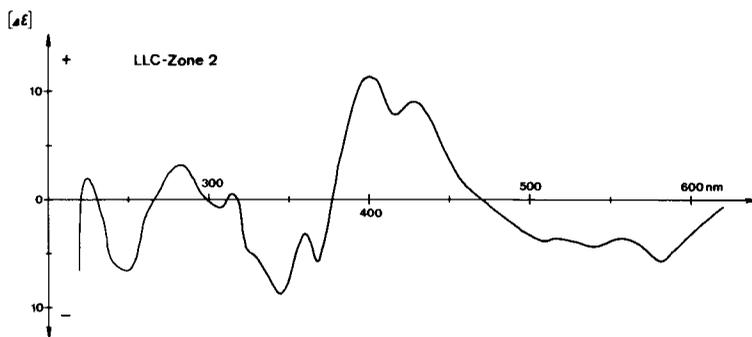


Abb. 41

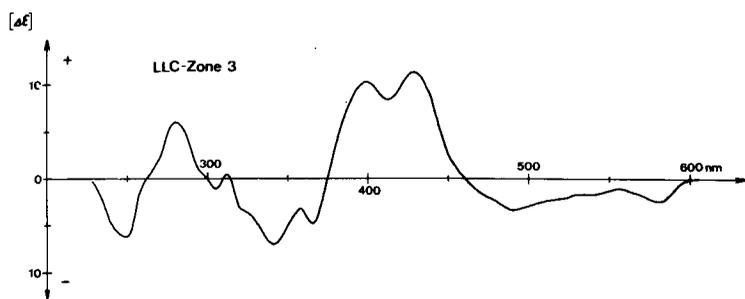


Abb. 42

Reduktion Zone 1 mit Zinkamalгам *57

0,298 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/592) = 14'000$) Zone 1 (15-Phenylthiomethyl-cobester ?) wurden mit 900 mg Zinkamalгам *58 versetzt und unter Argon bei RT 2 ml Essigsäure zugegeben. Unter Argon wurde die Suspension bei RT während 4 min heftig gerührt, nach ca. 1,5 min war die Lsg. nur noch ganz schwach gelb-grün gefärbt. Bei der Zugabe von 2 ml Methylenchlorid bildete sich sofort eine gelbe Lsg., das Zinkamalгам wurde bei der Filtration durch Watte abgetrennt und noch siebenmal mit ca. 1 ml Methylenchlorid gewaschen. Das orange-gelbe Filtrat wurde dreimal mit ca. 15 ml gesättigter $\text{KCl}/0,1\%$ KCN-Lösung gewaschen (langsamer Farbwechsel nach violett), die wässrigen Auszüge jeweils zweimal mit 5 ml Methylenchlorid extrahiert, die organischen Phasen durch Watte filtriert und das Filtrat am Schluss am Rotovap vollständig eingeeengt.

Rohausbeute: 0,241 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/592) = 10'500$) 81%

Das Rohprodukt wurde auf einer Dünnschichtplatte chromatographiert, wobei praktisch nur eine Zone mit dem gleichen R_f -Wert wie Cobester erhalten wurde. Das Silicagel dieser Zone wurde mit Methanol/Methylenchlorid (1:9) extrahiert und das Filtrat am Rotovap vollständig eingeeengt.

0,205 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/592) = 10'500$) 69% Cobester- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$

Dieses Produkt wurde in 5 ml Methylenchlorid aufgenommen und die Lsg. zweimal mit 10 ml gesättigter $\text{KCl}/0,1\%$ KCN-Lsg. gewaschen, die wässrigen Auszüge einmal mit Methylenchlorid extrahiert. Die beiden organischen Phasen wurden durch Watte filtriert, das Filtrat am Rotovap eingeeengt und der violette Rückstand 36 h am HV bei RT getrocknet.

*57) nur ein Versuch durchgeführt unter den optimalen Bedingungen, die für die Reduktion von (14) (vgl. S. 181) erarbeitet worden waren.

*58) Zinkamalгам (vgl. auch [75]): 0,6 g Quecksilberchlorid (Riedel de Haen, p. a.) wurden in 6 ml $\text{H}_2\text{O}/0,3$ ml konz. HCl (rauchend ca. 37%, Merck p. a.) gelöst. Bei RT wurden unter starkem Rühren 6 g Zinkstaub (Fluka puriss) zugegeben und die Suspension während 5 min heftig gerührt (Erwärmung auf ca. 40° C). Mit ca. 40 ml H_2O wurde das Amalгам auf eine Nutsche transferiert und nach Absaugen des Lsm. noch zweimal mit 50 ml H_2O (Zugabe von einigen Tropfen HCl), zweimal mit 50 ml Methanol und zweimal mit 50 ml Aether gewaschen. Das noch ätherfeuchte Amalгам wurde in ein Pillenglas transferiert und anschliessend 30 min am Wasserstrahlvakuum, dann 2 h am HV bei RT getrocknet. Unter Argon transferiert.

UV (C_6H_6) qualitativ
593(0,386 max), 569(0,280 min), 555(0,304 max), 517(0,182 sh),
452(0,094 min), 425(0,133 max), 416(0,125 min),
373(1,000 max), 358(0,530 sh), 340(0,265 min), 328(0,346 sh),
317(0,424 max), 293(0,304 min), 280(0,494 min),
= 2,59 (Zone 2: 2,58)

IR ($CHCl_3$) aufgenommen mit ca. 220 μ Material = ca. 0,4%-ige Lsg.
intensivste Bande, ca. 50% Transmission (1730 cm^{-1});
unter diesen Bedingungen können nur Banden sicher erkannt
werden, wenn sie in einem normalen Spektrum (2%-ige Lsg.)
eine Intensität von 10% besitzen. Mit dieser Einschränkung
war dieses Spektrum mit demjenigen der Zone 2 in $CHCl_3$
identisch.
2120 w ($CoCN$), 1730 s ($COOCH_3$), 1580m/ 1500 m (Chromo-
phor), 1435 m, 1400 m, 1370 m, 1353 m, 1150 m, 1104 m,
1007 w.

LLC (S I, Kol. A, 84 ml/h) $R_t = 6,4\text{ min}$ ($2'300$, $k' = 0,36$)
(einheitliche Fraktion)
Zone 2: $R_t = 6,6\text{ min}$ ($2'450$, $k' = 0,39$)
Gemisch: $R_t = 6,7\text{ min}$ ($2'500$, $k' = 0,38$).

Reduktion Zone 3 mit Zinkamalgam *57

Zone 3 (5- oder 15-Methoxymethyl-cobester ?) wurde unter den identischen
Bedingungen reduziert wie Zone 1:

Edukt : 0,332 μMol ($\epsilon(C_6H_6/588) = 12'000$)

Rohausbeute nach der Reduktion: 0,276 μMol ($\epsilon(C_6H_6/592) = 10'500$) 83%

nach Chromatographie (Zone mit R_t wie Cobester): 0,183 μMol

($\epsilon(C_6H_6/592) = 10'500$) 55% (gleiche Vorbehandlung vor Aufnahme wie bei
Zone 1)

UV (C_6H_6) qualitativ
593(0,384 max), 568(0,282 min), 555(0,294 max), 515(0,171 sh),
453(0,087 min), 427(0,120 max), 417(0,112 min), 373(1,000 max),
357(0,515 sh), 339(0,238 min), 328(0,308 sh), 316(0,382 max),
293(0,257 min), 280(0,444 max).
 $\gamma/\alpha = 2,60$

IR ($CHCl_3$) vgl. Anmerkung bei Produkt aus Zone 1.
2120 w ($CoCN$), 1730 s, ($COOCH_3$), 1580 m/1500 m (Chromo-
phor), 1435 m, 1400 m, 1370 m, 1353 m, 1152 m, 1104 m,
1007 w.
Mit Sicherheit kann gesagt werden, dass die Bande bei
 1080 cm^{-1} nicht mehr vorhanden ist.

LLC (S I, Kol. A, 84 ml/h) $R_t = 6,6\text{ min}$ ($2'600$, $k' = 0,38$)
(einheitliche Fraktion)
Zone 2: $R_t = 6,6\text{ min}$ ($2'450$, $k' = 0,39$)
Gemisch: $R_t = 6,8\text{ min}$ ($2'550$, $k' = 0,40$)

Die durch Zink-amalgam-Reduktion in Essigsäure erhaltenen Produkte weisen praktisch identische spektrale Daten (IR, UV) auf, wie Zone 2 der Raney-Nickel-Reduktion. Die geringen Unterschiede des UV-Spektrums des Produkts aus der Zone 1 gegenüber den beiden Spektren der Zone 2 und des Produkts aus der Zone 3 (Strukturierung der α und β -Bande) sind aufgrund aller übrigen Erfahrungen einzig darauf zurückzuführen, dass in den drei Produkten das Verhältnis zwischen Cobester und neo-Cobester nicht gleich ist. Das Isomerengemisch des Reduktionsprodukts aus der Zone 1 enthält danach wenig mehr des C-13- α -Isomeren als die beiden andern Proben.

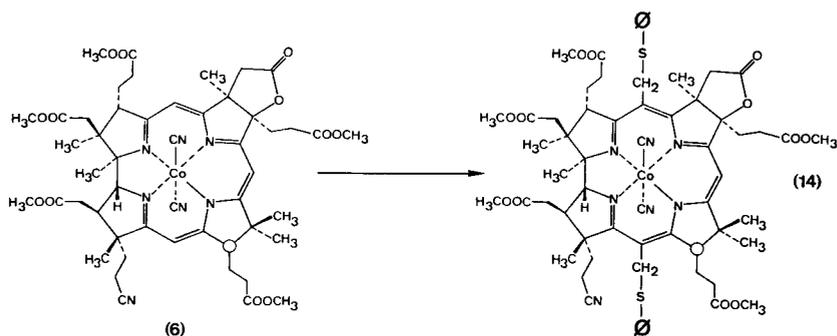
Nach diesen Zinkamalga-Reduktionen erstaunt sicher der Umstand, dass bei den Raney-Nickel-Versuchen nur mit sehr kurzen Reaktionszeiten (3 - 5 min) gearbeitet worden war und keine Versuche mit sehr langen Reaktionszeiten unternommen worden waren (Zudem war während fast einem Jahr das gleiche Raney-Nickel verwendet worden (April 1971 - Jan. 1972)). Die Begründung liegt darin, dass in den allerersten Versuchen beobachtet worden war, dass die gewünschte Reduktion der Phenylthiomethylgruppen mit der Zerstörung des Corrinchromophors konkurrierte, d.h. je länger die Reaktionszeit gewählt wurde, desto geringer war die Chromophorausbeute. Es wurden deshalb möglichst kurze Reaktionszeiten gewählt. Im weiteren liefert die Reduktion nur des c-Lactonrings die grösste hypsochrome Verschiebung des Elektronenspektrums (α -Bande um ca. 5 nm), d.h. nur durch Öffnung des Lactonrings wechselt die tief blau-violette Farbe des Disubstitutionsprodukts auf violett, auf praktisch die gleiche Farbe, die Cobester besitzt. Zudem zeigen die c-Säuren einen sehr geringen DC-R_f-Wert, die Gemische die vor der Veresterung jeweils analytisch mit DC chromatographiert worden waren, erschienen als ein homogener Fleck. Alle diese Umstände, zusammen mit den sehr ähnlichen spektroskopischen Daten (MS-Spektrum!), liessen nur sehr langsam die Idee aufkommen, dass nicht vollständig reduzierte Produkte vorhanden sein könnten.

III 2. 3. 'NEW DELHI' (10. Februar 1972)

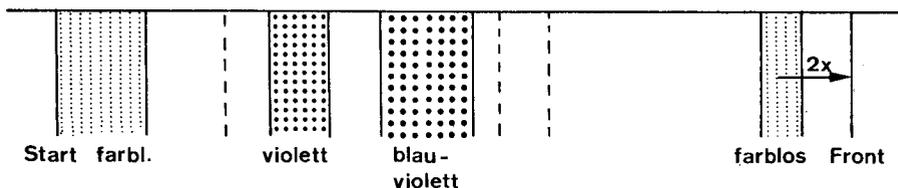
Cobester-f-nitril aus 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitril durch Alkylierung mit Chlormethylbenzyläther in Acetonitril und Reduktion mit Raney-Nickel
Erstmalige Identifikation von kristallinem, totalsynthetischem Cobester-f-amid

Wie in der Einleitung des vorangegangenen Kapitels erwähnt, war es Mitte Juli 1971 noch gelungen, durch Alkylierung der damals noch vorhandenen Restproben des 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitrils (6) (Isomerengemisch $\alpha.\alpha/\alpha.\beta/\beta.\alpha/\beta.\beta$) die beiden Methylgruppen an C-5 und C-15 mit Chlormethylbenzyläther in Sulfolan und anschließende Reduktion mit Raney-Nickel, unter Erhaltung der Nitrilgruppe, einzuführen. Mit Hilfe der LLC konnte das rohe Reaktionsgemisch in drei Fraktionen aufgetrennt werden, wobei die in geringster Menge anfallende mittlere Zone (ca. 130 γ) das gesuchte C-13-f-Nitril-gemisch lieferte. Daraus hatte man nach Behandlung mit konz. Schwefelsäure und Auftrennung durch LLC je ca. 30 γ f-Amid ((10)- $\alpha\alpha\alpha$) und neo-f-Amid ((10)- $\alpha\alpha\beta$) isolieren und nach UV und LLC mit authentischem Vergleichsmaterial identifizieren können. Dies war das erste Mal dass diese beiden f-Amide, wenn auch noch nicht kristallin, auf totalsynthetischem Weg erhalten worden waren [39]. Diese vorläufigen Resultate verlangten nach einer Bestätigung, die im Winter 1971/72 im Hinblick auf den IUPAC-Kongress in New Delhi erbracht wurde. Als wesentliche Aenderung wurde das Lösungsmittel der Alkylierung gewechselt, es wurde Acetonitril anstelle von Sulfolan verwendet. Im Hinblick auf eine Verbesserung der Ausbeuten wurden 18 Alkylierungs- und 11 Reduktions-vorversuche durchgeführt, (vgl. Diskussion der Reaktionsbedingungen S. 128), anschließend wurden nachschubmässig 20 mg Lacton-nitril (6) in 6 Alkylierungs- und 4 Reduktionsansätzen umgesetzt. Je ein Beispiel dieser Versuche ist anschliessend beschrieben, die LLC-Auftrennung und Charakterisierung der Produkte der ganzen Versuchsreihe erfolgte gemeinsam (S.130).

Beispiel eines Alkylierungsansatzes (Januar 1972)



5,52 μMol (ϵ ($\text{C}_6\text{H}_6/575$) = 12'000) 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitril (6) *51 (aus ETH-Variante) wurden mit Methylenchlorid in eine kleine Ampulle (ca. 0,6 ml Inhalt) transferiert, das Lsm. mit Argon abgeblasen und der Rückstand während 1 h am HV bei 60° C getrocknet. Unter Argon wurden 0,2 ml Acetonitril und 24 μl Chlormethylbenzyläther *35 (ca. 170 μMol) zugegeben und die Ampulle unter Argon abgeschmolzen. Das Reaktionsrohr wurde im Oelbad während 15 h auf 88° C erhitzt. Anschliessend wurde mit Eis/Wasser auf ca. 5 - 10° C abgekühlt, die Ampulle geöffnet und mit einer Spritze 40 μl Thiophenol *36 (ca. 390 μMol) zugegeben, die Lösung durch Aufsaugen und wieder Herausdrücken mit einer Pipette homogenisiert und 5 min im Eis/Wasser-Bad stehengelassen. Mit 7 ml Benzol/Hexan (4:1) (auf 0° C vorgekühlt) wurde die dunkelviolette Lsg. in einen Scheidetrichter transferiert und fünfmal mit 15 ml 2M $\text{K}_2\text{CO}_3/0,1\%$ KCN-Lsg. (auf 0° C vorgekühlt) und dreimal mit 15 ml gesättigter $\text{KCl}/0,1\%$ KCN-Lsg. (ebenfalls auf 0° C vorgekühlt) gewaschen. Die wässrigen Auszüge wurden jeweils zweimal mit 7 ml Benzol/Hexan (4:1) extrahiert. Die organischen Phasen wurden durch Watte filtriert und das violette Filtrat am Rotovap bis auf ca. 0,1 ml eingengt *40. Der ölige Rückstand wurde sofort auf einer Dickschichtplatte chromatographiert:



Das Silicagel der beiden ungefähr gleich intensiven, mittleren Zonen (blauviolett und violett) wurde je mit Methanol/Methylenchlorid (5:95) extrahiert und die Filtrate am Rotovap eingengt.

blau-violette Zone:

1,71 μMol (ϵ ($\text{C}_6\text{H}_6/602$) = 17'000) 31%

5,15-Di-phenylthiomethyl-cobester-c-lacton-f-nitril (14) (C-13-Isomerengemisch)

UV (C_6H_6) 602(0,62 max), 569(0,47 sh), 374(1,00 max), $\gamma/\alpha = 1,60$

IR (CHCl_3) 2250 w (CN), 2123 w (CoCN), 1800 m (Lacton), 1735 s (COOCH_3), 1587 m/ 1505 \bar{m} breit (Chromophor), 1438 m, 1385 m, 1352 m, 1150 s, 1108 m, 1080 m, 1025 m, 1000 m, 972 w, 897 w, 876 w.

(vgl. die Spektren der besser charakterisierten Probe auf S.151)

violette Zone:

2,20 μMol (ϵ ($\text{C}_6\text{H}_6/588$) = 14'000) 40%

monosubstituierte Produkte (vgl. die Auftrennung und die Charakterisierung des Hauptanteils auf S.162).

UV (C_6H_6) 588(0,55 max), 559(0,41 sh), 368(1,00 max), $\gamma/\alpha = 1,82$

Diese Produkte, die teilweise zu (14) nachalkyliert werden können (S.149), wurden in diesem Fall nicht mehr weiter untersucht *59.

Alkylierungsbedingungen:

Der Vorteil der Alkylierung in Acetonitril gegenüber Sulfolan lag darin, dass die Reaktion sauberer verlief (höhere Chromophorausbeute von ca. 70-75% statt ca. 60%). Die monosubstituierten Produkte enthielten zudem einen hohen Anteil an der Zone 5 (Anteil ca. 60% *59), die aus dem 15-nor-5-Phenylthiomethyl-f-nitril besteht, wie in der nächsten Charakterisierungsversuchsreihe gezeigt werden konnte (S. 164). Der Anteil an Nebenprodukten, die nicht mehr weiter verwendet werden konnten, war deshalb unter diesen Alkylierungsbedingungen geringer. Vergleichende Versuche in Sulfolan lieferten ähnliche Ausbeuten am Disubstitutionsprodukt (14), aber mehr unbekannte Nebenprodukte. Erhöhung der Reaktionstemperatur (bis 140° C) und entsprechende Verkürzung der Reaktionszeit in Acetonitril (z.B. 120° C, 2h) lieferten ähnliche Ausbeuten an (14) (25 - 30%), dafür wurde neben den monosubstituierten Komplexen noch ein unbekanntes Produkt isoliert (10 - 15%), das der Zone C (S. 98) entsprach (Nebenprodukt bei der Alkylierung des Lacton-Esters (3) mit sehr langen Reaktionszeiten). Wie in der endgültigen Versuchsreihe gezeigt wurde, ist es günstiger, die Alkylierung unter relativ milden Bedingungen durchzuführen und anschliessend die monosubstituierten Produkte nochmals zu alkylieren. Bei der Alkylierung von reinem α,α und reinem α,β -Lacton (6) mit Chlormethylbenzyläther in Acetonitril wurde UV-spektroskopisch das gleiche C-13-Epimerengemisch von (14) in ungefähr gleicher Ausbeute erhalten (vgl. S. 173). Dies zeigt, dass diese Alkylierungsbedingungen das Zentrum C-13 konfiguratativ äquilibrieren.

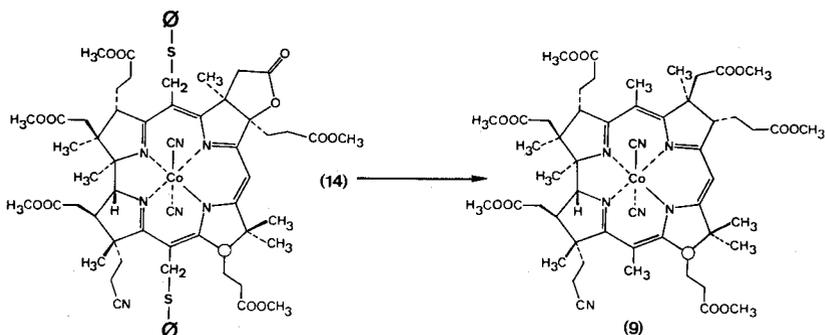
Weitere Vorversuche:

- Versuche mit Friedel-Crafts-Katalysatoren ($TiCl_4$, $SbCl_5$) bei der Alkylierung mit Chlormethylbenzyläther in Sulfolan verliefen völlig unbefriedigend, da nur in sehr geringen Ausbeuten (ca. 20%) Produkte mit ähnlichem UV-Spektrum wie (14), aber kleinerem R_f -Wert isoliert wurden (nach Aufarbeitung mit Thiophenol).

- Bei Zusatz von Trifluoressigsäure zeigte das DC mindestens 10 Zonen (Farben zwischen blau-grün und rotviolett), während die Alkylierung mit Essigsäure als Lösungsmittel neben verschiedenen Zonen ein Disubstitutionsprodukt (analoges UV wie (14)) mit grösserem R_f als (14) in ca. 12% Ausbeute lieferte.

*59) Die LLC-Auftrennung der aus der ganzen Versuchsreihe gesammelten, monosubstituierten Produkte, zeigte 6 Zonen mit folgender Verteilung: Zone 1: 4%, Zone 2: 7,5%, Zone 3: 22%, Zone 4 und 5: 63,5%, Zone 6: 3%. Die einzelnen Zonen wurden mit denjenigen der endgültigen Charakterisierungsversuchsreihe (S. 162) untersucht.

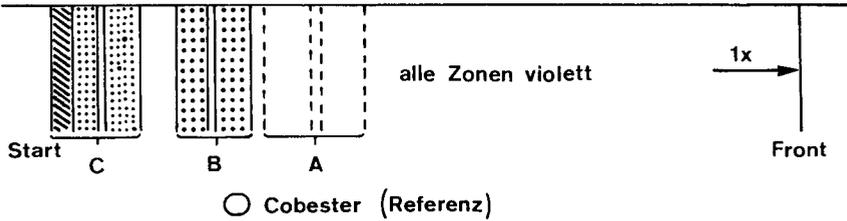
Beispiel eines Reduktionsansatzes (Februar 1972)



0,2 ml *43 Raney-Nickel *60 wurden mit 1ml Methanol versetzt und der 10 ml Kolben mit einem Eis/NaCl-Bad (Badtemp. -8° C) gekühlt. Mit einer Kapillare wurde während 1 min Argon durchgeleitet, dann wurden unter Argon 1,71 μ Mol (14) (oben beschriebener Alkylierungsansatz) in 1,5 ml Methanol zugegeben. Unter Argon wurde während 5 min stark gerührt, nach ca. 1,5 min war die Farbe der Lsg. nur noch schwach gelb-grün. Dann wurden 1,5 ml einer Lsg. aus 3 ml Essigsäure und 10 ml 0,2% HCN/Methanol zugegeben (Lsg. gelbbraun) und 30 sec Luft über die Suspension geleitet, währenddem gleichzeitig 0,15 ml 4% HCN/Methanol zugegeben wurden (Farbwechsel auf violett). Das Kühlbad wurde entfernt, der Kolben mit der Hand auf ca. RT aufgewärmt und das Röhren während 5 min bei RT beibehalten. Mit einer feinen Pipette wurde die Lösung unter Filtration durch Watte in einen Scheidetrichter transferiert. Zum Raney-Nickel wurde viermal 1 ml obiger Essigsäure/HCN/Methanol-Lsg. gegeben, jeweils 1 min bei RT gerührt und die Lsg. ebenfalls unter Filtration durch Watte in den Scheidetrichter transferiert. Das Filtrat wurde nach Zugabe von 7 ml Methylenchlorid einmal mit 15 ml 20% KCl/0,1% KCN-Lsg., einmal mit 15 ml 25% KCl/0,1% KCN-Lsg. und einmal mit gesättigter KCl/0,1% KCN-Lsg. extrahiert. Die wässrigen Phasen wurden noch viermal mit ca. 7 ml Methylenchlorid gewaschen. Die organischen Auszüge wurden durch Watte filtriert und das violette Filtrat am Rotovap bis zur Trockene eingeengt. Chromophorausbeute der Reduktion: 1,375 μ Mol ($\epsilon(\text{CH}_2\text{Cl}_2/590) = 12'000$) 80% Die rohe c-Säure wurde in ca. 5 ml CH_2Cl_2 aufgenommen und einmal mit 10 ml 0,1 N H_2SO_4 /ca. 15% KCl-Lsg. und zweimal mit gesättigter KCl/ca. 0,05% HCN-Lsg. extrahiert. Die organischen Auszüge (wässrige Phasen dreimal mit 5 ml CH_2Cl_2 gewaschen) wurden durch Watte filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde mit CH_2Cl_2 in einen 5 ml Kolben transferiert und zweimal aus 2 ml Benzol am Rotovap eingeengt.

*60) Raney-Nickel, frisch hergestellt nach L. F. Fieser und M. Fieser, 'Reagents for Organic Synthesis', Wiley 1967, S. 729; neutral gewaschen mit H_2O , dann zehnmal mit Methanol übergossen und wieder dekantiert, unter MeOH aufbewahrt.

Nach dem Trocknen während 1 h am HV bei RT, wurden 1 ml Methylenchlorid und 8 Tropfen 0,5 N CH_2N_2 in Aether (ca. 0,15 ml, ca. 50 Aeq.) *45 zugegeben und 7 min bei RT stehengelassen. Die rotviolette Lösung wurde am Rotovap vollständig eingengt und der Rückstand sofort auf einer Dickschichtplatte chromatographiert.



Das Material wurde in drei Teilen (Zonenbereiche A, B und C) durch Extraktion des Silicagels mit Methanol/Methylenchlorid (A und B: 1:9, C: 1:1) isoliert.

- A: 0,162 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/592) = 12'000$) 9,5%, vermutlich nur teilweise reduzierte Produkte (R_f , γ/α -Verhältnis im UV von 2,22 gegenüber 2,52 beim auth. f-Nitril), nicht mehr weiter untersucht.
- B: 0,666 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/593) = 12'000$) 39,0% "f-Nitrile" (LLC-Auftrennung vgl. unten)
- C: 0,300 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/591) = 12'000$) 17,5%, "Amine". Von diesem Material war anfänglich angenommen worden, dass die Säure der Seitenkette c nicht verestert war. Bei der nochmaligen Veresterung des gesammelten Materials aus 4 Versuchen wurde nach DC-Chromatographie nur 20% mit R_f wie B isoliert. 50% besaßen einen kleineren R_f -Wert, während die restlichen 30% am Start stehenbleiben. Im IR (CHCl_3) dieser Produkte mit kleinem R_f -Wert (0,0 - 0,14 (0,0 - 0,5)) (nach LLC mindestens 20 Zonen) fehlte die Bande bei 2250 cm^{-1} für die Nitrilgruppe, dafür erschien eine Bande bei 3420 cm^{-1} . Dies deutet an, dass in diesen Produkten die f-Nitrilgruppe zum Amin reduziert worden ist.

LLC-Auftrennung der "f-Nitrile"

Das Material der Zone B aus 15 Reduktionsversuchen (davon 3 in der beschriebenen Grösse, die andern waren Vorversuche mit weniger Material) wurde zusammengenommen (total 3,1 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/593) = 12'000$)) und mit Hilfe der flüssig-flüssig Verteilungschromatographie aufgetrennt:

(S I, Kol. B, ca. 90 ml/h) vgl. Abb. 43

(auth. f-Nitril: $R_t = 5,4$ min)	
Zone 1	$R_t = 4,4$ min 0,878 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/595) = 14'000$) 28,0%
Zone 2	$R_t = 5,4$ min 0,699 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/594) = 11'000$) 22,3% (entspr. ca. 700 γ).
Zone 3	$R_t = 6,1$ min 0,658 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/590) = 12'000$) 21,0%
Randzonen $R_t = 3,2-4,3$ und $0,904$ μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/592) = 12'000$) 28,7%	6,6-13 min

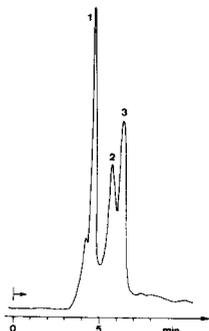


Abb. 43

Die drei Zonen 1-3 (Zone 1 und 3 nach nochmaliger LLC-Reinigung) wurden je mit möglichst wenig Methanol unter Filtration durch Watte transferiert (weisser Rückstand im ersten Kolben *54) und das Filtrat nach Zugabe der gleichen Menge Benzol eingengt. Nach dem Trocknen am HV während 1 h bei RT wurden anschliessend die folgenden Spektren erhalten:

Zone 1 : (5- oder 15-Phenylthiomethyl-cobester-f-nitril- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$?)

$C_{59}H_{74}N_7O_{12}S$ Co

MG 1163

UV(C_6H_6)

qualitativ, aufgenommen auf PE 402

592(0,516 max), 567(0,378 min), 557(0,380 max), 515(0,190 sh),
460(0,106 min), 427(0,164 max), 417(0,155 min), 373(1,000 max),
340(0,291 min), 328(0,367 sh), 317(0,453 max), 297(0,358 min),
282(0,622 max).

$\gamma/\alpha = 2,00$

IR ($CHCl_3$)

2250 w (CN), 2123 w (CoCN), 1733 s ($COOCH_3$), 1585 m/
1500 m (Chromophor), 1437 m, 1375 m, 1352 m, 1165 m,
1152 m, 1104 m, 1087 w, 1008 m.

MS *61

999(21%), 941(22%), 929(53%), M^+ - 2CN - CH_3COOCH_3 -
 C_6H_5S + H, 857(100%).

DC

$R_f = 0,30$ (0,93)

*61) Aufgenommen auf AEI MS 9 von Dr. George Büssi an der Harvard-University, ich danke Dr. Büssi für die rasche Aufnahme und Auswertung dieser Spektren.

Zone 2 : Cobester-f-nitril- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ (9) (nur einmal LLC)

$C_{53}H_{70}N_7O_{12}Co$

MG 1055

UV (C_6H_6)

qualitativ, aufgenommen auf PE 402
593(0,437 max), 559(0,335 sh), 516(0,182 sh), 460(0,104 min),
427(0,146 sh), 373(1,000 max), 341(0,278 min), 329(0,350 sh),
316(0,430 max), 297(0,337 min), 281(0,562 max).
 $\gamma/\alpha = 2,30$

DC

$R_f = 0,26$ (0,81)

Zone 3 : (5- oder 15-Methoxymethyl-cobester-f-nitril- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$?)

$C_{54}H_{72}N_7O_{13}Co$

MG 1085

UV (C_6H_6)

qualitativ, aufgenommen auf PE 402
588(0,455 max), 559(0,362 sh), 458(0,104 min), 427(0,158max),
416(0,152 min), 371(1,000 max), 340(0,290 min), 324(0,384 sh),
313(0,410 max), 295(0,320 min), 281(0,525 max).
 $\gamma/\alpha = 2,20$

IR ($CHCl_3$)

2250 w (CN), 2120 w (CoCN), (1795 w (Lacton)), 1734 s,
(COOCH₃), 1586 m/ 1500 m (Chromophor), 1438 m, 1375 m,
1350 m, 1160 m, 1107 m, 1080 m, 1010 w.

MS *61

(1024(3%)), 999(12%), 959(12%, $M^+ - 2CN - CH_3COOCH_3$),
954(15%), 941(23%), 929(100%, $M^+ - 2CN - CH_3COOCH_3 -$
 $CH_3O + H$), 915 (14%), 857(16%).

DC

$R_f = 0,23$ (0,72)

Zum Vergleich mit den Eigenschaften der Zonen 1 und 3 sei hier das MS von auth. Cobester-f-nitril (9) (aufgenommen unter den gleichen Bedingungen wie die beiden andern) und das IR eines synth. Cobester-f-nitril-C-13-Epimerengemisches (in späteren Versuchen durch Reduktion mit Zinkamalgam in Essigsäure erhalten, vgl. *84) angegeben:

MS (auth.
f-Nitril) *61

999(8%), 957(6%), 941(34%), 929(100%, $M^+ - 2CN -$
 CH_3COOCH_3) (vgl. die MS der synth. f-Nitrile auf S. 197).

IR ($CHCl_3$)

(synth. Cobester-f-nitril- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$): 2250 w (CN), 2122 w
(CoCN), 1735 s (COOCH₃), 1583 m/ 1502 m (Chromophor),
1438 m, 1402 m, 1370 m, 1355 m, 1153 m, 1106 m,
1047 w, 1007 m.

Aufgrund von UV und LLC entsprach die Zone 2 dem f-Nitril- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ (9). Dass es sich tatsächlich um ein ca. 1:1 Gemisch der beiden C-13-Epimere des f-Nitrils handelt, wurde vor allem durch die Ueberführung in die f-Amide (10) mit H_2SO_4 bewiesen (S. 134). Die spektroskopischen Unterschiede der Zone 1 und 3 zur Zone 2 sind analog denjenigen, die zwischen den 3 Zonen im Falle des Cobesters ("Black Friday", S.114 -122) gefunden worden waren. Die beiden demnach nur teilweise reduzierten Produkte (Zone 1 = 15-Phenylthiomethyl-cobester-f-nitril, Zone 3 = 5- oder 15-Methoxymethyl-cobester-f-nitril *62) weisen im UV ein kleineres γ/α -Verhältnis auf, als Zone 2, λ_{max} der Zone 3 ist zudem um 5 nm hypsochrom verschoben (von 593 nach 588 nm). Im IR-Spektrum weist die Zone 1 bei 1087 cm^{-1} eine schwache, Zone 3 eine relativ starke Bande bei 1080 cm^{-1} auf, während im Spektrum des Cobester-f-nitrils ($\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$) diese Bande fehlt, die der allylisch zum Chromophor gebundenen Thioäther- oder Aethergruppe zugeschrieben werden kann. Die Massenspektren hingegen unterstützten die anfängliche Meinung, dass alle drei Zonen isomer zueinander seien. Der Basepeak der Zonen 1 und 3 (929 m/e) ist der gleiche wie jener des Cobester-f-nitrils (9). Analog den Zonen 1 und 3 im Falle des Cobesters wurden später (Frühling 1973) auch diese beiden Zonen durch Reduktion mit Zinkamalgame in Essigsäure zum f-Nitril- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ -Gemisch reduziert (S. 142).

Diskussion der Reduktionsbedingungen:

Bei der Ausführung dieser Versuchsreihe war noch nicht erkannt worden, dass Zone 1 und 3 nicht Isomere des f-Nitrils (9), sondern teilweise reduzierte Produkte sind.

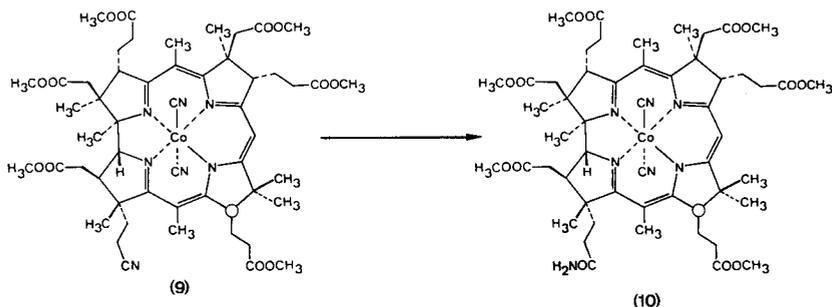
Bei der Verwendung des alten Raney-Nickels *44, das gegenüber der Boston-Versuchsreihe (S.108) nochmals ca. ein halbes Jahr älter geworden war, musste, um überhaupt eine Reduktion zu erreichen, riesige Mengen verwendet werden, und die Ausbeute sank auf ca. 20% an Gemischen der Zonen 1 - 3. Es wurde deshalb wieder neues Raney-Nickel hergestellt, von dem wegen seiner grösseren Aktivität nur ca. 1/10 der Menge des alten zur Reduktion benötigt wurde. Mit diesem wässrigen Raney-Nickel wurde in Methanol aber nur Ausbeuten zwischen 10 und 30% erreicht; vor allem, weil beim Chromatographieren Material am Start blieb, das auch bei der Nachveresterung keinen grösseren R_f -Wert zeigte. Mit dem auf Methanol umgewaschenen Raney-Nickel wurden ähnliche Resultate erhalten. Mit dem während 1 h in Aceton am Rückfluss gekochten und anschliessend mit H_2O gewaschenen (deshalb desaktivierten) Raney-Nickel, wurden keine Reduktionsprodukte mehr erhalten, sondern nur Edukt isoliert. Nachdem auch mit Fluka Raney-Nickel keine besseren Resultate erzielt worden waren, wurde der Hauptteil von (14) wohl oder übel mit dem neuen Raney-Nickel in Methanol reduziert. Obschon aufgrund der späteren Untersuchungen immer noch nur teilweise reduzierte Produkte isoliert wurden (Zone 1 und 3), lieferte dieses Raney-Nickel auch noch Produkte, bei denen die Nitrilgruppe der Seitenkette f zum Amin reduziert worden war.

*62) Aufgrund der Intensität der Bande bei 1795 cm^{-1} im IR-Spektrum enthielt diese Probe zwischen 10 - 15% Lacton-komplexe.

Mit der später durchgeführten LLC-Untersuchung über die Abhängigkeit der Zonenverteilung vom verwendeten Raney-Nickel im Falle des Cobesters (vgl. S.118), muss angenommen werden, dass es vor allem der grösseren Aktivität des Raney-Nickels zuzuschreiben ist, dass in diesem Fall in reinem Methanol neben den Zonen 1 und 3 überhaupt noch Zone 2 erhalten wurde. So wie beim Black Friday Pech, war hier sicher auch Glück im Spiel. Ganz offensichtlich war es nach dieser Versuchsreihe, dass diese Reduktionsmethode völlig unbefriedigend war und dringend etwas Besseres gefunden werden musste.

Synth. f-Amide (10) durch Behandlung der Zone 2 mit konz. H₂SO₄ *63

Versuche durchgeführt von W. Fuhrer



0,645 μ Mol (ϵ (C₆H₆/594) = 11'000) des oben beschriebenen Materials aus Zone 2 (f-Nitril- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$) wurden mit Benzol in ein Glühröhrchen transferiert und das Lsm. mit Argon abgeblasen. Der violette Rückstand wurde während 40 min am HV bei RT getrocknet. Unter Argon wurden mit einer Mikroliterspritze 150 μ l konz. Schwefelsäure *64 zugegeben und sofort mit einer Kapillare ein feiner Argonstrom durch die braune Lösung geleitet. Nach ca. 10 min war das f-Nitril vollständig gelöst, total wurde während 80 min bei RT Argon durchgeleitet (Glühröhrchen mit Alufolie vor Licht geschützt). In einen 100 ml Rundkolben wurden 350 mg NaHCO₃ *65, ca. 15 g Eis und ca. 15 ml Methylenchlorid gegeben und die Reaktionslösung langsam zu dieser kräftig gerührten Suspension zugetropft, wobei sich diese hellrot färbte.

*63) Die Reaktionsbedingungen waren von N.Obata an auth. Material ausgearbeitet worden (vgl. S. 240).

*64) Schwefelsäure *11 vorher durch Durchleiten von Argon bei RT während 1 h entgast.

*65) Natriumbicarbonat, wasserfrei, Merck p.a.

Das Glühröhrchen wurde mit ca. 100 µl Schwefelsäure *64 und anschliessend mit Wasser gespült. Nach ca. 1 min wurde die Suspension in einen Scheidetrichter transferiert und kurz kräftig geschüttelt und die org. Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wurde zweimal mit Methylenchlorid gewaschen, die organischen Auszüge jeweils zweimal mit gekühlter, gesättigter KCl/0,1% KCN-Lsg. extrahiert. Die organischen Auszüge wurden durch Watte filtriert und das violette Filtrat am Rotovap vollständig eingeeengt.

Chromophorausbeute: 0,493 µMol ($\epsilon(C_6H_6/592) = 10'500$) 76,5%

Das Rohprodukt wurde direkt mit Hilfe der flüssig-flüssig Verteilungschromatographie aufgetrennt.

(S I, Kol. B, ca. 90 ml/h) vgl. Abb. 44

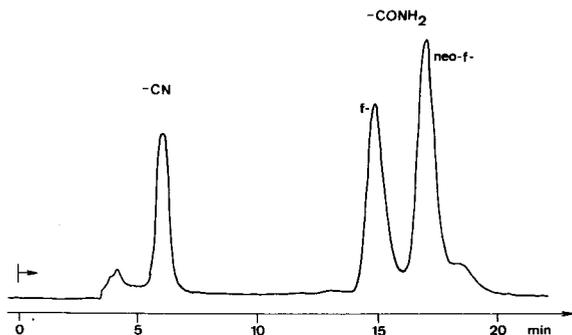


Abb. 44

(auth. f-Amid) : $R_t = 14,8$ min (1'900)

f-Nitrile (Edukt) : $R_t = 6,0$ min (630) *66 0,060 µMol ($\epsilon(C_6H_6/596) = 10'500$) 9,3%

synth. f-Amid : $R_t = 14,8$ min (1'900) 0,095µMol ($\epsilon(C_6H_6/592)=12'000$)14,7%

synth. neo-f-Amid: $R_t = 17,0$ min (2'300) 0,154µMol ($\epsilon(C_6H_6/595)= 9'800$)24,0%

(Auflösung zwischen f-Amid und neo-f-Amid: $R_s = 1,55$)

Die relativ geringen Ausbeuten im Vergleich zu den folgenden Versuchen ist vermutlich auf die unvollständige Abtrennung von der Nitril-Zone 3 des nur einmal LLC-getrennten Edukts zurückzuführen.

Zusammen mit nochmals 0,054 µMol f-Nitrile- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ (Zone 2) wurde das oben zurückgewonnene Edukt und das neo-f-Amid unter den identischen Reaktionsbedingungen umgesetzt (die f-Amide isomerisieren unter diesen Bedingungen zum C-13-Epimerengemisch, vgl. S. 240).

eingesetztes Material: 0,267 µMol f-Nitrile und neo-f-Amid

Rohausbeute vor LLC: 0,210 µMol ($\epsilon(C_6H_6/593)= 10'500$) 78,5%

LLC:f-Nitrile: 0,019 µMol 7,1%

synth. f-Amid: 0,055 µMol 20,6%

synth. neo-f-Amid 0,075 µMol 28,3%

Das zurückgewonnene f-Nitril und das neo-f-Amid wurden nochmals umgesetzt:

eingesetztes Material:	0,094 μMol	
Rohausbeute vor LLC:	0,084 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_8/590) = 10^5/500$)	89%
LLC: synth. f-Amid :	0,020 μMol	21%
f-Nitril + neo- f-Amid	0,053 μMol	57%

Durch diese drei Schwefelsäure-behandlungen konnten aus 0,699 μMol f-Nitril- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ (Zone 2) total 0,170 μMol synth. Cobester-f-amid (24,3% entsprechend 182 γ) isoliert werden.

Die zwei Nachbehandlungen waren durchgeführt worden, um aus den 700 γ der Zone 2 (f-Nitril- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$) möglichst viel des $\alpha\alpha\alpha$ -f-Amids (10) isolieren zu können und so die Identifikation des natürlichen Isomeren zu erreichen. Die Zuordnung des neo-f-Amids beruht auf dem völlig identischen Verhalten des synth. und auth. Materials bei der Behandlung mit konz. Schwefelsäure. In der endgültigen Versuchsreihe (vgl. S. 206) konnten dann beide Isomere des f-Amids (10) identifiziert werden.

Erstmalige Kristallisation und Charakterisierung des synthetischen Cobester-f-amids (10)- $\alpha\alpha\alpha$

(Mengenangaben in diesem Kapitel in γ)

161 γ synth. f-Amid der ersten beiden Schwefelsäure-ansätze (0,095 und 0,055 μMol) wurden einmal mit möglichst wenig Methanol *67 unter Filtration durch Watte transferiert *54. Nach der Zugabe der gleichen Menge Benzol *68 wurde die Lsg. am Rotovap vollständig eingengt. Der violette Rückstand wurde mit ca. 0,2 ml Methylenchlorid in ein Analysenröhrchen transferiert und das Lsm. mit Argon abgeblasen. Das f-Amid wurde 10 min am HV bei RT getrocknet und anschliessend mit 30 μl Methylacetat *27 und 50 μl Hexan versetzt und das Analysenröhrchen mit einem PVC-Stopfen verschlossen. Nach dem Stehenlassen über Nacht bei RT wurden am oberen Rand, direkt unter dem Stopfen und ca. 1 cm über der Lösung, zwei kleine Kristallbüschel (schätzungsweise 1 - 3 γ) gefunden. Es wurde auch in andern Versuchen beobachtet, dass die Lösungen in so kleinen Röhrchen sehr leicht an den Wänden hochkriechen können; umso erstaunlicher ist, dass die Kristallisation am obersten Rand einsetzte, löste doch das Methylacetat sicher ein Teil des Weichmachers aus dem Stopfen.

*66) Die in diesem Chromatogramm festgestellte geringe theoretische Bodenzahl für das C-13-Epimerengemisch des f-Nitrils, führte zu neuen Trennversuchen, bei denen ein System gefunden wurde, in dem die beiden Isomere getrennt werden können. (vgl. S.142).

*67) Methanol, Fluka puriss, über Magnesium unter Argon destilliert.

*68) Benzol, Merck kristallisierbar, über Natriumhydrid unter Argon destilliert.

Da die Möglichkeit, die ganze Probe durchzukristallisieren ohne dass sie nach dem LLC-Chromatogramm noch DC-chromatographiert worden wäre, als gering beurteilt wurde, wurde die Lsg. mit einer Mikroliterspritze herausgesogen und zusammen mit den 21 γ f-Amid aus dem dritten Schwefelsäureansatz auf einer Dünnschichtplatte chromatographiert. Die Zone des f-Amids ($R_f = 0,15$ (0,43)) war oben von einer schwach gelb-orangen, unten von einer schwach blau-violetten Randzone flankiert. Das Silicagel der Hauptzone wurde mit ca. 3 ml Methanol *67/Methylenchlorid (1:6) extrahiert und das Filtrat am Rotovap bis zur Trockene eingeeengt. Mit Methylenchlorid (ca. 0,2 ml) wurde der Rückstand wieder in ein Analysenröhrchen transferiert, das Lsm. mit Argon abgeblasen und der Rückstand während 10 min am HV getrocknet. Nach dem Zugeben von 30 μ l Methylacetat *27 und 50 μ l Hexan wurde die Lösung mit den ersten Kristallen angeimpft. Nach 12 h wurden 40 μ l Hexan zugegeben, und nach weiteren 24 h wurde die Mutterlauge mit einer Mikroliterspritze herausgesogen (Mutterlauge: 31 γ ($\mathcal{E}(\text{C}_6\text{H}_6/590) = 12'000$)). Die Kristalle wurden während 2 h am HV bei RT getrocknet, dann wurden einige entnommen und damit auf einem Mikroskop-Kofler-Block das folgende Schmelzpunktsprotokoll aufgenommen (die authentische Vergleichsprobe war dreimal aus Methylacetat/Hexan kristallisiert und 24 h am HV bei RT getrocknet worden (vgl. S. 233).

synth. Cobester-f-amid	auth. Cobester-f-amid
178-180° rote Farbe verschwunden	186° rote Farbe verändert
185° Ecken der Kristalle abgerundet	190-192° kleine Kristalle rote Farbe verschwunden
190° Kristalle schwarz, Form sonst unverändert, die Formen bleiben auch bei höheren Temp. erhalten (bis 210° verfolgt).	194° Ecken werden rund 196° alle Ecken rund 197° alle Kristalle schwarz, die Formen bleiben auch bei höheren Temp. unverändert (bis 350° verfolgt).

Anmerkung:

Aufheizgeschwindigkeit: zwischen 170 und 190° ca. 8°/min.

Bei der authentischen Probe war vorangehend beobachtet worden, dass das Schmelzverhalten stark von der Aufheizgeschwindigkeit abhängig ist. Bei sehr raschem Aufheizen konnte ein normales Schmelzen bei ca. 210° C beobachtet werden.

Der Grossteil der Kristalle wurde im gleichen Analysenröhrchen in 30 μ l Methylacetat *27 gelöst und die klare Lösung mit 50 μ l Hexan versetzt. Beim Stehenlassen bei RT setzte die Kristallisation spontan ein und nach 24 h wurden 30 μ l Hexan zugegeben und nach weiteren 24 h wurde die Mutterlauge abpipettiert (5 γ ($\mathcal{E}(\text{C}_6\text{H}_6/590) = 12'000$)). Die Kristalle (rote, feine Nadeln in Büschelform, Menge UV/VIS-spektroskopisch bestimmt nach Aufnahme des NMR-Spektrums: 102 γ) wurden während 24 h am HV bei 0,01 Torr und RT getrocknet. Mit dieser Probe nahmen Dr. G. Englert und P. Casagrande in der Firma Hoffmann-La Roche in Basel das 90 MHz-Fourier-Transform-NMR auf, das in Abb. 45 wiedergegeben ist (auth. Vergleichsspektrum aufgenommen mit ca. 200 γ , die aus dem dreimal kristallisierten Material durch analoge Umkristallisation wie beim synth. Material erhalten worden waren).

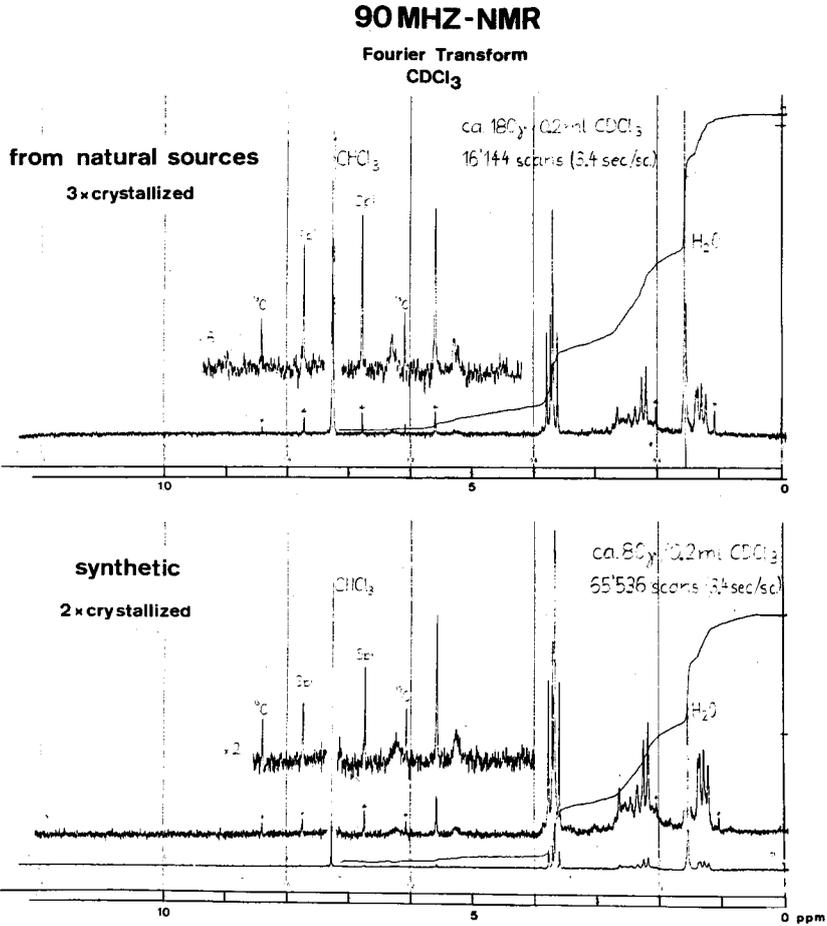


Abb. 45

Anschliessend an die beiden NMR-Spektren nahm H. Maurer in der Firma Kontron in Zürich die beiden CD-Spektren (Abb. 46) auf, nach Verdünnen der Lösung der synth. Probe wurden von Prof. J. F. M. Oth an der ETH die beiden UV-Spektren aufgenommen (auth. Probe: 1,515 mg in 50 ml gelöst) (Abb. 47).

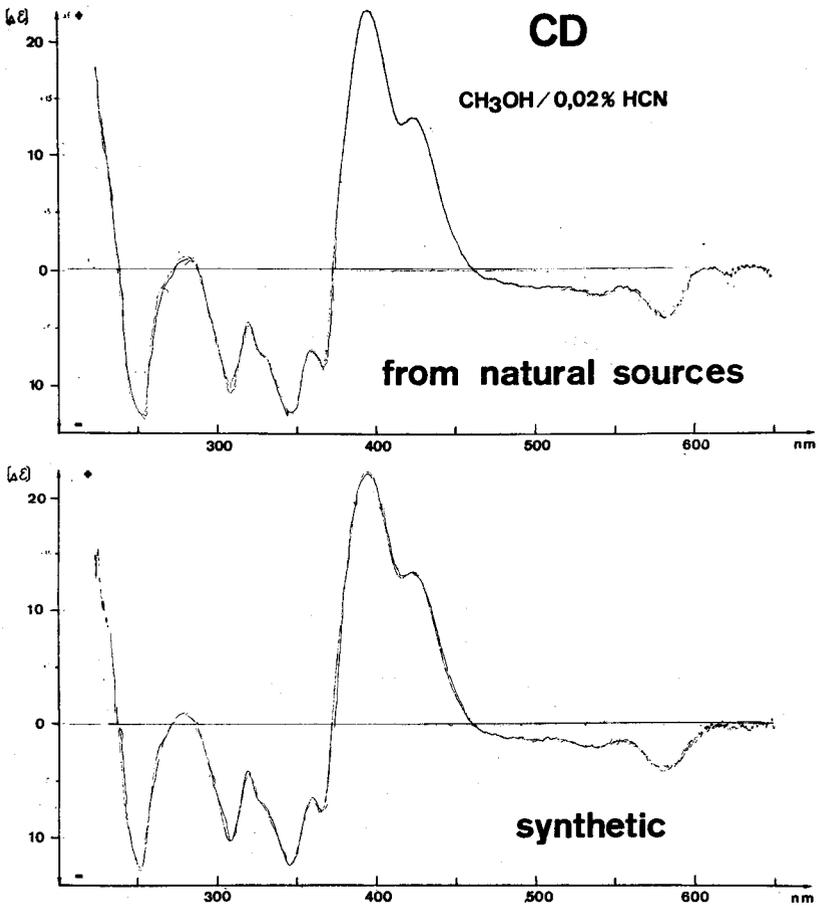


Abb. 46

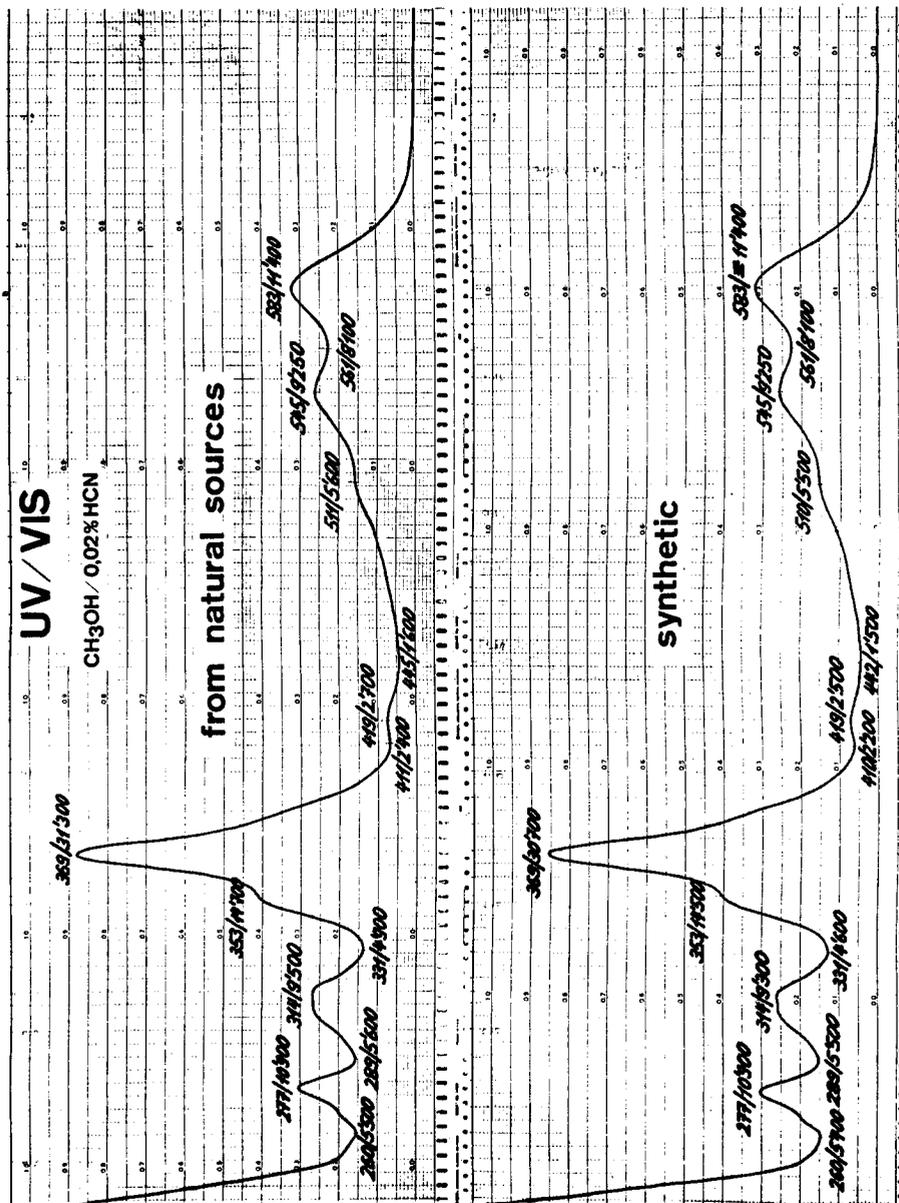


Abb. 47

Nach diesen Spektren wurde die synthetische Probe wieder aus Methylacetat / Hexan kristallisiert, worauf Prof. Ruch an der ETH von den Kristallen Farbaufnahmen im polarisierten Licht unter dem Mikroskop herstellte (Abb.48).

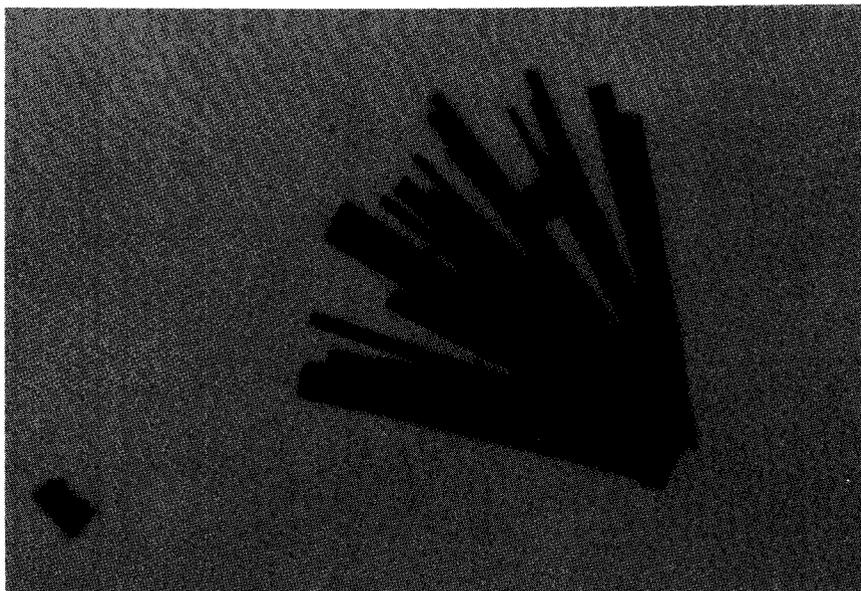


Abb. 48: Kristalle synth. f-Amid (Vergrößerung ca.700-fach)

Da die Spektren (NMR, UV, CD) der synth. Probe mit denjenigen der authentischen Vergleichssubstanz verblüffend gut übereinstimmten und später mit mehr Material nochmals eine Identifikation durchgeführt wurde (vgl.S. 212), wird hier auf eine explizite Angabe der Daten verzichtet. Stattdessen möchte ich allen Beteiligten für ihre Mühe danken, die sie sich bei der Aufnahme der Spektren genommen haben, den Herren

Dr. G. Englert und P. Casagrande, Hoffmann-La Roche AG, Basel

H. Maurer, Kontron AG Zürich

Prof. J. F. M. Oth, ETH Zürich

Prof. E. Ruch, ETH Zürich

Durch diese erstmalige, spontane Kristallisation des totalsynthetischen, via photochemischer A-D-Cycloisomerisierung erhaltenen, Cobyrynsäure-hexamethylester-f-amids (10) konnte Prof. R. B. Woodward am IUPAC-Kongress in New Delhi am 10. Februar 1972 über den Abschluss der Totalsynthese von Vitamin B₁₂ berichten [34].

Reduktion der f-Nitril-LLC-Zonen 1 und 3 (S. 131) mit Zinkamalgame (April 1973)

Je mit einer Probe der Zone 1 und 3 wurde ein Reduktionsversuch mit Zinkamalgame in Essigsäure durchgeführt. Diese Versuche wurden direkt im Anschluss an die Reduktion der entsprechenden Zonen des "Black Friday-Cobesters" S.123 und 124 unter identischen Bedingungen durchgeführt. Die experimentellen Angaben zu diesen Versuchen findet man deshalb auf S.123

Zinkamalgame-Reduktion Zone 1:

Edukt: 0,261 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/593) = 14'000$) 5- oder 15-Phenylthiomethyl-f-nitril (S.131).

Rohausbeute der Reduktion: 0,218 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/592) = 11'000$) 83,5%

DC: Hauptzone mit R_f wie auth. f-Nitril: 0,173 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/593) = 11'000$) 66%

LLC: (S II, Kol. C, 39 ml/h) (auth. f-Nitril: $R_t = 17,3$ min (4'600, $k' = 3,9$)
auth. neo-f-Nitril: $R_t = 19,0$ min (4'400, $k' = 4,4$)

Zone mit $R_t = 17,0$ min (4'600) 0,090 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/593) = 12'000$) 33,5%/58%

Zone mit $R_t = 18,6$ min (4'400) 0,065 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/595) = 9'800$) 24,9%/42%

Zur weiteren Charakterisierung wurde das Material, das nach LLC dem f-Nitril, resp. dem neo-f-Nitril entsprach, mit den entsprechenden Produkten aus der Reduktion der Zone 3 zusammengenommen.

Zinkamalgame-Reduktion Zone 3:

Edukt: 0,354 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/589) = 12'000$) 5- oder 15-Methoxymethyl-f-nitril (S.132), diese Probe enthielt nach IR ca. 10% Lacton, das unter den Reduktionsbedingungen in die c-Säure überführt wird und so leicht abgetrennt werden kann.

Rohausbeute nach der Reduktion: 0,263 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/590) = 11'000$) 74,5%

DC: Hauptzone mit R_f wie auth. f-Nitril:

0,123 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/593) = 11'000$) 35%

Zone mit R_f wie Edukt: 0,035 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/589) = 12'000$) 10%

Zone mit sehr kleinem R_f (Säure ?) 0,058 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/588) = 11'000$) 16%

LLC: (S II, Kol. C, 39 ml/h) vgl. oben

Zone mit $R_t = 16,8$ min (4'800) 0,040 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/593) = 12'000$)
11,3%/ 43%

Zone mit $R_t = 18,4$ min (4'300) 0,054 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/595) = 9'800$)
15,2%/ 57%

Die entsprechenden Zonen der beiden Reduktionsansätze wurden zusammengenommen und die folgenden UV-Spektren aufgenommen, die mit denjenigen der kristallinen Proben der nächsten Versuchsreihe (S. 190) gut übereinstimmen.

synthetisches Cobester-f-nitril (9), aus Zinkamalгам-Reduktion Zone 1 u. 3

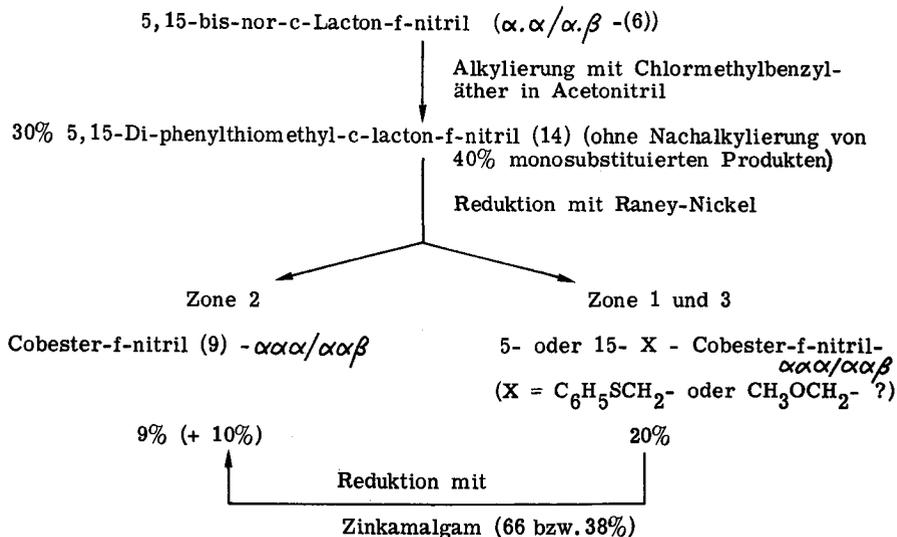
UV (C₆H₆) 594(0,385 max), 571(0,286 min), 555(0,319 max), 519(0,186 sh),
 451(0,072 min), 426(0,121 max), 417(0,113 min), 374(1,000max),
 360(0,552 sh), 339(0,246 min), 328(0,311 sh), 315(0,395 max),
 293(0,269 min), 280(0,517 max).
 $\gamma/\alpha = 2,59$

synthetisches neo-Cobester-f-nitril (9), aus Zinkamalгам-Reduktion
 Zone 1 und 3

UV (C₆H₆) 595(0,364 max), 563(0,293 sh), 519(0,171 min), 509(0,172 max),
 455(0,116 min), 432(0,140 max), 420(0,135 min), 373(1,000max),
 358(0,535 sh), 340(0,298 min), 328(0,380 sh), 315(0,372 max),
 295(0,396 min), 280(0,562 max).
 $\gamma/\alpha = 2,73$

Von den beiden Proben (150 resp. 100 γ Material) wurde noch je ein IR-Spektrum (CHCl₃) aufgenommen. Von diesen Substanzmengen konnten nur noch ca. 0,2%-ige Lösungen (normal 2%) hergestellt werden. Die so registrierten IR-Spektren zeigten alle intensiven Banden der kristallinen Proben der nächsten Versuchsreihe (S. 192), insbesondere konnte mit Sicherheit gezeigt werden, dass die Bande bei 1087 resp. 1080 cm⁻¹ der Edukte verschwunden, oder zumindest bedeutend schwächer geworden waren. Zusätzlich konnten beide Proben anschliessend noch nach Animpfen mit synthetischen Kristallen (S. 185) zu rund 90% kristallisiert werden (Analysenröhrchenkristallisation, vgl. S. 136).

Uebersicht über die Ausbeuten bei der New Delhi - Versuchsreihe



Nachtrag

Vor den obigen Reduktionen mit Zinkamalgam wurde versucht (Frühling 1973) die Position der nicht reduzierten Methylgruppe in den f-Nitril-Zonen 1 und 3 zu ermitteln. Dies gelang nicht, da zu wenig Material zur Verfügung stand. Immerhin konnten einige Hinweise gesammelt werden:

-H₂SO₄- Behandlung:

Als noch angenommen worden war, dass die beiden Zonen Isomere zum f-Nitril seien, wurden die beiden Zonen (Proben aus einem analogen Reduktionsversuch mit Raney-Nickel) mit konz. Schwefelsäure behandelt; in der Hoffnung, gleichzeitig mit der Ueberführung ins Amid, die gewünschte Isomerisierung zu erreichen. Die beiden durch die H₂SO₄- Behandlung erhaltenen Proben zeigten im DC zu kleine, aber untereinander gleiche R_t-Werte (0,47, auth. f-Amid: 0,53, auth. e-Amid: 0,38 (relativ-Werte zu Cobester)). Im LLC wurden bei beiden Proben zwei Zonen gefunden, beide mit bedeutend grösseren Retentionszeiten als das f-Amid (Mengenverhältnisse berechnet aus dem Abwägen der ausgeschnittenen Peakflächen):

(S I, Kol. A) auth. f-Amid: R _t = 11 min,	
Produkte aus Zone 1	R _t = 30 min 78%
	R _t = 53 min 22%
Produkte aus Zone 3	R _t = 30 min 68%
	R _t = 58 min 32%

Aus der Tatsache, dass in beiden Fällen die gleichen Hauptprodukte erhalten werden (nach LLC), kann vermutet werden, dass die Phenylthiomethyl- resp. Methoxymethylgruppe in die Hydroxymethylgruppe überführt worden waren und weiter, in den zwei Fällen, die nicht reduzierte Gruppe vorwiegend an der gleichen Stelle sitzen sollte.

LLC-Auftrennung: Beide Zonen wurden im langsamen System II untersucht:

(S II, Kol. C, 36 ml/h) (f-Nitril: R_t = 20,0 min (4'100)
neo-f-Nitril: R_t = 21,2 min (4'500))

Zone 1: Hauptsächlich eine Zone mit R_t = 12,8 min (1'300), daneben mengenmässig geringe Nebenzonen. Diese Zone zeigte eine geringe Andeutung einer Auftrennung (vgl. auch geringe Bodenzahl) in zwei Komponenten; die beiden UV-Spektren des in zwei Teilen aufgefangenen Materials wiesen auf die Antrennung von zwei C-13-Epimeren hin.

Zone 3: zwei Zonen: A: R_t = 25,5 min 63,5%
B: R_t = 27,4 min 36,5% , Zone A zeigte eine deutliche Antrennung in zwei Komponenten, UV-spektroskopisch wieder Hinweise auf C-13-Epimere, Zone B zeigte ein UV-Spektrum eines C-13-Gemisches und enthielt vermutlich auch die ca. 10% Lacton, die im Gemisch vorhanden waren (vgl. IR).

LC-Harvard: Die Harvard-Gruppe konnte mit ihrem LC-System, das normalerweise C-13-Epimere sehr gut zu trennen vermag, Zone 1 in drei und Zone 3 in fünf Komponenten auftrennen (Anmerkung: Zone 3 enthält nach IR ca. 10% Lacton, vgl. S. 132)

Folgende Mengenverhältnisse wurden ermittelt:

Zone 1: 30%, 49%, 16%

Zone 3: 28%, 32%, 8%, 18%, 14%

Zusammenstellung:

Kombiniert man diese drei Hinweise und berücksichtigt weiter, dass im Fall der Zonen 1 und 3 des "Cobesters" (S. 114) aufgrund der NMR-Spektren gefunden worden war, dass die Phenylthiomethyl- resp. Methoxymethylgruppe zum grösseren Teil an C-15 sitzen, kann die folgende spekulative Zuordnung getroffen werden:

	Verteilung aus			spekulative Zuordnung
	LLC	LC (Harvard)	LLC nach H ₂ SO ₄	
Zone 1	(80-90%)	30+49%=79%(83%)	78%	80% 15-Phenylthiomethyl- f-nitril- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$
	?	16%(17%)	22%	20% 5-Phenylthiomethyl- f-nitril- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$
Zone 3	63,5%	28+32%=60%(65%)	68%	65% 15-Methoxymethyl- f-nitril- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$
	36,5%	14+18%=32%(35%)	32%	35% 5-Methoxymethyl- f-nitril- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$

Die Frage nach der Position der nicht reduzierten Gruppe wurde durch die Zinkamalgam-Reduktion bedeutungslos und deshalb auch nicht mehr weiter untersucht.

III 3. ENDGÜELTIGE REAKTIONSBEDINGUNGEN (Herbst 1972)

Methylierung von 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitril durch Alkylierung mit Chlormethylbenzyläther in Gegenwart von Lithiumchlorid in Acetonitril und Reduktion mit Zinkamalgam in Essigsäure

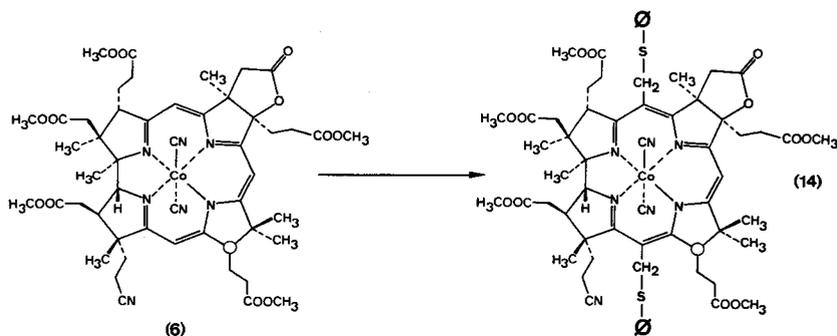
Identifikation von totalsynthetischem Cobester-f-amid und neo-Cobester-f-amid

III 3. 1. ALKYLIERUNG

Uebersicht:

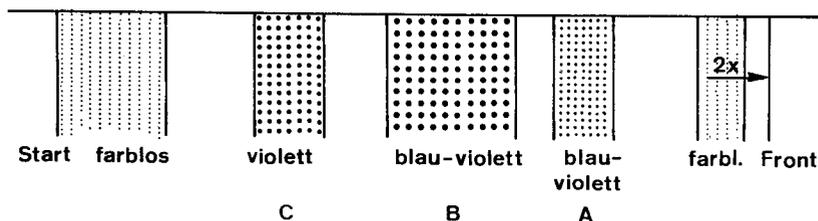
Nach einem Beispiel eines Alkylierungsansatzes des 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitrils- $\alpha,\alpha/\alpha,\beta$ (6) wird anschliessend die Nachalkylierung der monosubstituierten Produkte (S. 149) beschrieben. Auf S.151 folgt die Charakterisierung der beiden C-13-Epimere des Disubstitutionsprodukts (14), ab S. 162 werden die monosubstituierten Produkte näher untersucht. Dann folgt die Alkylierung des reinen α,α -5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitrils (6) zum C-13-Gemisch von (14) (S.173), anschliessend werden die Resultate beschrieben, die mit dem $\beta,\alpha/\beta,\beta$ -Isomerenpaar von (6) und dem Cobester-c-lacton (13) unter den gleichen Alkylierungsbedingungen erhalten worden waren. Auf S.178 werden die Alkylierungsbedingungen diskutiert.

III 3. 1.1. Beispiel eines Alkylierungsansatzes von 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitril- $\alpha,\alpha/\alpha,\beta$ (6)



4,45 μ Mol ($\mathcal{E}(C_6H_6/575) = 12'000$) (entspricht ca. 4,5 mg) 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitril- $\alpha,\alpha/\alpha,\beta$ -Gemisch (6) *51 wurden mit Chloroform in eine kleine Ampulle (Länge ca. 5 cm, Innen- \varnothing 0,4 cm) transferiert, das Lsm. mit Argon abgeblasen und der Rückstand während 16 h am HV (0,01 Torr)

über P_2O_5 getrocknet. Unter Argon wurden 0,5 mg Lithiumchlorid *69 (ca. 12 μMol) zugegeben und anschliessend nochmals während 4 h am HV bei RT über P_2O_5 getrocknet. Unter Argon wurden mit einer Mikroliter-spritze 0,2 ml Acetonitril zugegeben und die rote Lsg. mit 24 μl Chlor-methylbenzyläther *35 (ca. 170 μMol) versetzt *70. Die Ampulle wurde unter Argon zugeschmolzen und in einem Ölbad während 15 h auf 88° C erhitzt (Ölbadtemp., Ampulle zur Hälfte eingetaucht). Mit Eis/Wasser wurde die Ampulle zuerst abgekühlt, geöffnet und die dunkelviolette Reak-tionslsg. mit 40 μl Thiophenol *36 (ca. 390 μMol) versetzt. Durch Auf-saugen und wieder Hinausdrücken mit einer Pipette wurde die Lsg. homo-genisiert und während 5 min in der Ampulle im Eis/Wasser-Bad stehenge-lassen. In 10 ml Benzol/Hexan (4:1, auf 0° C vorgekühlt) aufgenommen, wurde die Lsg. dreimal mit 10 ml 2 M $K_2CO_3/0,1\%$ KCN-Lsg. und drei-mal mit 10 ml gesättigter $KCl/0,1\%$ KCN-Lsg. (beide auf 0° C vorgekühlt) gewaschen und die wässrigen Auszüge jeweils zweimal mit 10 ml Benzol/Hexan 4:1 extrahiert. Die organischen Phasen wurden durch Watte filtriert und das blauviolette Filtrat am Rotovap bis auf ca. 0,1 ml eingengt. Der ölige rote Rückstand *40 wurde sofort auf einer Dickschichtplatte (zwei-mal entwickelt) (vgl. S.49) in einer DC-Wanne aufsteigend chromatographiert.



Die drei Fraktionen, die durch Extrahieren des entsprechenden Silicagels mit Methanol/Methylenchlorid (1:9) und anschliessendes Einengen am Rotovap erhalten worden waren, wurden zur Entfernung des mitgenommenen Silicagels je in ca. 7 ml Methylenchlorid aufgenommen und zweimal mit 100 ml ge-sättigter $KCl/0,1\%$ KCN-Lsg. ausgeschüttelt. Nach Filtration der organischen Phasen durch Watte, wurden die Filtrate am Rotovap vollständig eingengt und die Rückstände während 2 h am HV getrocknet, anschliessend wurden ihre Anteile spektroskopisch bestimmt:

A: Zonen mit grösserem R_f als Hauptprodukt:
 0,252 μMol ($\epsilon(C_6H_6/600) = 17'000$) 5,7%
 UV: 600(0,60 max), 373(1,00 max) vgl. Abb. 49 (weitere Untersuchung S. 159)

B: Hauptprodukt: 5,15-Di-phenylthiomethyl-cobester-c-lacton-f-nitril- $\alpha,\alpha/\alpha,\beta$
 (14), 2,08 μMol ($\epsilon(C_6H_6/602) = 17'000$) 46,6%
 UV: 602(0,63 max), 373(1,00 max) vgl. Abb. 50 (Charakterisierung S. 151)

*69) Lithiumchlorid, Fluka purum, wasserfrei

*70) Ein Teil des Lithiumchlorids verblieb bis zum Schluss der Reaktion als Festkörper in der Ampulle ungelöst.

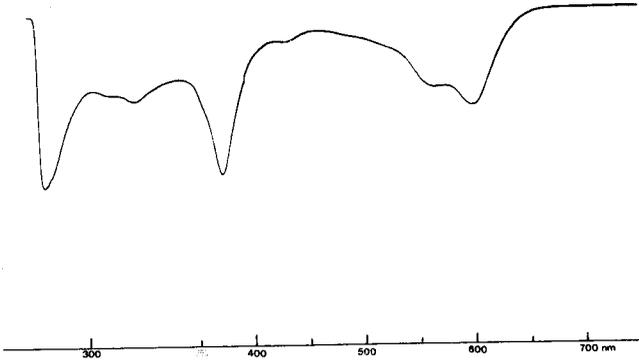


Abb. 49

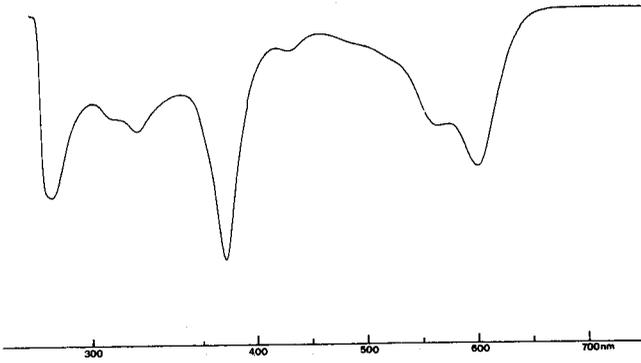


Abb. 50

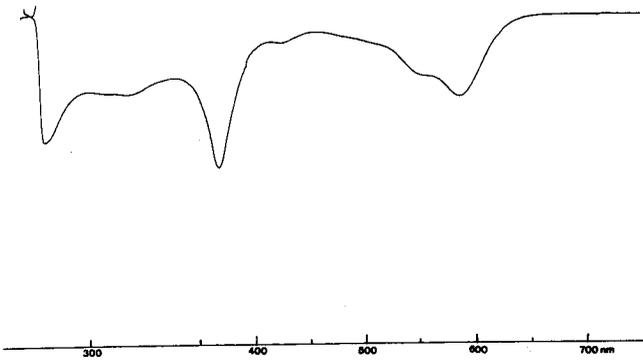


Abb. 51

C: monosubstituierte Produkte (nach LLC mindestens 6 Zonen, vgl. Abb. 52)
1,33 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/586) = 14'000$) 29,8%
UV: 586(0,54 max), 368(1,00 max)(vgl. Abb. 51)

Die beiden farblosen Zonen an der Front und am Start (erkennbar am Reflexionsverhalten) stammen vermutlich aus dem Chlormethyl-benzyl-äther (Modellchromatogramm)

III 3.1.2. Nachalkylierung der monosubstituierten Produkte

Die monosubstituierten Produkte wurden als Gemisch nochmals alkyliert: Die 1,33 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/586) = 14'000$) des obigen Ansatzes wurden unter den identischen Bedingungen (inkl. Lösungsmittel- und Reagenismengen) mit Chlormethyl-benzyl-äther umgesetzt. Das Plattenchromatogramm nach Aufarbeitung zeigte qualitativ das gleiche Bild wie oben. Das Silicagel der entsprechenden Zonen wurde wieder mit $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1:9) extrahiert und die Anteile der drei Fraktionen nach Einengen der Filtrate am Rotovap UV-spektroskopisch bestimmt.

A: Zonen mit grösserem R_f als Hauptprodukt:
0,058 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/600) = 17'000$) 4,4%

B: Disubstitutionsprodukt (14):
0,390 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/601) = 17'000$) 29,3%

C: monosubstituierte Produkte:
0,478 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/587) = 14'000$) 36,0%

Gesamthft ergeben sich aus beiden Ansätzen zusammen folgende Ausbeuten:
Disubstitutionsprodukt (14) ($R_f = 0,36$ (1,45)) : 2,47 $\mu\text{Mol} = \underline{55,5\%}$
Zonen mit grösserem R_f ($R_f = 0,49$ (1,97)) : 0,31 $\mu\text{Mol} = \underline{7,0\%}$
verbliebene monosubstituierte Produkte ($R_f=0,23$ (0,95)) : 0,48 $\mu\text{Mol} = \underline{10,7\%}$
(Edukt (6): $R_f = 0,17$ (0,70))

Während die beiden ersten Produkte nach UV und DC mit denjenigen des primären Alkylierungsansatzes praktisch identisch waren, wies das UV der verbliebenen monosubstituierten Produkte ein kleineres γ/α -Verhältnis auf (1,58 gegenüber 1,85). Auch die beiden LLC wiesen schon rein qualitativ bedeutende Unterschiede in der Zonenverteilung auf, wie Abb. 52 zeigt *71.

vor Nachalkylierung

nach Nachalkylierung

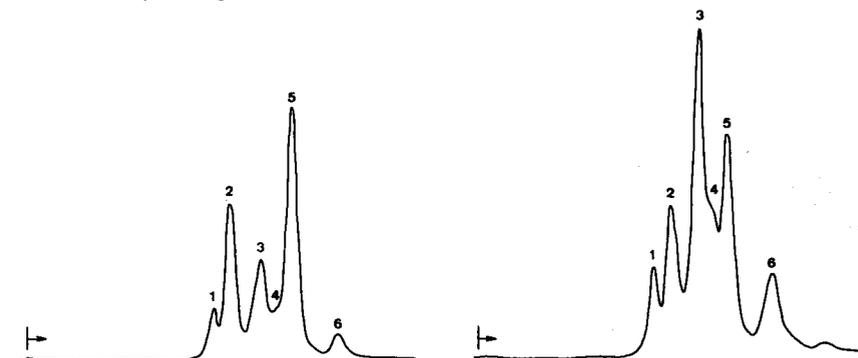


Abb. 52

Die Zonen 1 - 6 in Abb. 52 entsprechen sich bez. der Retentionszeit. Dies ist aber nur wenig signifikant, da z.B. die Zone 3 aus mindestens vier Produkten besteht (vgl. S. 163).

Wie aus der Abb. 52 und der Anmerkung 71 ersichtlich ist, wird anscheinend vor allem Zone 5 zu (14) nachalkyliert. Wie später gezeigt wurde, handelt es sich dabei vorwiegend um das 15-nor-5-Phenylthiomethyl-cobester-c-lactonf-nitril (15). Die Auftrennung und Charakterisierung des Gemisches der monosubstituierten Produkte ist auf S. 162) beschrieben.

*71) In einem Nachalkylierungsversuch eines andern Ansatzes wurde die Zonenverteilung im LLC der monosubstituierten Produkte sowohl vor wie nach der Nachalkylierung bestimmt (Annahme: $\epsilon(\lambda_{\max}/C_6H_6) = 14'000$ für alle Produkte).

vor Nachalkylierung

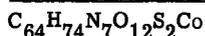
nach Nachalkylierung

Zone 1:	5,4%	8,3%
2:	11,6%	14,8%
3:	13,0%	25,0%
4:	4,1%	12,8%
5:	61,7%	26,7%
6:	4,2%	12,4%
	<hr/>	<hr/>
	100,0%	100,0%

III 3.1.3. Charakterisierung der epimeren 5,15-Di-phenylthiomethyl-cobester-c-lacton-f-nitrile (14)

Das Hauptproduktmaterial aus 6 analogen Ansätzen (ohne Nachalkylierung, Ausbeuten zwischen 37 und 47%) wurde zusammengekommen (12,0 μ Mol) und auf einer Dickschichtplatte (vgl. S.49) rechromatographiert. Das Silicagel der Hauptzone wurde mit Methanol/Methylenchlorid (1:9) extrahiert und das Filtrat am Rotovap vollständig eingeeengt. Darauf wurde in ca. 7 ml Methylenchlorid aufgenommen und zweimal mit gesättigter KCl/0,1% KCN-Lsg. ausgeschüttelt. Nach Filtration der organischen Phasen durch Watte wurde das Filtrat am Rotovap vollständig eingeeengt und der Rückstand während 10 h am HV bei RT getrocknet (11,8 μ Mol (ϵ (C₆H₆/601)=17'000), entspricht 14,8 mg):

C-13-Epimerengemisch von (14):



MG 1255

UV (C₆H₆) 18,4 mg (Ballast !) gelöst in 20 ml, davon 1 ml auf 20 ml verdünnt
(Abb. 53) 600(14'200 max), 574(10'400 min), 564(10'600 max), 520(4'700 sh), 485(3'200 sh), 456(2'300 min), 429(3'800 max), 418(3'500 min), 373(22'100 max), 340(6'800 min), 321(10'000 max), 311(9'000 sh), 301(7'600 min), 280(17'200 max).

$$\gamma/\alpha = 1,55$$

Diese ϵ -Werte liegen ca. 15% unter denjenigen, die man anhand der aufgetrennten Isomere ($\alpha.\alpha$ kristallin) erwarten würde (vgl. S.154). Ein solcher Unterschied wurde für nicht kristalline Proben normalerweise beobachtet.

IR (CHCl₃) 2250 w (CN), 2123 w (CoCN), 1797 m (Lacton), 1735 s (COOCH₃), 1685 w (unbekannte Verunreinigung, HCN-Abkömmling ?), 1588 m/ 1555 w/ 1508 m breit (Chromophor).
(Abb. 54)

NMR (CDCl₃) vgl. die beiden Spektren der reinen Isomere S.154.
(Abb. 55) Aus der fünfmaligen Integration der bei verschiedener chemischer Verschiebung erscheinenden Signale für die C-10-Protonen (5,81 ppm für $\alpha.\alpha$, 5,74 für $\alpha.\beta$) ergibt sich ein Isomerenverhältnis $\alpha.\alpha/\alpha.\beta$ von 45:55.
(Intensives singlettoides Signal bei 1,46 ppm vermutlich Ballastverunreinigung)

DC R_f = 0,36 (1,45)

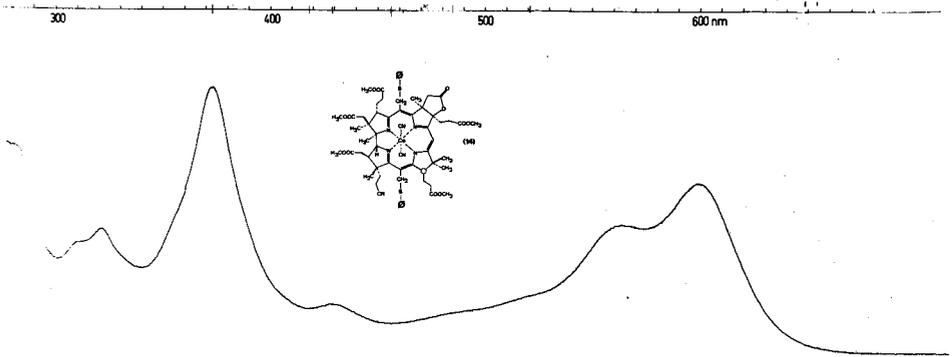


Abb. 53

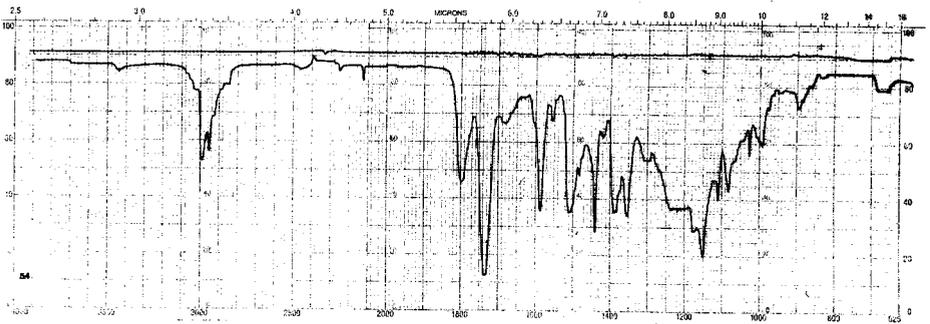


Abb. 54

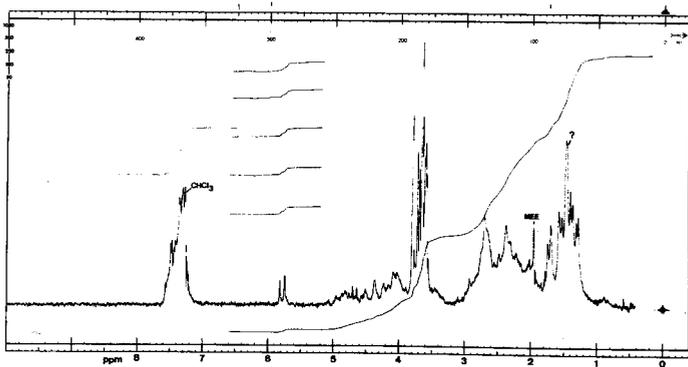


Abb. 55

Auftrennung in die beiden Isomere *72

Das oben beschriebene Isomerengemisch (11,8 μMol) wurde auf 9 Dünnschichtplatten (vgl. S.49) durch Entwickeln mit 2% Methanol/Methylchlorid (+ 0,01% HCN) getrennt. Dabei wurden zwei einheitliche Zonen ($\alpha.\beta$: $R_f = 0,26$, $\alpha.\alpha$: $R_f = 0,20$) erhalten; diese wurden je mit Methanol/Methylenchlorid (1:9) extrahiert und die Filtrate am Rotovap eingeeengt. In Methylenchlorid aufgenommen, wurden beide Proben zweimal gegen gesättigte KCl/0,01% KCN-Lsg. ausgeschüttelt. Nach Filtration der organischen Phasen durch Watte, wurden die Filtrate am Rotovap bis zur Trockene eingeeengt und die Rückstände während 48 h am HV bei RT getrocknet. Beide Proben wurden mit möglichst wenig Methanol in einen neuen Kolben transferiert *54, die Filtrate mit der gleichen Menge Benzol versetzt und das Lsm. am Rotovap vollständig entfernt. Die Rückstände wurden am HV während 30 min bei RT getrocknet und anschliessend ihre Anteile UV-spektroskopisch bestimmt:

$\alpha.\beta$ - (14)	$R_f = 0,26$	5,84 μMol	($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/602) = 16'000$ *73)	49,5%	90%
$\alpha.\alpha$ - (14)	$R_f = 0,20$	4,78 μMol	($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/600) = 18'000$)	40,5%	'Recovery'

Kristallisation des $\alpha.\alpha$ -Isomeren

Die 4,78 μMol des $\alpha.\alpha$ -Isomeren von (14) wurden in 2 ml CCl_4 *74 gelöst und die Lsg. mit 0,3 ml Hexan *28 versetzt. Die Kristallisation setzte spontan ein, und nach ca. 30 min, nachdem schon der grösste Teil auskristallisiert war, wurden nochmals 0,5 ml Hexan zugegeben. Nach 12 h wurde die Mutterlauge abpipettiert (0,333 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/598) = 18'000$)) und die Kristalle (rotviolette Nadeln) während 10 min am HV bei RT getrocknet. Zur Umkristallisation wurden die Kristalle in Chloroform gelöst und unter Filtration durch Watte in einen neuen Kolben transferiert. Zuerst wurde das Lsm. am Rotovap entfernt, dann wurden 1 ml Chloroform und 6 ml Hexan *28 zugegeben, worauf langsam rotviolette, rosettenartig angeordnete, kubische Kristalle anfielen. Ohne weitere Hexanzugabe wurde die Mutterlauge praktisch farblos. Nach 12 h wurde die Mutterlauge abpipettiert (0,259 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/599) = 18'000$)) und die Kristalle während 12 h am HV bei RT (0,01 Torr) getrocknet. Diese Probe gelangte anschliessend zur Charakterisierung.

-
- *72) Trennsystem von der Harvard-Gruppe ausgearbeitet und uns in verdankenswerter Weise mitgeteilt.
- *73) Der ϵ -Wert für das $\alpha.\alpha$ -Isomere konnte nach der nachfolgenden Kristallisation experimentell ermittelt werden. Aus dem NMR-Isomerenverhältnis (Vinylprotonen) konnte derjenige des $\alpha.\beta$ -Isomeren berechnet werden, unter der Annahme, dass beide Epimere gleich gut chromatographierbar sind.
- *74) Tetrachlorkohlenstoff, Merck p.a., vor Gebrauch durch bas. Alox I filtriert.

Das neo-Isomere (α, β - (14)) konnte in einem analogen Kristallisationsansatz innerhalb von 24 h nicht kristallisiert werden. Der Kristallisationsversuch wurde darauf abgebrochen, da in einem dreitägigen Kristallisationsversuch des Hexaester-Analogons (12) zu einem früheren Zeitpunkt ca. 50% des Materials zerstört worden war. Das neo-Isomere gelangte deshalb als Oel (5 h am HV bei RT getrocknet) zur Charakterisierung.

5, 15-Di-phenylthiomethyl-cobester-c-lacton-f-nitril- α, α (14) (kristallisiert)

$C_{64}H_{74}N_7O_{12}S_2Co$

MG 1255

UV (C_6H_6)
(Abb. 56)

396 γ gelöst in 10 ml
600(18'200 max), 577(12'200 min), 562(13'900 max),
521(5'900 sh), 490(3'150 sh), 455(1'750 min), 429(4'400 max),
418(3'650 min), 406(4'700 sh), 373(26'700 max), 359(15'200 sh),
339(7'650 min), 321(11'650 max), 313(10'050 min),
310(10'200 max), 300(8'300 min), 283(20'000 max).
 $\gamma/\alpha = 1,46$

zwei weitere Bestimmungen ergaben folgende ϵ -Werte:

510 γ in 10 ml: $\epsilon (C_6H_6/600) = 17'800$
333 γ in 10 ml: $\epsilon (C_6H_6/600) = 17'300$

IR ($CHCl_3$)
(Abb. 57)

2250 w (CN), 2122 w (CoCN), 1797 m (Lacton), 1735 s
($COOCH_3$), 1600 w, sh/ 1584 m/ 1553 w/ 1502 m breit
(Chromophor), ferner u. a. 1080 m.

NMR ($CDCl_3$)
(Abb. 58)

5 mg in 0,1 ml

	Bereich	Integral		
		T	E	E'
A*: m (teilweise verdeckt von $CHCl_3$)	7, 6-7, 2 ppm	10	9,4	9,5
A : H-C-10: 5,81 ppm		1	0,9	0,9
B : Ester: 3,79/ 3,69/ 3,65/ 3,60/ 3,57	4, 5-3, 0 ppm	22	22,4	22,0
C :	3, 0-1,9 ppm	23	22,9	22,5
D : Methyl: 1,74/ 1,56/ 1,52/ 1,45(2)/ 1,30	1, 9-1, 2 ppm	18	18,3	18,0
H_2O ? : 1,66 ppm (4 H)				

CD (CH_3OH /
0,02% HCN)
(Abb. 59)

$c = 4,37 \times 10^{-5}$ Mol/lit ($\epsilon (CH_3OH/593) = 16'000$) (PE 402)
593(+11,4), 572(+8,9), 556(+10,0), 523(+5,5 sh), 476(+2,2),
425(+13,5), 412(+12,2), 400(+15,8 sh), 388(+16,8), 372[0.0],
363(-11,6 sh), 348(-16,2), 325(-3,3), 314(-10,3), 310(-9,9),
304(-10,6) 288(-4,9), 279(-8,2), 265(-7,5), 252(-16,3)
235[0.0].

DC

$R_f = 0,36$ (1,45)

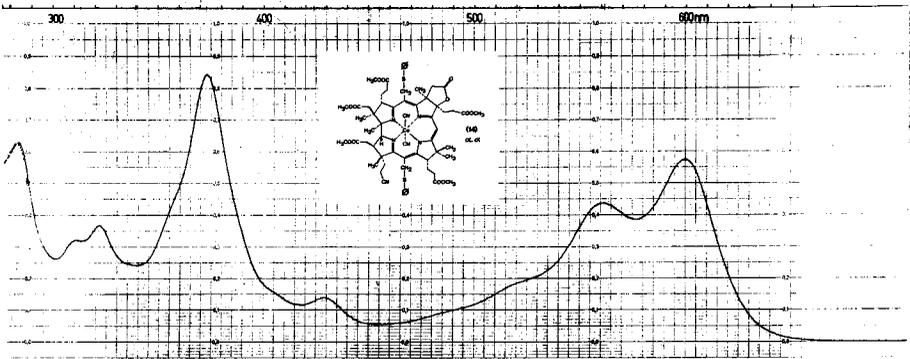


Abb. 56

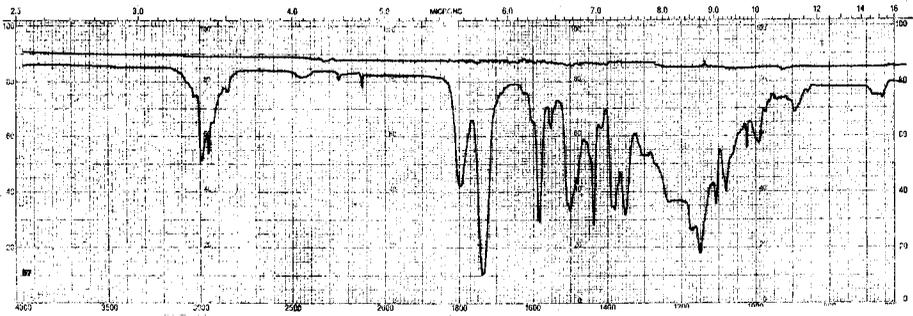


Abb. 57

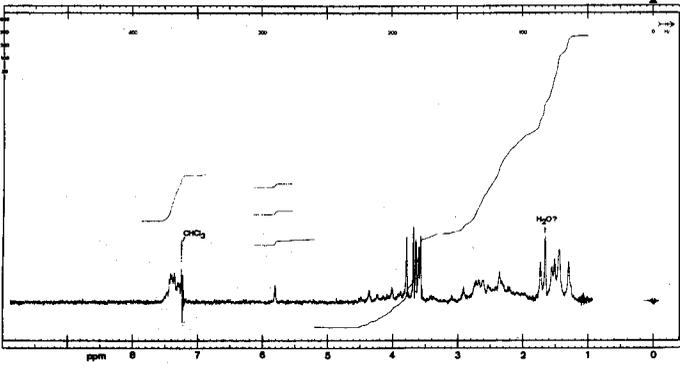


Abb. 58

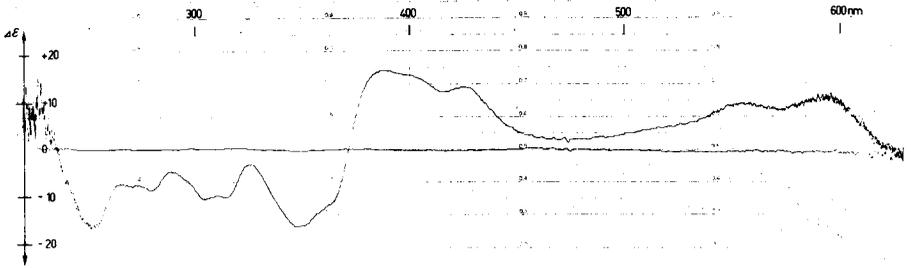
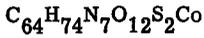


Abb. 59

5,15-Di-phenylthiomethyl-neo-cobester-c-lacton-f-nitril- $\alpha.\beta$ (14)
(nicht kristallisiert)



MG 1255

UV (C_6H_6)
(Abb. 60)

qualitativ

602(0,651 max), 570(0,483 sh), 493(0,166 sh), 457(0,120 min),
432(0,175 max), 419(0,162 min), 373(1,000 max),
355(0,522 sh), 341(0,335 min), 321(0,480 max), 311(0,430 sh),
301(0,366 min), 282(0,705 max),

$$\frac{\gamma}{\alpha} = 1,56$$

$$\epsilon(C_6H_6/602) = 16'000 \quad *73$$

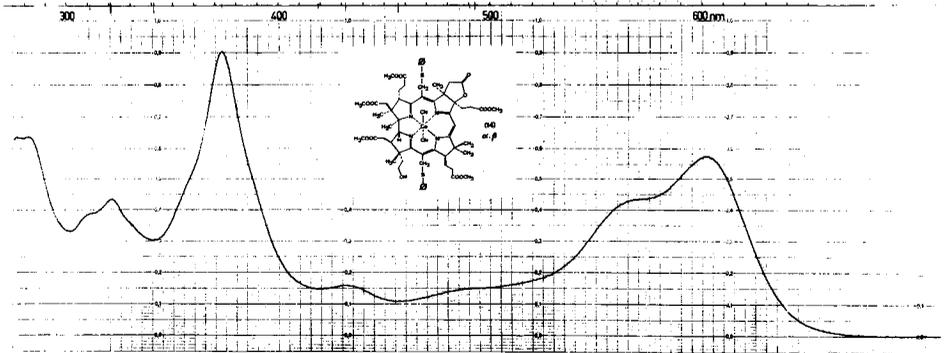


Abb. 60

IR (CHCl₃)
(Abb. 61)

2250 w (CN), 2122 w (CoCN), 1799 m (Lacton), 1735 s
(COOCH₃), 1690 w (Verunreinigung), 1605 w sh/ 1587 m/
1555 w/ 1509 m breit (Chromophor), ferner u. a. 1080 m.

NMR (CDCl₃)
(Abb. 62)

7 mg in 0,1 ml

	Bereich	Integral		
		T	E	E'
A*: m (teilweise verdeckt von CHCl ₃)	7,6-7,2 ppm	10	9,3	9,3
A : H-C-10: 5,74 ppm		1	0,7	0,7
B : Ester: 3,79/ 3,72/ 3,66/ 3,64/ 3,59	4,5-3,1 ppm	22	21,8	22,0
C : m	3,1-1,85 ppm	23	23,6	23,8
D : Methyl: 1,69/ 1,57/1,46/ 1,39/1,36/1,27	1,85-1,2 ppm	18	18,4	18,6
Verunreinigungen : 1,72/1,45 (ca. 4,3 H) ?				

CD (CH₃OH/
0,02% HCN)
(Abb. 63)

$c = 4,96 \times 10^{-5}$ Mol/lit (ϵ (CH₃OH/593) = 14'200, PE 402)
593(+28,1), 557(+20,0 sh), 490(+4,8), 439(+9,9), 403[0.0],
373(-25,6), 353(-9,0), 347(-9,1), 328(-7,0 sh), 318(-4,0),
302(-4,4), 284(0,0), 238(-19,9).

DC

R_f = 0,36 (1,45)

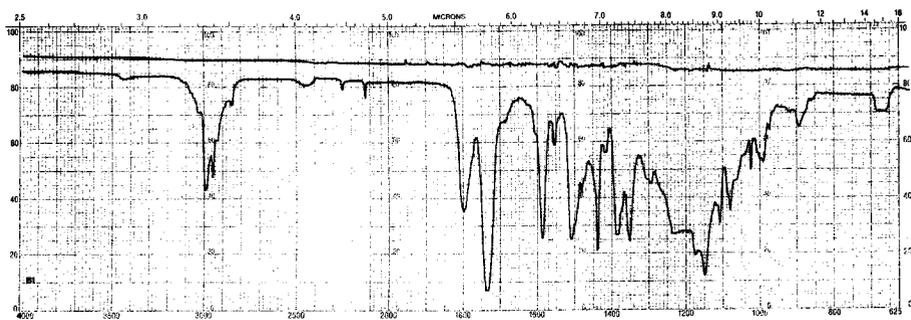


Abb. 61

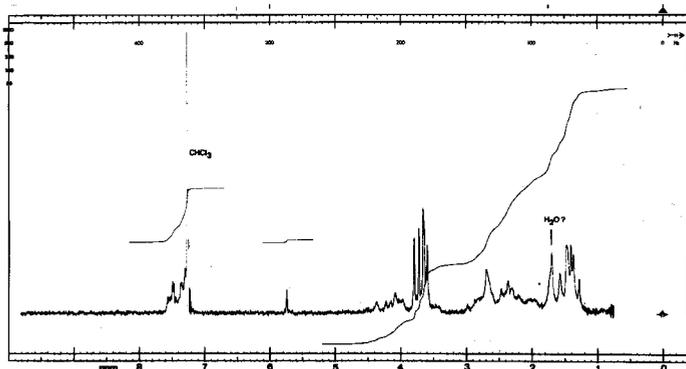


Abb. 62

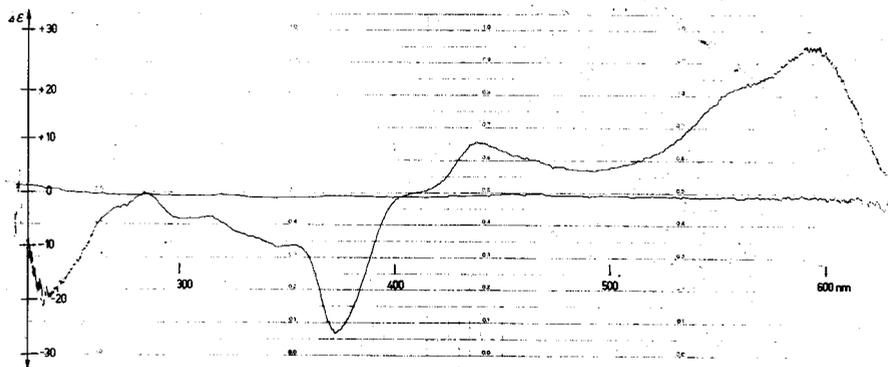


Abb. 63

In den beiden NMR-Spektren konnten erstmals die beiden Phenylthiomethylgruppen an C-5 und C-15 nachgewiesen werden:

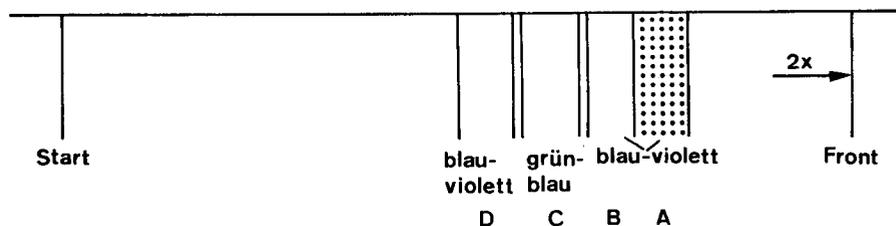
Multipllett zwischen 7,2 und 7,5 ppm (10 H entsprechend) für die Phenyl- H und die gegenüber den Spektren der durch Reduktion erhaltenen f-Nitrile intensiveren Signale zwischen 3,9 und 4,5 ppm für die Methylen-H.

Die verschiedenen Strukturierungen der beiden UV-Spektren gehen völlig parallel zu den Unterschieden nach der Reduktion. Beim neo-Isomeren erscheint die β -Bande nur als Schulter neben der breiteren α -Bande. Ebenso sind die ϵ -Werte im neo-Fall kleiner als im C-13- α -Isomeren. Auch die IR-Spektren zeigen wie nach der Reduktion keine signifikanten Unterschiede. Die CD-Spektren zeigen gegenüber den Spektren des Edukts und der f-Nitrile (9) einen andern Verlauf, indem der Teil oberhalb 470 nm invers ist, d. h. der Teil der durch die α -Bande im UV bestimmt wird, deren Polarisationsrichtung durch C-5 und C-15 verläuft.

Der Rest des Spektrums beim α,α -Isomeren ist sowohl im Vorzeichen, wie in der Rotationsstärke, mit demjenigen des Edukts vergleichbar.*75. Die Unterschiede des neo-(14) liegen einmal in der etwa 2,5 mal stärkeren Rotationsstärke um 590 nm und das praktische Fehlen der Bande bei ca. 400 nm. Diese Unterschiede sind analog zu denjenigen, die nach der Reduktion bei den f-Nitrilen gefunden werden (S.194). Die Erklärung für das inverse CD oberhalb 470 nm muss im Beitrag der beiden, allylisch zum Chromophor stehenden, Thiophenylgruppen liegen. Aus sterischen Gründen werden sie entweder nach oben oder nach unten gegenüber der Chromophorebene zeigen. An C-5 würde man vermuten, dass die Gruppe nach oben, an C-15 beim α,α -Isomeren wahrscheinlich auch nach oben, beim α,β -Isomeren aber möglicherweise nach unten steht. Dieser Unterschied könnte einen Grund liefern für die beobachtete grosse Differenz in den Rotationsstärken für den Uebergang bei ca. 590 nm mit der Polarisationsrichtung durch C-5 und C-15 (vgl. auch die leichte Trennbarkeit der C-13-Epimere). Die chromatographischen Eigenschaften, mit dem gegenüber dem Edukt bedeutend grösseren R_f -Wert, illustrieren die starke Vereinfachung für das präparative Arbeiten durch die beiden Phenylthiomethylgruppen, indem das Hauptprodukt (als C-13-Gemisch) durch einmaliges Chromatographieren auf Dickschichtplatten vom Edukt und wichtiger, von nur monosubstituierten Produkten abgetrennt werden konnte. Dass die beiden C-13-Epimere dann auch noch so leicht getrennt werden konnten, war nicht erwartet, wurde aber als Geschenk gerne angenommen.

III 3.1.4. Charakterisierung der Alkylierungsprodukte mit grösserem R_f -Wert als das Hauptprodukt

Die in Ausbeuten von 3 bis 7% anfallenden, im DC rasch laufenden Produktgemische der Alkylierung (vgl. S.149), wurden aus allen durchgeführten Versuchen in Acetonitril zusammengenommen (total ca. 1,6 μ Mol) und auf einer Dünnschichtplatte chromatographiert.



*75) Das CD-Spektrum des α,α -Isomeren des 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitrils(6) ist mit demjenigen des α,α -5,15-bis-nor-Cobester-c-lactons (3) (Abb. 15) praktisch identisch. (vgl. W. Schilling [38])

Das Silicagel der vier Zonen wurde mit 10% MeOH/Methylenchlorid extrahiert und die Anteile der vier Produkte UV-spektroskopisch bestimmt:

A:	0,883 μMol	(ϵ ($\text{C}_6\text{H}_6/601$) = 17'000)	57%	DC- R_f = 0,76
B:	0,234 μMol	(ϵ ($\text{C}_6\text{H}_6/601$) = 17'000)	15%	DC- R_f = 0,71
C:	0,196 μMol	(ϵ ($\text{C}_6\text{H}_6/602$) = 17'000)	13%	DC- R_f = 0,63
D:	0,232 μMol	(ϵ ($\text{C}_6\text{H}_6/598$) = 17'000)	15%	DC- R_f = 0,55
			100%	

Jede Zone wurde auf einer Dünnschichtplatte nochmals chromatographiert, das Silicagel der jeweiligen Hauptzone mit Methanol/Methylenchlorid (1:9) extrahiert und die Filtrate am Rotovap vollständig eingeeengt. Zone D erwies sich als identisch mit dem C-13-Gemisch von (14) (UV, DC) und wurde nicht mehr weiter verfolgt. Das Material der drei übrigen Zonen wurde vor Aufnahme der Spektren in Methylenchlorid zweimal gegen gesättigte KCl/0,1% KCN-Lsg. ausgeschüttelt. Nach Filtration der organischen Phasen durch Watte wurden die Filtrate am Rotovap vollständig eingeeengt und die Rückstände am HV während 12 h bei RT getrocknet.

Zone A: (5,15-Di-phenylthiomethyl-cobester-c-lacton-f-benzyliminoester ?)

UV (C_6H_6) qualitativ
 600(0,632 max), 575(0,487 min), 564(0,505 max), 455(0,103 min),
 430(0,175 max), 418(0,157 min), 373(1,00 max), 340(0,350 min),
 321(0,490 max), 311(0,440 sh), 301(0,384 min), 281(0,808 max).
 $\gamma/\alpha = 1,58$
 (Spektrum mit demjenigen in Abb. 53 praktisch identisch)

IR (CHCl_3) 3443 w (NH), (2250 sw CN), 2123 w (CoCN), 1796 m (Lacton)
 (Abb. 64) 1733 s (COOCH_3), 1662 m breit (=NH), 1586 m/1553 w/
 1508 m breit (Chromophor), 1438 m, 1380 m, 1350 m,
 1150 s, 1108 m, 1080 m, 1025 w, 990 w, 895 w, 670 w breit.

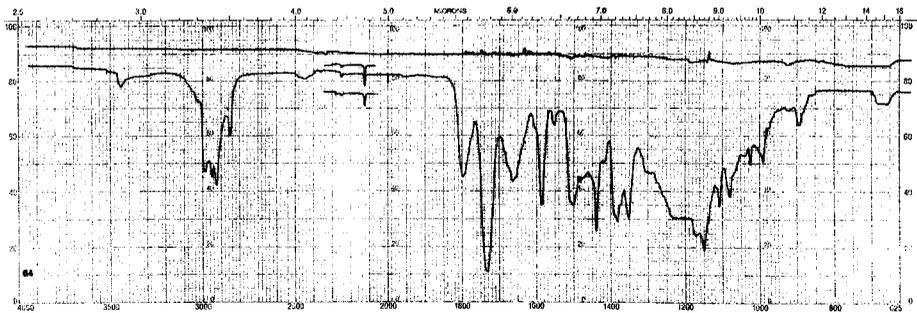


Abb. 64

Während das UV-Spektrum mit demjenigen des C-13-Gemisches von (14) praktisch identisch ist, weist das IR als einzig signifikante Unterschiede die zusätzlichen Banden bei 3440 w und 1664 m cm^{-1} auf (die sehr schwache Bande bei 2250 cm^{-1} wird der nicht vollständig abgetrennten Zone B zugeschrieben), während die Bande für die Nitrilgruppe der Seitenkette f zu fehlen scheint. Berücksichtigt man die Erfahrungen des Black Friday, so scheint die Annahme, dass es sich um einen Iminoester handeln könnte, nicht unwahrscheinlich; aus dem grossen R_f -Wert könnte es sich um den Benzyliminoester der f-Nitrilgruppe handeln. Aus den übrigen Daten (UV, IR-Chromophorbanden) handelt es sich um den 5,15-Di-phenylthiomethyl-komplex, d.h. dieser Komplex ist richtig substituiert, aber an der Seitenkette f verändert. Analytisch konnte diese Probe auf Silicagel im System 2% Methanol/Methylenchlorid (vgl. Auftrennung von (14) S.153) in zwei ungefähr gleich intensive Flecken aufgetrennt werden; neben dem UV ein weiterer Hinweis, dass auch in dieser Zone ein C-13-Gemisch vorliegt.

Zone B: ?

UV (C_8H_6) qualitativ, aufgenommen auf PE 402
601(0,65 max), 568(0,50 sh), 460(0,12 min), 430(0,18 max),
420(0,175 min), 374(1,000 max), 342(0,37 min), 322(0,50max),
311(0,45 sh), 302(0,39 min).
 $\gamma/\alpha = 1,54$

Ein IR-Spektrum wurde der geringen Menge wegen (ca. 180 μ) und der nicht vollständigen Abtrennung von der Zone A nicht aufgenommen. Aus dem Unterschied in den IR-Spektren der Zone A, die nach ein- und zweimaligem Chromatographieren aufgenommen worden waren (CN-Bande wird schwächer), kann angenommen werden, dass die Nitrilgruppe der Seitenkette f in der Zone B vorhanden ist. Das UV-Spektrum ist zu demjenigen des C-13-Epimerengemisches von (14) sehr ähnlich. Bei der Alkylierung des 5,15-bis-nor-Cobester-c-lactons (3) waren ebenfalls Zonen mit grösserem R_f und gleichem UV wie das Hauptprodukt festgestellt worden. Aus dieser Tatsache wird vermutet, dass in diesem Komplex die Methylestergruppe in irgend einer Seitenkette als Benzylester vorliegt.

Zone C: (5,10-Di-phenylthiomethyl-cobester-c-lacton-f-nitril ?)

UV (C_8H_6) qualitativ
(Abb. 65) 604(0,587 max, sehr breit), 572(0,462 sh), 492(0,156 sh),
463(0,125 min), 438(0,185 sh), 376(1,000 max), 343(0,391min),
321(0,498 max), 305(0,446 min), 282(0,783 sh).
 $\gamma/\alpha = 1,71$

IR (CHCl_3) aus dem mit nur 100 μ aufgenommenen Spektrum konnten folgende Hinweise gewonnen werden:
- Lacton vorhanden (1798 cm^{-1})
- die Chromophorbande bei 1586 cm^{-1} ist nur etwa halb so intensiv wie die nächste bei 1495 cm^{-1} , eine weitere Bande liegt bei 1480 cm^{-1} vor.

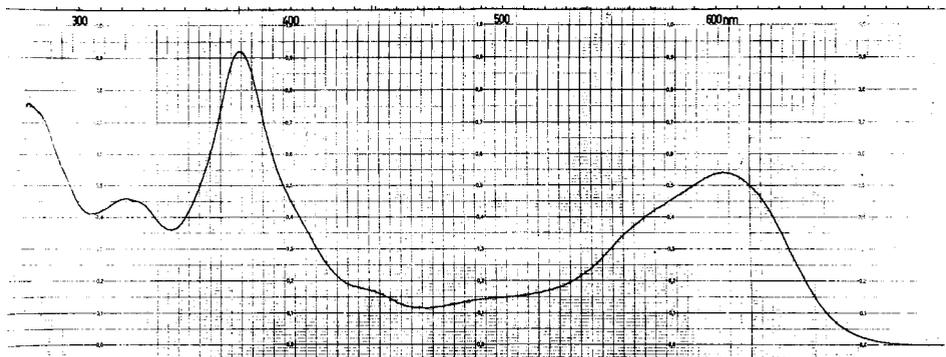


Abb. 65

In keinem andern Produkt erscheint die γ -Bande im UV bei so langer Wellenlänge (376 gegenüber normalerweise 373/374 nm), die α -Bande ist demgegenüber nur wenig zu bathochrom verschoben gegenüber (14). Der R_f -Wert lässt mit seiner Aehnlichkeit mit demjenigen des Hauptprodukts am ehesten auf einen disubstituierten Komplex schliessen. Vergleicht man diese Daten mit denjenigen des 10-Phenylthiomethyl-cobesters (8) und des 10-Methyl-cobesters (11) (S.93/95), so scheint die Möglichkeit zu bestehen, dass dieser Corrinkomplex an C-10 substituiert ist. Sofern nur disubstituiert (für einen 5,10,15-trisubstituierten Komplex würde man ein noch bathochromeres UV und einen grösseren R_f erwarten), ist aufgrund der Resultate bei den monosubstituierten Produkten am ehesten mit einem 5,10-disubstituierten Komplex zu rechnen. In keinem andern Produkt der Alkylierung wurden ähnliche Hinweise auf eine C-10-substituierte Verbindung gefunden. Bezüglich dem eingesetzten 5,15-bis-nor-Lacton-f-nitril (6) beträgt die Ausbeute an diesem Produkt ca. 0,5%.

III 3.1.5. Charakterisierung der monosubstituierten Alkylierungsprodukte

Um genügend Material für eine Auftrennung zur Verfügung zu haben, musste alles Material, dieser durch Dickschichtchromatographie erhaltenen Zone, zusammengenommen werden, das durch Alkylierung in Acetonitril mit und ohne Lithiumchlorid erhalten worden war (S.126 u. 146). Vorher war durch LLC und UV geprüft worden, dass in beiden Fällen die gleichen Produktgemische gebildet worden waren. Die Zonenverteilung war aber nicht immer die gleiche, sie wechselte vor allem danach, wie weit die Alkylierung getrieben worden war (vgl. Abb. 52 und Zonenverteilung im LLC vor und nach Nachalkylierung S. 150). Ein typisches LLC mit einer durchschnittlichen Zonenverteilung ist in der Abb. 66 dargestellt.

(S I, Kol. A, 90 ml/h)

Zonenverteilung

Zone 1:	8%
2:	12%
3:	17%
4:	11%
5:	45%
6:	7%
<hr/>	
	100%

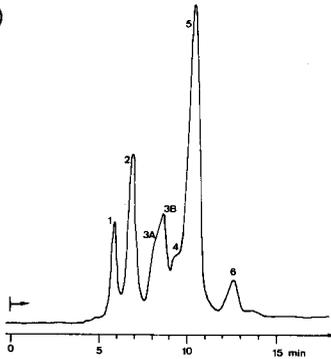
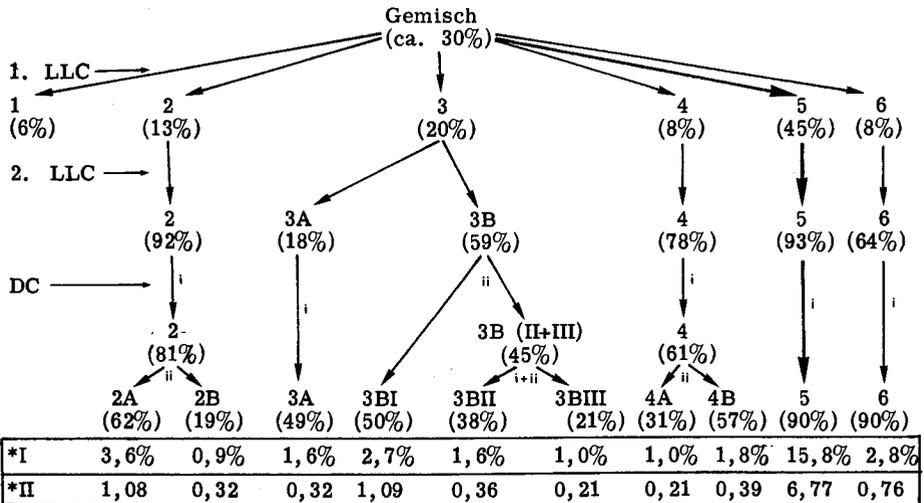


Abb. 66

Das gepoolte Material (ca. 20 mg), höchstens ca. 6% davon stammten aus Nachalkylierungsansätzen, wurde mit der flüssig-flüssig Verteilungschromatographie (S I, Kol. A, 90 ml/h) aufgetrennt, jede einzelne Zone (2-6) nochmals mit LLC gereinigt und anschliessend solange dünnschichtchromatographiert, bis die einzelnen Produkte im normalen Fließmittelsystem und im System 2% MeOH/CH₂Cl₂ einheitlich waren. Der Gang der Trennung ist im folgenden Schema dargestellt.



i = DC im System Hexan: Isopropanol:Methanol = 5:2:1 (0,01% HCN)

ii = DC im System 2% Methanol/Methenchlorid (0,01% HCN)

*I: mittlere Ausbeute bezüglich (6) (geschätzt)

*II: erhaltene Menge in µMol

In der obersten Reihe beziehen sich die Prozentzahlen auf die Zonenverteilung beim ersten LLC (Summe = 100%), alle folgenden Prozentzahlen auf den gerade vorausgegangenen Trennungsschritt. Für alle Produkte wurde mit dem hypothetischen ϵ -Wert von 14'000 für λ_{\max} in Benzol gerechnet.

Wie aus den Prozentzahlen ersichtlich ist, wurde bei jeder Trennoperation nur die jeweilige Hauptzone weiter verfolgt. LLC-Zone 1 nahm eine Sonderstellung ein, indem schon bei der ersten Trennung erkannt worden war, dass es sich um ein C-13-Gemisch von (14) handelte (LLC, UV), das durch die Dickschichtchromatographie nicht vollständig abgetrennt worden war. Eine weitere Charakterisierung erübrigte sich daher. Jede Zone wurde nach dem letzten Chromatogramm in Methylenchlorid aufgenommen und die Lsg. zweimal mit gesättigter KCl/0,1% KCN-Lsg. gewaschen. Die organischen Phasen wurden durch Watte filtriert und am Rotovap vollständig eingengt. Nach dem Trocknen am HV während 2 h wurde der Rückstand mit möglichst wenig Methanol *54 transferiert und das Filtrat nach Zugabe der gleichen Menge Benzol eingedampft. Nach dem Trocknen während 1 h am HV wurde nochmals unter Filtration mit Watte mit Chloroform transferiert und nach dem erneuten Einengen am Rotovap über Nacht am HV bei RT getrocknet; anschliessend wurden die UV und IR-Spektren aufgenommen. Neben den Spektren der reinen Zonen wurden auch die Spektren der Zonen 2 (2A + 2B) und 4 (4A + 4B) aufgenommen, da die letzte Trennung anscheinend die Separation von C-13-Epimeren bewirkte.

Zone 5: Hauptanteil der monosubstituierten Alkylierungsprodukte:

15-nor-5-Phenylthiomethyl-cobester-c-lacton-f-nitril- $\alpha,\alpha/\alpha,\beta$ (15)

C₅₇H₆₈N₇O₁₂S Co

MG 1133

UV (C₆H₆)
(Abb. 67)

qualitativ
584(0,545 max), 560(0,367 min), 548(0,383 max), 509(0,172sh),
481(0,122 sh), 451(0,079 min), 422(0,163 max), 410(0,134 min),
367(1,000 max), 354(0,553 sh), 336(0,316 min), 315(0,414 max),
306(0,373 sh), 296(0,324 min), 280(0,615 max).
 $\gamma/\alpha = 1,83$

IR (CHCl₃)
(Abb. 68)

2255 w (CN), 2130 w (CoCN), 1799 m (Lacton), 1735 s
(COOCH₃), 1602 m/ 1573 w/ 1518 m (breit) (Chromophor),
ferner u.a. 1087 m.

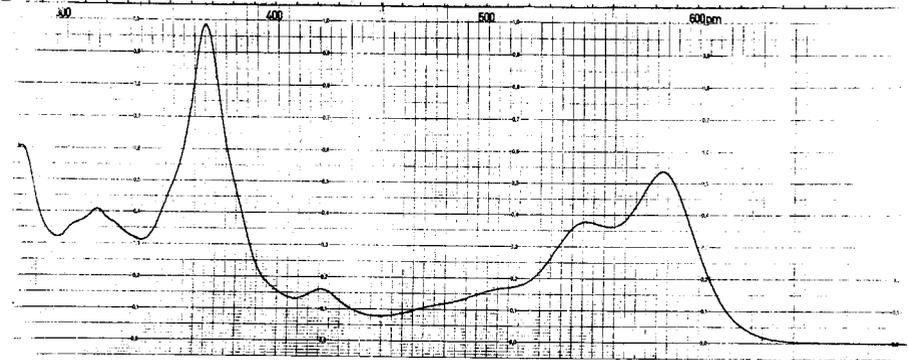


Abb. 67

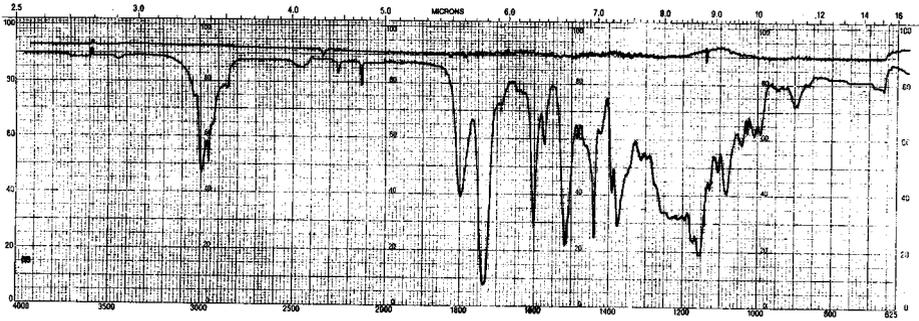


Abb. 68

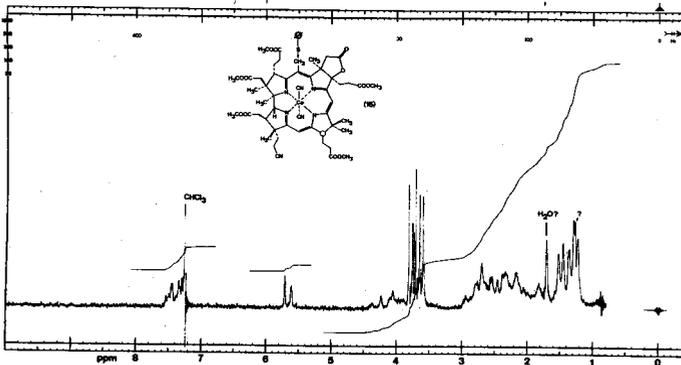


Abb. 69

NMR (CDCl ₃) (Abb. 69)	ca. 8 mg in 0,1 ml	Integral			
		Bereich	T	E	E'
A*: m (teilweise verdeckt durch CHCl ₃)		7,6-7,2 ppm	5	4,5	5,0
A : H-C-10: 5,72 ppm H-C-15: 5,62 ppm (ca. doppelt so breit wie Signal bei 5,72 ppm)		5,8-5,5 ppm	2	1,6	1,8
B : Ester: 3,81/3,76(ca. 0,5)/ 3,74(ca. 0,5)/3,71/ 3,65/ 3,60		4,5-3,1 ppm	20	18,0	20,0
C : m		3,1-1,9 ppm	23	22,9	25,5
D : Methyl: Signale bei *41 1,71/1,53/1,46/ 1,37/1,29/1,27/1,23		1,9-1,2 ppm	18	21,1	23,5
H ₂ O: 1,71 ppm ?					

LLC (S I, Kol. A, 90 ml/h): R_t = 9,5 min (2'250, k' = 1,1)
 Cobester : R_t = 6,0 min (2'700, k' = 0,33)
 Cobester-c-lacton: R_t = 9,1 min (3'000, k' = 1,02)

DC R_f = 0,385 (0,90)
 im System 2% MeOH/CH₂Cl₂ : R_f = 0,24 (1,30)

Dass es sich um den an C-5 monosubstituierten Komplex handelt, kann aus den folgenden Daten geschlossen werden:

-NMR: Das Multipllett zwischen 7,2 und 7,5 ppm entspricht einer Phenylgruppe pro Molekül. Das Signal bei 5,62 ppm für ein Vinyl-H ist gegenüber demjenigen bei 5,72 ppm nur halb so hoch, aber dafür breiter; ein ähnlich breites Signal wird in den C-13-Gemischen von (4) beobachtet und konnte dort von W. Fuhrer [35] eindeutig dem H-C-15 zugeordnet werden. Die beiden ungefähr 'halben' Estersignale bei 3,74 und 3,76 ppm zeigen an, dass ungefähr ein 1:1-Gemisch der beiden C-13-Epimere vorliegt.

-UV: Die bathochrome Verschiebung der α -Bande gegenüber dem Edukt beträgt 9 nm, d.h. die folgende Alkylierung an C-15 zu (14) ergibt eine Verschiebung um ca. 17 nm. Bei der Alkylierung des β . α/β . β -Lacton-Isomerenpaars von (6) wird vorwiegend ein C-15-monosubstituiertes Produkt gefunden mit einer bathochromen Verschiebung von 18 nm (vgl. S. 174).

-Das Massenspektrum des 15-nor-Cobester-f-nitrils (17), das durch Zinkamalgam-Reduktion der Zone 5 erhalten wurde, zeigt den erwarteten Basepeak (m/e = 915 = M⁺ - 2CN - CH₃COOCH₃) (vgl. S. 198 und dort die anschließende Diskussion der Zuordnungen der nor-Cobester-f-nitrile.

Die Auftrennung der übrigen Zonen war vor allem deshalb so weit getrieben worden, weil versucht wurde, den an C-15 monosubstituierten Komplex auch noch zu isolieren. Dieser sollte folgende Eigenschaften besitzen:

- Dadurch, dass (15) in so viel grösserem Ausmass gefunden wird (d.h. die Alkylierung an C-5 erfolgt leichter), sollte der entsprechende C-15-substituierte Komplex (16) nach der Nachalkylierung kaum mehr gefunden werden.

- Die bathochrome Verschiebung im UV gegenüber (6) sollte ca. 17 nm betragen, d.h. λ_{\max} um 592 nm.
- Der Unterschied der Chromophorbanden im IR der C-3- β -Isomere gegenüber den C-3- α -Komplexen bei (4) ist äusserst gering [35]. Man würde erwarten (vergleiche auch die identischen Chromophorbanden aller C-13-Isomerenpaare), dass der gesuchte Komplex die gleichen Chromophorbanden wie das monosubstituierte Produkt aus dem β - α/β - β -(6) zeigen würde, die gegenüber denjenigen von (15) eindeutig verschieden sind. (vgl. S. 57).
- (15) konnte nicht in die beiden C-13-Epimere aufgetrennt werden, (14) war trennbar, ebenso das monosubstituierte Produkt aus dem C-3- β -Isomeren von (6). Man würde erwarten, dass (16) demnach ebenfalls trennbar ist. Allen diesen Forderungen entsprachen die Zone 3A für das C-13- α -Isomere und die Zone 3BII für das C-13- β -Isomere von (16).

Zone 3A: 5-nor-15-Phenylthiomethyl-cobester-c-lacton-f-nitril (α . α - (16))

$C_{57}H_{68}N_7O_{12}S$ Co

MG 1133

UV (C_6H_6) qualitativ
 (Abb. 70) 592(0,574 max), 568(0,430 min), 556(0,454 max), 454(0,089min),
 427(0,183 max), 416(0,160 min), 369(1,000 mx), 338(0,374min),
 318(0,445 max), 298(0,362 min), 281(0,695 max).
 $\gamma/\alpha = 1,74$

IR ($CHCl_3$) aufgenommen mit ca. 350 γ
 2250 w (CN), 2123 (CoCN) δ , 1797 m (Lacton), 1735 s (COOCH₃),
 1648 w/ 1590 m/ 1553 \overline{m} / 1522 m(Chromophor), 1485 m,
 1438 m, 1375 m, 1354 m, 1168 s, 1140 m, 1113m, 1075 m,
 990 w.
 (sehr ähnliches IR wie in Abb. 72)

LLC (S I, Kol. A, 90 ml/h): $R_f = 7,6$ min (1'900, $k' = 0,7$)
 (15) : $R_f = 9,5$ min (2'250, $k' = 1,1$)

DC $R_f = 0,39$ (0,91)
 im System 2% MeOH/ CH_2Cl_2 $R_f = 0,28$ (1,50)

Zone 3BII: 5-nor-15-Phenylthiomethyl-neo-cobester-c-lacton-f-nitril (α . β (16))

$C_{57}H_{68}N_7O_{12}S$ Co

MG 1133

UV (C_6H_6) qualitativ
 (Abb. 71) 595(0,540 max), 570(0,399 min), 561(0,405 max), 486(0,149 sh),
 456(0,116 min), 431(0,179 max), 416(0,155 min), 369(1,000max),
 339(0,370 min), 325(0,441 max), 321(0,435 min), 318(0,438max),
 299(0,362 min), 282(0,622 max).
 $\gamma/\alpha = 1,86$
 (vgl. auch die neo-Struktur gegenüber dem UV in Abb. 70
 (α . α -(16))

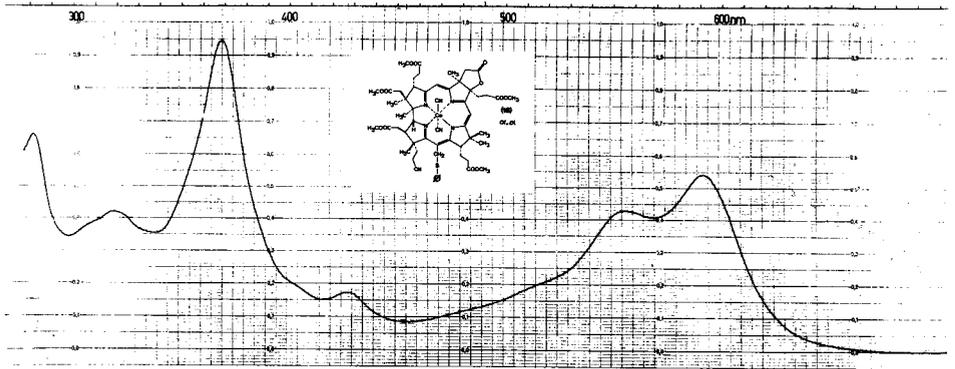


Abb. 70

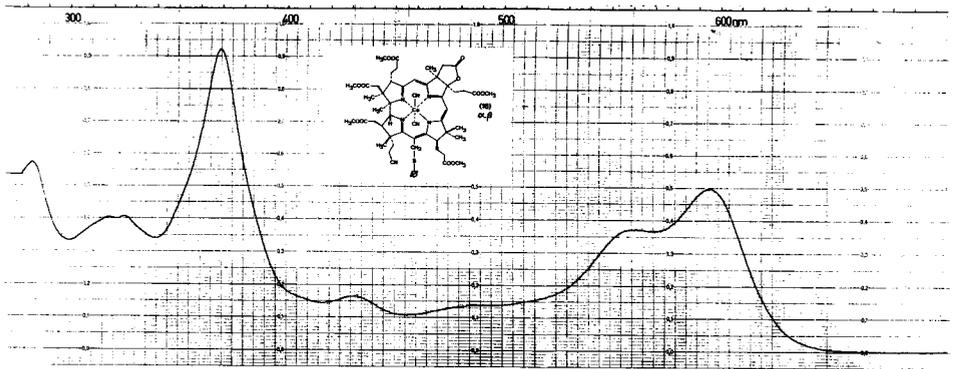


Abb. 71

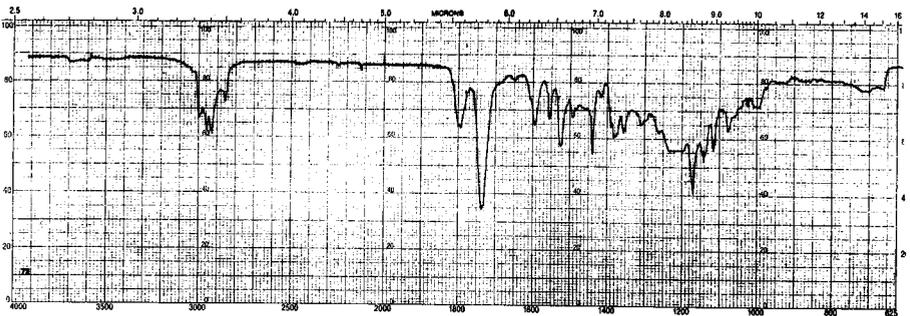


Abb. 72

IR (CHCl₃) aufgenommen mit ca. 350 γ
(Abb. 72) 2250 w (CN), 2123 (CoCN), 1796 m (Lacton), 1735 s(COOCH₃),
1650 w/ 1595 m/ 1555 \overline{m} / 1525 m (Chromophor), 1492 m,
1439 m, 1380 m, 1355 m, 1170 s, 1140 m, 1115 m, 1077 m,
1000 w.

DC $R_f = 0,38$ (0,88)
im System 2% MeOH/CH₂Cl₂ $R_f = 0,30$ (1,60)

Wegen der geringen Menge des vorhandenen Materials (je ca. 350 γ), konnten keine NMR-Spektren aufgenommen werden, die angegebenen Zuordnungen müssen deshalb als provisorisch betrachtet werden (vgl. die spektroskopischen Daten der durch Zinkamalga-Reduktion erhaltenen 5-nor-Cobester-f-nitrile (S. 198)).

Von den übrigen Zonen, die bei der Nachalkylierung alle mit grösseren Anteilen auftreten und deshalb als eigentliche Nebenprodukte betrachtet werden müssen, reichten die vorhandenen Daten nicht für eine Konstitutionszuordnung aus. Zu den UV- und IR-Spektren können deshalb nur einige Hinweise angegeben werden.

Zone 2: Isomerenpaar

UV (C₆H₆) qualitativ
589(0,619 max), 563(0,437 min), 554(0,442 max), 451(0,104min),
424(0,162 max), 412(0,147 min), 369(1,000 max), 338(0,320min),
318(0,459 max), 308(0,409 sh), 298(0,350 min), 280(0,670max),
 $\gamma/\alpha = 1,62$

IR (CHCl₃) 3440 w (NH ?) (keine Bande bei 2250 cm⁻¹), 2120 w (CoCN),
1795 m (Lacton), 1733 s (COOCH₃), 1655 m (=NH ?),
1590 m/ 1566 w/ 1510 m (Chromophor), 1437 m, 1390 m,
1347 m, 1170 m, 1147 s, 1105 m, 1078 m, 1040 w, 1022 w,
1010 w, 995 w, 940 w, 895 w, 675 w breit.

LLC (S I, Kol. A, 90 ml/h): $R_t = 6,6$ min (2'000, $k' = 0,48$)
(15) : $R_t = 9,5$ min (2'250, $k' = 1,10$)

DC $R_f = 0,32$ (0,75)

Zone 2A: C-13- β -isomer (Aufgrund der Neo-Struktur des UV-Spektrums)

UV (C₆H₆) qualitativ
 590(0,610 max), 562(0,432 min), 556(0,434 max), 451(0,110 min),
 426(0,164 max), 413(0,145 min), 369(1,000 max), 338(0,327min),
 318(0,468 max), 308(0,420 sh), 298(0,360 min), 279(0,670max).
 $\gamma/\alpha = 1,64$

DC im System 2% MeOH/CH₂Cl₂ R_f = 0,19 (1,04)

Zone 2B: C-13- α -isomer (Aufgrund der Normal-Struktur des UV-Spektrums)

UV (C₆H₆) qualitativ
 587(0,624 max), 564(0,436 min), 550(0,482 max), 513(0,237 sh),
 449(0,093 min), 422(0,164 max), 411(0,145 min), 368(1,000max),
 337(0,340 min), 317(0,482 max), 310(0,428 min), 307(0,432max),
 298(0,368 min), 279(0,730 max).
 $\gamma/\alpha = 1,60$

DC im System 2% MeOH/CH₂Cl₂ R_f = 0,16 (0,86)

Die IR-Spektren der beiden getrennten C-13-Isomere sind untereinander und zum Spektrum des Gemisches praktisch identisch. Die Chromophorbanden entsprechen denjenigen von (14), d.h. einem 5,15-disubstituierten Komplex. Die Bande für die Nitrilgruppe der Seitenkette f fehlt, wie in der Zone A der Nebenprodukte mit grösserem R_f-Wert als das Hauptprodukt (S.160) findet man dafür eine schwache Bande bei 3440 cm⁻¹ und eine im Vergleich zum Lacton ungefähr gleich intensive Bande bei 1655 cm⁻¹. Es könnte sich demnach um einen Iminoester handeln. Die Art dieses Iminoesters sowie die Substituenten an C-5 und C-15 sind unbekannt.

Zone 3BI:

UV (C₆H₆) qualitativ
 (Abb. 73) 580(1,000 max), 548(0,520 min), 541(0,535 max), 507(0,312 sh),
 455(0,115 min), 429(0,260 max), 416(0,225 min), 374(0,361 sh!),
 355(0,633 max), 342(0,509 min), 338(0,516 max), 328(0,460min),
 324(0,465 max), 313(0,406 min), 299(0,550 sh).

IR (CHCl₃) 2250 w (CN), 2122 w (CoCN), 1796 m (Lacton), 1734 s
 (COOCH₃), 1720 sh (?), 1618 w/ 1595 m/ 1524 m/ 1508 m
 (Chromophor), 1437 m, 1373 m, 1305 w, 1267 m, 1245 m,
 1167 m, 1154 s, 1108 m, 1080 w, 1052 w, 1022 w, 1005 w,
 988 w, 970 w.

DC R_f = 0,40 (0,94)
 im System 2% MeOH/CH₂Cl₂ R_f = 0,39 (2,12)

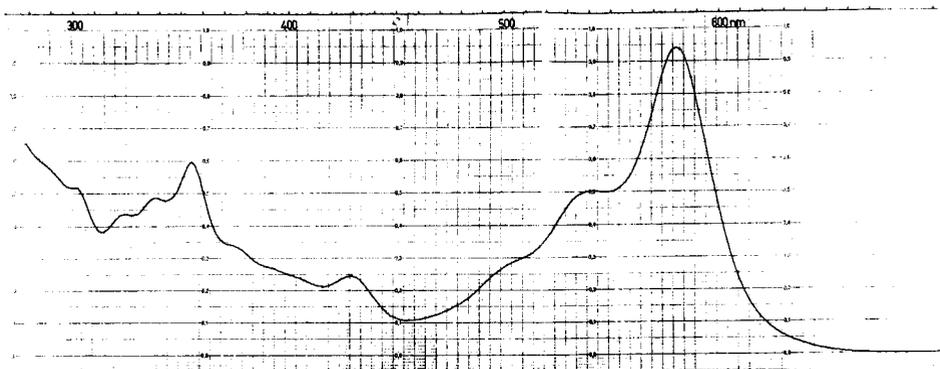


Abb. 73

Dieses Produkt, mit einem gegenüber allen übrigen Co-III-Corrinkomplexen stark verschiedenen UV-Spektrum, stellt den Hauptanteil der Zone 3, in den Nachalkylierungsversuchen handelt es sich sogar um den Hauptanteil der mono-substituierten Produkte (vgl. Abb. 52). Im UV-Spektrum fehlt die γ -Bande praktisch vollständig (nur Schulter bei 374 nm), d.h. der Uebergang, dessen Polarisationsrichtung entlang der C_2 -Achse durch C-10 verläuft, scheint verboten zu sein. Die Strukturierung des VIS-Teils des Spektrums ist demgegenüber völlig normal, die relativen Intensitäten der α , β und D-Banden sind ähnlich denjenigen in den übrigen Spektren. Aufgrund der Intensität der Ester-bande im IR sollte die Bande bei 580 nm im UV ein ϵ zwischen 25'000 und 30'000 besitzen. Gegenüber dem UV-Spektrum erscheint das IR geradezu vollkommen normal, als einziger bedeutender Unterschied findet man eine Schulter zur Esterbande bei 1720 cm^{-1} .

Zone 3BIII:

UV (C_6H_6) qualitativ
 602(0,518 max), 570(0,405 sh), 459(0,110 min), 432(0,160max),
 418(0,149 min), 373(1,000 max), 358(0,616 sh), 344(0,369 min),
 340(0,384 max), 336(0,381 min), 321(0,488 max), 316(0,468min),
 304(0,600 max), 298(0,564 min), 280(1,000 sh).
 $\gamma/\alpha = 1,92$

IR ($CHCl_3$) aufgenommen mit ca. 220 γ
 (2250 w (CN)), 2123 w (CoCN), 1795 m (Lacton), 1735 s
 (COOCH₃), 1605 w ?, 1586 \overline{m} / 1557 w / 1510 m (Chromophor),
 1440 m, 1395 m, 1380 m, 1355 m, 1153 s, 1122 m.

DC $R_f = 0,34$ (0,80)
 im System 2% MeOH/ CH_2Cl_2 $R_f = 0,265$ (1,45)

Aufgrund der Chromophorbanden im IR-Spektrum liegt ein 5,15-disubstituierter Komplex vor. Auffallend ist einzig die starke Absorption im UV-Spektrum zwischen 280 und 340 nm.

Zone 4:

UV (C ₆ H ₆)	qualitativ 593(0,505 max), 568(0,383 min), 559(0,387 max), 453(0,094min), 427(0,157 max), 414(0,137 min), 370(1,000 max), 338(0,332min), 319(0,445 max), 308(0,398 sh), 298(0,334 min), 281(0,590 max), $\gamma/\alpha = 1,97$
IR (CHCl ₃)	2245 w (CN), 2123 w (CoCN), 1798 m (Lacton), 1735 s (COOCH ₃), 1650 w/ 1602 m/ 1573 w/ 1512 m (Chromophor), 1439 m, 1393 m, 1174 m, 1150 s, 1107 m, 1080 m, 1025 w, 897 w.
DC	R _f = 0,385 (0,92)
LLC	(S I, Kol. A, 90 ml/h) R _t = 8,9 min (1'700, k' = 0,98) Zone 5: R _t = 9,5 min (2'250, k' = 1,10)

Zone 4A: C-13- α -isomer (Aufgrund der Normal-Struktur des UV-Spektrums)

UV (C ₆ H ₆)	qualitativ 592(0,485 max), 570(0,361 min), 555(0,392 max), 516(0,295 sh), 452(0,074 min), 425(0,150 max), 414(0,132 min), 370(1,000max), 337(0,313 min), 320(0,415 max), 311(0,371 min), 308(0,374max), 298(0,316 min), 281(0,595 max). $\gamma/\alpha = 2,06$
DC	im System 2% MeOH/CH ₂ Cl ₂ R _f = 0,25 (1,38)

Zone 4B: C-13- β -isomer (Aufgrund der Neo-Struktur des UV-Spektrums)

UV (C ₆ H ₆)	qualitativ 594(0,511 max), 562(0,386 sh), 488(0,155 sh), 452(0,106 min), 428(0,161 max), 414(0,142 min), 369(1,000 max), 337(0,336 min), 319(0,460 max), 310(0,410 min), 308(0,415 max), 299(0,352min), 280(0,604 max). $\gamma/\alpha = 1,95$
DC	im System 2% MeOH/CH ₂ Cl ₂ R _f = 0,22 (1,20)

Die IR-Spektren der beiden getrennten C-13-Isomere sind untereinander und zum Spektrum des Gemisches praktisch identisch. Die Chromophorbanden entsprechen in Lage und Intensität denjenigen im Spektrum von (15), d.h. einem 5-substituierten Komplex.

Zone 6:

UV (C ₆ H ₆)	qualitativ 593(0,544 max), 570(0,409 min), 556(0,434 max), 450(0,077 min), 425(0,151 max), 414(0,133 min), 370(1,000 max), 339(0,306 min), 320(0,459 max), 312(0,394 min), 308(0,400 max), 298(0,310 min), 281(0,610 max). $\gamma/\alpha = 1,84$
IR (CHCl ₃)	2245 w (CN), 2123 w (CoCN), 1797 (Lacton), 1734 s (COOCH ₃), 1596 m/ 1567 w/ 1508 s (Chromophor), 1437 m, 1390 m, 1170 m, 1148 s, 1104 m, 1080 m, 1024 w, 1005w, 896 w.
LLC	(S I, Kol. A, 90 ml/h), R _f = 11,8 min (2'400, k' = 1,62) (15) R _t = 9,5 min (2'250, k' = 1,10)
DC	R _f = 0,31 (0,73) im System 2% MeOH/CH ₂ Cl ₂ R _f = 0,21 (1,14)

Die Lage der IR-Chromophorbanden entspricht einem 5,15-disubstituierten Komplex, die Bande bei 1596 cm⁻¹ ist im Verhältnis zu derjenigen bei 1508 cm⁻¹ schwächer als in (14). Ebenso entsprechen die weiteren Unterschiede (Hypsochromes UV, DC) gegenüber (14), den schon bei der Alkylierung des 5,15-bis-nor-Cobester-c-lactons (3) gefundenen Differenzen zwischen der Hauptzone und der Zone C (S. 98). Dieses Produkt tritt vor allem bei sehr langen Alkylierungszeiten auf, und dürfte vermutlich aus dem Vorläufer von (14) entstanden sein. Die Art der Substituenten an C-5 und C-15 ist unbekannt.

III 3.1.6. Alkylierung des reinen α,α -5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitrils (6)

Nachweis der Isomerisierung an C-13.

0,591 μ Mol (ϵ (C₆H₆/576) = 12'000) α,α -(6) *76 wurden unter den identischen Bedingungen (inkl. Lösungsmittel- und Reagenzmengen) wie das C-13-Gemisch alkyliert (vgl. S. 146).

Spektroskopisch wurden die folgenden Ausbeuten bestimmt:

(14)-C-13-Epimerengemisch: 0,250 μ Mol (ϵ (C₆H₆/602) = 17'000) 42,3%
monosubstituierte Produkte: 0,175 μ Mol (ϵ (C₆H₆/586) = 14'000) 29,6%

*76) Hergestellt durch Lactonisierung des $\alpha\alpha\alpha$ -Isomeren des 5,15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid-f-nitrils (4) (vgl. W. Schilling [38]).

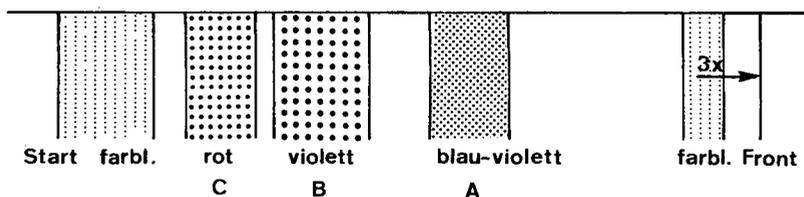
Das Gemisch von (14) wurde im System 2% MeOH/CH₂Cl₂ auf einer Dünnschichtplatte getrennt und die Anteile der beiden Isomere spektroskopisch bestimmt:

$\alpha.\alpha$ -(14) : 0,106 μ Mol (ϵ (C ₆ H ₆ /600) = 18'000)	48,3%
$\alpha.\beta$ -(14) : 0,113 μ Mol (ϵ (C ₆ H ₆ /602) = 16'000)	51,7%
	100,0%

Die Produkte erwiesen sich nach UV und DC mit denjenigen des Versuchs auf S. 146 (Alkylierung des C-13-Gemisches von (6)) als praktisch identisch. Das LLC der monosubstituierten Produkte *77 sieht demjenigen in Abb. 66 sehr ähnlich (vgl. auch LLC der monosubstituierten Produkte aus dem $\alpha.\alpha/\alpha.\beta$ -Lacton-nitril (6) in Abb. 52). Ebenso ist die Ausbeute an (14) und an monosubstituierten Produkten, sowie das Verhältnis der beiden C-13-Epimere von (14) innerhalb der Fehlergrenze gleich wie im Hauptansatz (S. 146). Obschon durch diesen Versuch gezeigt werden konnte, dass während der Alkylierung Isomerisierung an C-13 eintritt, kann keine Aussage gemacht werden, wie rasch diese Isomerisierung verläuft.

III 3.1.7. Alkylierung des C-3- β -Lactons ($\beta.\alpha/\beta.\beta$ -(6))

Unter den im wesentlichen gleichen Bedingungen wie im Hauptansatz (S.146) (0,8 mg LiCl, 0,3 ml CH₃CN, 36 μ l ClCH₂OCH₂C₆H₅ (ca. 260 μ Mol), 16h 88°C, Aufarbeitung mit 60 μ l C₆H₅SH (ca. 590 μ Mol)) wurden 2,30 μ Mol (ϵ (C₆H₆/580) = 12'000) $\beta.\alpha/\beta.\beta$ -(6) *78 alkyliert. Das aufgearbeitete Rohprodukt wurde auf einer Dickschichtplatte chromatographiert:



Alle drei Zonen wurden einzeln auf einer Dünnschichtplatte rechromatographiert. Der Hauptanteil aus der Zone A (blau-violette Zone) besass den gleichen R_F-Wert wie (14): 0,07 μ Mol (ϵ (C₆H₆/605) = 17'000), Ausbeute 3%, (UV: α -Bande: 605 nm, γ -Bande: 374 nm)

*77) Zonenverteilung (ϵ (λ_{max} /C₆H₆) = 14'000 für alle Zonen): Zone 1: 5%, Zone 2: 11%, Zone 3: 23,5%, Zone 4: 13,5%, Zone 5: 39%, Zone 6: 8%.

*78) ca. 1:1-Gemisch der beiden C-13-Epimere, vgl. W. Schilling [38].

Bei diesem Produkt dürfte es sich um das $\beta.\alpha/\beta.\beta$ -Isomerengemisch von (14) handeln, wegen der geringen Menge (ca. 70 γ) wurde dieses Gemisch nicht mehr weiter untersucht.

Zone B (Hauptprodukt der Alkylierung des $\beta.\alpha/\beta.\beta$ -Lactons):

1,04 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/600) = 14'000$) 45,4%

Zone C ergab bei der Rechromatographie zwei Zonen mit ungefähr gleichen Intensitäten. Eine davon könnte aufgrund des UV's und des R_f -Wertes dem Edukt entsprechen. Die Ausbeute an dieser Zone betrug 7,5% ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/582) = 12'000$).

Das Hauptprodukt zeigte im LLC im wesentlichen eine Zone, der geringe Anteil an Nebenzonen (ca. 15%) konnte durch einmaliges LLC-Chromatographieren abgetrennt werden. Vor der Aufnahme des UV und IR-Spektrums wurde das so gereinigte Hauptprodukt noch einmal auf einer Dünnschichtplatte chromatographiert. Nach dem Extrahieren des Silicagels mit MeOH/Methylenchlorid (1:9) wurde das Filtrat am Rotovap vollständig eingeeengt. Der Rückstand wurde in Methylenchlorid aufgenommen und zweimal gegen gesättigte KCl/0,1% KCN-Lsg. ausgeschüttelt. Die organischen Phasen wurden durch Watte filtriert, das Filtrat am Rotovap bis zur Trockene eingeeengt und der violette Rückstand während 1 h am HV getrocknet:

5-nor-15-Phenylthiomethyl-cobester-c-lacton-f-nitril- $\beta.\alpha/\beta.\beta$ (16)

$\text{C}_{57}\text{H}_{68}\text{N}_7\text{O}_{12}\text{S}$ Co

MG 1133

UV (C_6H_6) qualitativ
(Abb. 74) 599(0,548 max), 575(0,390 min), 560(0,428 max), 457(0,080min),
432(0,171 max), 420(0,144 min), 409(0,177 sh), 372(1,000max),
341(0,339 min), 328(0,376 max), 324(0,368 min), 318(0,388max),
298(0,293 min), 283(0,595 max).
 $\gamma/\alpha = 1,82$

IR (CHCl_3) 2245 w (CN), 2120 w (CoCN), 1795 m (Lacton), 1734 s (COOCH_3),
(Abb. 75) 1690 w (sh) (Verunreinigung), 1640 w/ 1600 w (sh)/ 1584 m/
1550 w/ 1522 m (Chromophor), ferner u.a. 1075 m.

LLC (S I, Kol. A, 90 ml/h) : $R_t = 8,7$ min (2'200, $k' = 0,93$)
 $\alpha.\alpha$ -(16) (Zone 3A S.167) $R_t = 7,5$ min

DC $R_f = 0,48$ (0,92)

Durch Dünnschichtchromatographie im System 2% MeOH/ CH_2Cl_2 konnte dieses C-13-Epimerengemisch aufgetrennt werden. Die Zuordnung erfolgte aufgrund der Strukturierung des VIS-Teils des Elektronenspektrums:

$\beta.\beta$ -(16):

UV (C_6H_6) qualitativ, aufgenommen auf PE 402
(Abb. 76) 600(0,59 max), 576(0,45 min), 564(0,47 max), 488(0,14 sh),
462(0,12 min), 434(0,19 max), 423(0,18 min), 410(0,22 sh),
374(1,00 max), 344(0,39 min), 330(0,47 max), 324(0,46 min),
318(0,48 max), 300(0,39 min), 284(0,65 max).
 $\gamma/\alpha = 1,70$

DC im System 2% MeOH/ CH_2Cl_2 $R_f = 0,30$ (1,10)

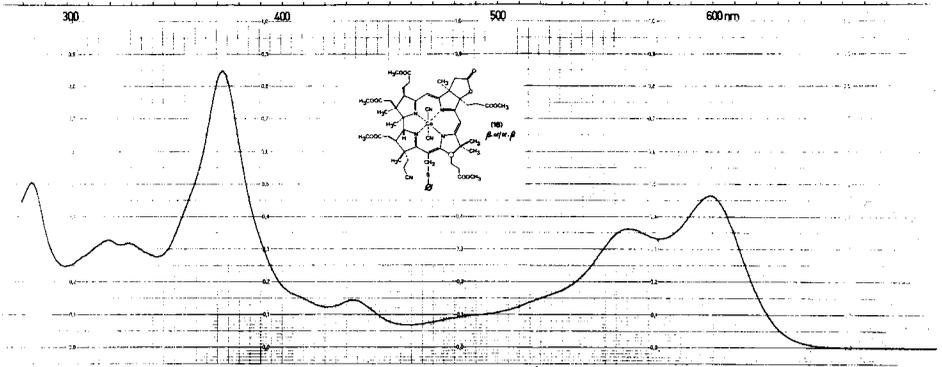


Abb. 74

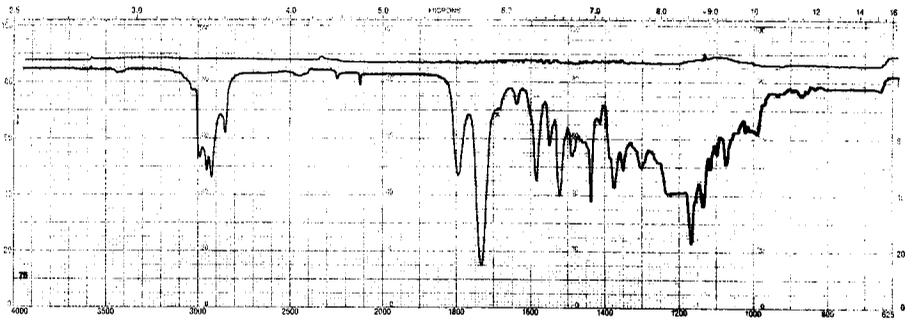


Abb. 75

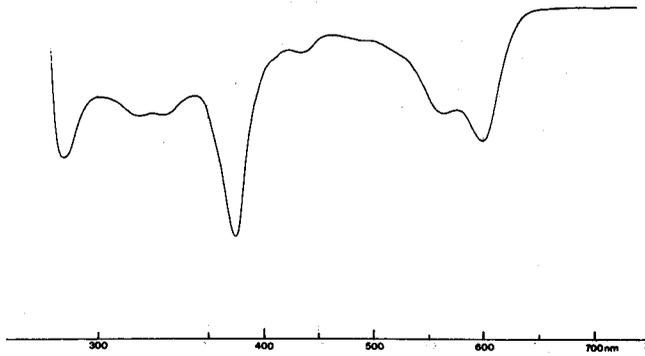


Abb. 76

β . α -(16):

UV (C_6H_6)
(Abb. 77)

qualitativ, aufgenommen auf PE 402
598(0,59 max), 576(0,43 min), 560(0,49 max), 518(0,21 sh),
462(0,08 min), 432(0,20 max), 420(0,18 min), 407(0,23 sh),
373(1,00 max), 342(0,37 min), 328(0,41 sh), 321(0,42 max),
300(0,33 min), 284(0,66 max).
 $\gamma/\alpha = 1,70$

DC

im System 2% MeOH/ CH_2Cl_2 $R_f = 0,29$ (1,07)

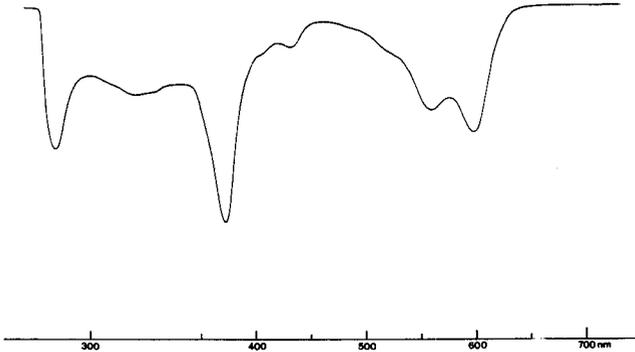


Abb. 77

Mit den hypothetischen ϵ -Werten (vgl. S. 55) von $\epsilon(C_6H_6/600) = 13'000$ für das β . β -(16) und $\epsilon(C_6H_6/598) = 15'000$ für das β . α -(16) wurde folgendes Verhältnis der beiden Isomere ermittelt:
 β . β / β . α = 63 / 37

Die Zuordnung des β . α / β . β -(16) zum Hauptprodukt der Alkylierung des β . α / β . β -Lactons (6) erfolgt aus folgenden Überlegungen:

- Der DC- R_f -Wert ist ähnlich demjenigen des 15-nor-Derivats- α . α / α . β -(15) und kleiner als derjenige von (14).
- Die Retentionszeit im LLC ist ähnlich denjenigen der monosubstituierten Produkte der Alkylierung der C-3- α -Lactone.
- Die bathochrome Verschiebung der α -Bande gegenüber dem Edukt beträgt 18 nm, entspricht also ungefähr der Verschiebung zwischen (15) und (14) (17nm). Mit dieser hier gefundenen Verschiebung konnte die in sich konsistente Verschiebungstabelle (vgl. S. 204) für alle nor-f-Nitrile erstellt werden.
- Die beiden C-13-Isomere sind trennbar.
- Die Chromophorbanden im IR sind gegenüber dem Edukt (6), (15) und (14) in ihrer Strukturierung eindeutig verschieden (vgl. S. 57).
- vgl. die spektroskopischen Daten der aus dem hier beschriebenen Material durch Zinkamalgam-Reduktion erhaltenen C-13-isomeren 5-nor-f-Nitrile (18) (S. 201); das MS des β . α / β -(18) zeigte den erwarteten Basepeak ($m/e = 915 = M^+ - 2CN - CH_3COOCH_3$).

III 3.1.8. Alkylierung des Cobester-c-lactons (13)

Um die Schutzwirkung der c-Lactongruppe vor einer Alkylierung an C-10 zu überprüfen, wurde das Cobester-c-lacton (13) den gleichen Bedingungen wie bei der Alkylierung von (6) unterworfen (vgl. S. 146)

2,26 mg (2,10 μ Mol) kristallines Cobester-c-lacton (13) (vgl. S. 222) wurden in Acetonitril (0,3 ml) in Gegenwart von Lithiumchlorid (1,4 mg) und Chlormethylbenzyläther (36 μ l, ca. 260 μ Mol) während 15h auf 88° C erhitzt (Ampulle). Die Aufarbeitung erfolgte analog S. 147 mit Thiophenol (60 μ l, ca. 590 μ Mol), und das Rohprodukt wurde auf einer Dickschichtplatte chromatographiert. Da sowohl auf der Dickschichtplatte (ca. 50% Edukt isoliert) wie bei der nachfolgenden Dünnschichtchromatographie nur eine ungenügende Abtrennung der Nebenprodukte vom Edukt erreicht wurde, wurde das gesamte Material anschliessend mit der schnellen flüssig-flüssig-Verteilungschromatographie aufgetrennt (Abb. 78):

(S I, Kol. A, 90 ml/h)

Referenzen: Cobester: $R_t = 5,7$ min (2'700)

Edukt (13) $R_t = 9,0$ min (3'300)

Ausbeuten berechnet bezüglich

$$\epsilon (\lambda_{\max} / C_6H_6) = 12'000$$

Zone 1: $R_t = 5,8$ min 3,2% $\lambda_{\max} = 600$ nm

2: $R_t = 6,2$ min 7,5% $\lambda_{\max} = 599$ nm

3: $R_t = 7,3$ min 2,7% $\lambda_{\max} = 622$ nm

4: $R_t = 8,1$ min 11,0% $\lambda_{\max} = 628$ nm

5: $R_t = 9,0$ min 39,0% $\lambda_{\max} = 598$ nm

(N = 2'700)

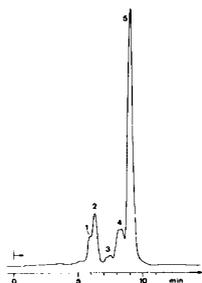


Abb. 78

Aufgrund des UV- und IR-Spektrums handelt es sich bei der Zone 5 um Edukt, (Cobester-c-lacton (13)). Ob ein C-13-Epimerengemisch vorlag, konnte anhand der zum Edukt ähnlichen Strukturierung des Vis-Teils des Elektronenspektrums nicht schlüssig beantwortet werden. Der Anteil an möglichen neo-Isomeren dürfte aber - wenn überhaupt - nur sehr gering sein.

Aus den bathochromen UV-Spektren der Zone 3 und 4 könnte es sich dabei um an C-10 substituierte Komplexe handeln. Im IR der Zone 4 (aufgenommen mit ca. 250 μ) fehlt denn auch die relativ intensive Chromophorbande bei ca. 1580 cm^{-1} (vgl. S. 57). Um was für Komplexe es sich bei der Zone 1 und 2 handeln könnte, ist unbekannt.

III 3.1.9. Diskussion der Alkylierungsbedingungen

Mit den vielen Versuchen konnte gezeigt werden, dass es für die Gewinnung des 5,15-Dialkylierungsprodukts (14) günstiger ist, die Alkylierung nicht zu forcieren, sondern die Reaktion nach einer gewissen Zeit abzubrechen und anschliessend die nur monosubstituierten Produkte weiter zu alkylieren.

Da fast alle eigentlichen Nebenprodukte im IR Chromophorbanden zeigen, die vom Typus des 5,15-disubstituierten Komplexes sind, werden sie vermutlich aus dem primären Alkylierungsprodukt, dem 5,15-Di-chlormethyl-komplex, unter den Reaktionsbedingungen gebildet. Es war immer mit einem ca. 100-fachen Reagensüberschuss gearbeitet worden. Es ist deshalb sehr gut möglich, dass geringe Verunreinigungen im Reagens mit dem Dialkylierungsprodukt zu verschiedenen Produkten weiterreagieren können. Versuche mit einem mehr als um den Faktor 10 geringeren Reagensüberschuss sind keine durchgeführt worden. LiCl: Mit und ohne (vgl. S. 127) Lithiumchlorid wurden nach UV, IR, DC, LLC die gleichen Produkte isoliert, ebenso war das Verhältnis zwischen dem Hauptprodukt (14) und den monosubstituierten Produkten nicht wesentlich verschieden. Der Zusatz von Lithiumchlorid führte aber zu einer grösseren Chromophorausbeute (ca. 75 - 80% statt ca. 70%). Während ohne LiCl in der ersten Stunde die Reaktionslösung hellrot wurde (der Chlormethylbenzyläther enthielt immer etwas HCl, auch bei der Reaktion entsteht Salzsäure; sicher wird dadurch mindestens ein CN-Ligand am Kobalt abgespalten) und erst nachher langsam dunkelrot, später rotviolett, wurde, wurde mit LiCl nur eine sehr geringe Verschiebung nach hellrot beobachtet, anschliessend färbte sich die Lösung rascher dunkel. Es ist aufgrund dieser Beobachtung möglich, dass durch die Zugabe des LiCl ein hexakoordinierter Chlorocyano-Co(III)-komplex stabilisiert wird und dieser Komplex dafür verantwortlich ist, dass eine grössere Chromophorausbeute erhalten wird. Eine katalytische Wirkung des LiCl als schwache Lewissäure konnte nicht nachgewiesen werden. Die zugegebene Menge LiCl reichte für eine gesättigte Lösung, da bis zum Schluss ein Teil ungelöst zurückblieb. Selektivität: Obschon bei der Alkylierung des Cobester-c-lactons (13) nur ca. 50% Edukt isoliert werden konnten, wurde im ganzen Produktgemisch der Alkylierung des 5,15-bis-nor-Cobester-c-lacton-f-nitrils (6) nur eine Zone gefunden, bei der Hinweise vorhanden sind, dass eine Substitution an C-10 stattgefunden haben könnte (Zone C S.161); ihr Anteil betrug aber höchstens 0,5%. Unter den milderen Bedingungen, bei denen Cobester (7) zu 10-Phenylthiomethyl-cobester (8) alkyliert worden war (S. 91), wurden beim Cobester-c-lacton (13) keine Substitutionsprodukte beobachtet. Die Schutzwirkung der Lactongruppe war auf jeden Fall genügend, da jeder eingeführte XCH₂-Substituent zu einer Desaktivierung des Chromophors führt und sicher zuerst die sterisch weniger gehinderten Stellen (C-5 und C-15) alkyliert werden.

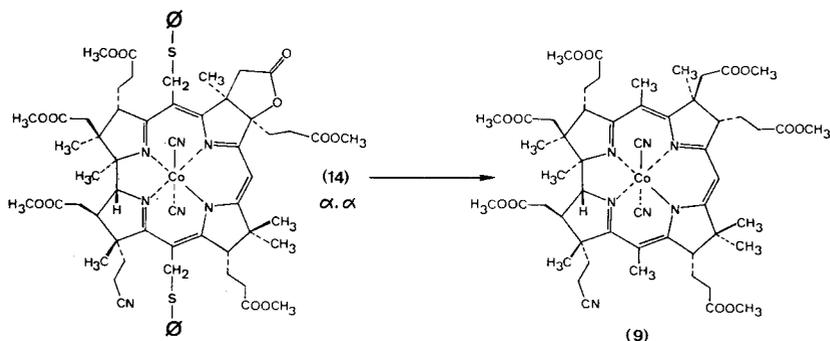
Verlauf der Reaktion: Die Alkylierung erfolgte im Komplex mit C-3- α -Konfiguration bevorzugt an C-5, nur mit Mühe konnte der C-15-monosubstituierte Komplex nachgewiesen werden. Beim Lacton (6) mit C-3- β -Konfiguration wurde dagegen praktisch nur der C-15-monosubstituierte Komplex erhalten. Dadurch ist gezeigt, dass die Alkylierung zumindest an C-5 von oben (Seite der Essigsäureseitenketten) erfolgen muss. Dass an C-15 die Alkylierung nur so langsam erfolgt, könnte demnach ihren Grund darin besitzen, dass die Substitution nur am Komplex mit C-13- α -Konfiguration stattfindet, d.h. infolge der gleichen sterischen Umgebung von C-5 und C-15 ebenfalls von oben erfolgen würde. Verläuft die Isomerisierung eher langsam, könnte dies ein Grund dafür sein, dass die Alkylierung an C-15 langsamer verläuft als an C-5. Dass das C-3- β -Lacton (6) kein disubstituiertes Produkt liefert, steht im Einklang mit der Tatsache, dass bei der Alkylierung keine Hinweise auf eine Isomerisierung an C-3 gefunden worden waren. Andererseits lässt sich auch die Frage stellen, inwieweit die Isomerisierung an C-13 durch die Säure in der Reaktionslösung oder durch die eigentliche Substitution ausgelöst wird. Bei der Alkylierung, wie bei der Protonierung,

in der Meso-stellung kann das Chromophorsystem zuerst nach C-13 ausweichen, indem dort ein Proton abgespalten wird, unter Ausbildung einer Doppelbindung C-12 - C-13. Im nächsten Schritt erfolgt dann die Tautomerisierung zum normalen Chromophor, wobei die Reprotonierung an C-13 sowohl von oben wie von unten erfolgen kann. Dieser Aspekt gewinnt an Bedeutung, wenn man berücksichtigt, dass das zurückgewonnene Cobester-c-lacton (13), wenn überhaupt, dann nur zu einem sehr geringen Ausmass isomerisiert ist.

III 3.2. REDUKTION

Die beiden C-13-Epimere des 5,15-Di-phenylthiomethyl-cobester-c-lacton-f-nitrils (14) wurden einzeln in Zinkamalgame in Essigsäure zu den entsprechenden Cobester-f-nitrilen (9) reduziert.

III 3.2.1. Reduktion des α,α -(14) zu f-Nitril (9)- $\alpha\alpha\alpha$



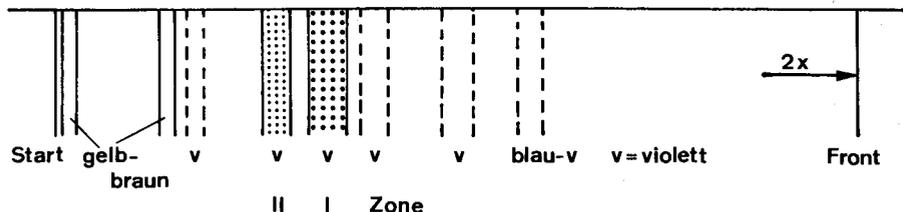
Zu 1,085 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/600) = 18'000$) 5,15-Di-phenylthiomethyl-cobester-c-lacton-f-nitril (α,α - (14)) wurden unter Argon 2,5 gr Zinkamalgame *58 und anschliessend 6 ml Essigsäure gegeben. Unter Argon wurde die Suspension während 3 min bei RT heftig gerührt, wobei die Farbe der Lsg. rasch von violett über gelb nach nur noch sehr schwach gelbgrün wechselte. Darauf wurden 5 ml Methylenchlorid (nicht entgast) zugefügt, wodurch sich die Lösung sofort intensiv gelborange färbte. Unter Filtration durch Watte wurde die Methylenchlorid-Lsg. in einen Scheidetrichter transferiert, das Zinkamalgame noch siebenmal mit 2 ml CH_2Cl_2 gewaschen. Das gesammelte Filtrat wurde viermal mit 30 ml gesättigter $\text{KCl}/0,1\%$ KCN -Lsg. gewaschen und die wässrigen Auszüge jeweils noch dreimal mit 5 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Die organischen Phasen (violett) wurden durch Watte filtriert und das Filtrat am Rotovap vollständig eingeeengt.

Rohausbeute: 0,730 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/590) = 12'000$) 67% (UV: $\gamma/\alpha = 2,54$) (bestimmt nach Zugabe von 2 Tropfen 0,4% HCN/MeOH zur C_6H_6 -Lsg. in der UV-Zelle; allgemein wurde beobachtet, dass beim Einengen einer Säure zum Teil ein CN-Ligand abgespalten wird).

Dieses Material wurde nicht mehr weiter gereinigt und zeigte folgende Eigenschaften:

- DC: ein violetter Hauptfleck mit $R_f = 0,05$ (0,15) (Carbonsäure !),
- UV: ähnlich dem f-Nitril (9), signifikant für eine im wesentlichen vollständige Reduktion ist das hohe γ/α -Verhältnis von 2,54 ((14) : 1,46),
- IR: sehr breite Bande zwischen 3500 und 2500 cm^{-1} , sehr breite Carbonylbande um 1730 cm^{-1} .

Die rohe Säure (Cobester-c-säure-f-nitril) wurde mit Benzol unter Filtration durch Watte in einen kleinen Kolben transferiert, das Lsm. am Rotovap vollständig entfernt und der Rückstand während 30 min am HV bei RT getrocknet. Anschliessend wurden 1 ml Methylenchlorid und darauf 2 Tropfen 0,5 N CH_2N_2 in Aether *45 (ca. 20 Aeq.) zugegeben, die Lsg. während 30 sec bei RT stehengelassen und nachher am Rotovap bis zur Trockene eingeengt. Der rotviolette Rückstand wurde sofort auf einer Dünnschichtplatte chromatographiert:



Das Silicagel der beiden Zonen wurde mit $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1:9) extrahiert.

Zone I : f-Nitril: 0,443 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/595) = 12'000$) 41%

Zone II: c-Lacton-f-nitril: 0,080 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/598) = 12'000$) 7,4%

Die UV-spektroskopische Ausmessung aller Nebenzoneen ergab einen Chromophoranteil von ca. 7% ($\epsilon(\lambda_{\text{max}}/\text{C}_6\text{H}_6) = 12'000$).

Im LLC (S II, Kol.C, 25 ml/h) des f-Nitrils konnte kein neo-f-Nitril nachgewiesen werden (Nachweisgrenze 3%).

5,23 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/600) = 18'000$ $\alpha.\alpha$ -(14) (vgl. S. 154) waren in 6 Ansätzen à ca. 0,3 μMol und 3 Ansätzen zu 1,1 μMol (inkl. den oben beschriebenen Ansatz) reduziert worden. Das erhaltene Material der beiden Zonen I und II wurde je für sich zusammengenommen (Zone II nochmals dünn-schicht-chromatographiert), je in Methylenchlorid dreimal gegen gesättigte $\text{KCl}/0,01\%$ KCN-Lsg. ausgeschüttelt und anschliessend die mittleren Ausbeuten der beiden Zonen UV-spektroskopisch bestimmt:

f-Nitril: 2,10 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/594) = 12'000$) 40% (ca. 2,2 mg)

c-Lacton-f-nitril: 0,27 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/596) = 12'000$) 5%

Das f-Nitril wurde anschliessend kristallisiert und vollständig charakterisiert (S. 185); vom Lacton wurden der geringen Menge wegen (ca. 300 μ) nur die folgenden vorläufigen Daten gesammelt:

Cobester-c-lacton-f-nitril- $\alpha.\alpha$

UV (C_6H_6)

qualitativ, aufgenommen auf PE 402

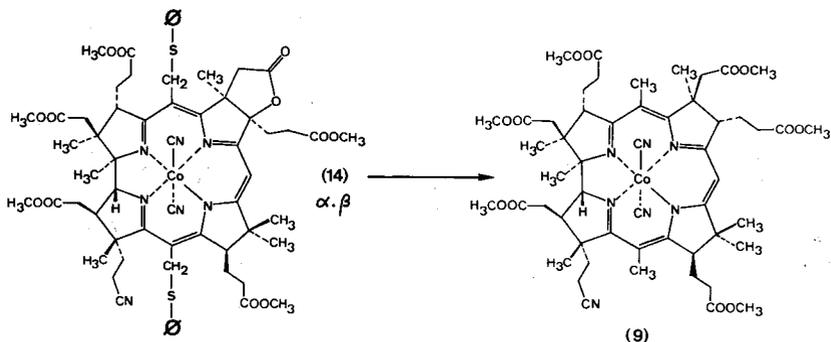
596(0,39 max), 575(0,29 min), 556(0,34 max), 516(0,20 sh),
450(0,09 min), 425(0,14 max), 416(0,13 min), 372(1,00 max),
354(0,50 sh), 342(0,29 min), 322(0,41 max), 311(0,37 sh),
295(0,27 min), 283(0,49 max).

$\gamma/\alpha = 2,60$

IR (CHCl₃) Nitril nicht eindeutig erkennbar (2250 cm⁻¹), 1790 m (Lacton), 1730 s (COOCH₃), 1585 m/ 1505 m breit (Chromophor).

DC R_f = 0,22 (0,64) Referenzen: f-Nitril: R_f = 0,30 (0,88)
Cobester-c-lacton: R_f = 0,27 (0,79)

III 3.2.2. Reduktion des $\alpha.\beta$ -(14) zu neo-f-Nitril (9)- $\alpha\alpha\beta$



Das neo-Isomere von (14) wurde auf identische Weise reduziert wie das $\alpha.\alpha$ -(14), vgl. oben.

Hier die tabellarische Uebersicht eines Ansatzes:

Edukt: 1,66 μ Mol (ϵ (C₆H₆/602) = 16'000) 5,15-Di-phenylthiomethyl-neo-cobester-c-lacton-f-nitril ($\alpha.\beta$ -(14)), vgl. S.156.

4,5 g Zinkamalgam *58 / 9 ml Essigsäure/ 3 min bei RT reduziert.

Rohausbeute: 1,09 μ Mol (ϵ (C₆H₆/592) = 9'800) 65% $\gamma/\alpha = 2,65$

spektroskopische Daten der rohen neo-Cobester-f-nitril-c-säure:

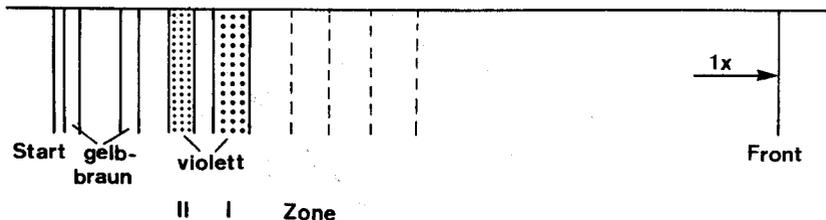
UV : $\gamma/\alpha = 2,65$, Strukturierung ähnlich dem neo-f-Nitril (9),

IR : sehr breite Bande zwischen 3500 und 2500 cm⁻¹, breite Carbonylbande um 1730 cm⁻¹,

DC : violetter Hauptfleck mit R_f = 0,04 (0,15).

Veresterung in 1 ml CH₂Cl₂ mit 2 Tropfen 0,5 N CH₂N₂ (30 sec RT).

Dünnschichtchromatogramm:



Zone I : neo-f-Nitril: 0,888 μMol (ϵ ($\text{C}_6\text{H}_6/597$) = 9'800) 53,5%
 Zone II: neo-f-Nitril-c-lacton: 0,113 μMol (ϵ ($\text{C}_6\text{H}_6/600$) = 9'800) 6,8%

Im LLC des neo-f-Nitrils (S II, Kol.C, 25 ml/h) konnte kein f-Nitril nachgewiesen werden (Nachweisgrenze 3%).

In 8 Ansätzen wurden total (inkl. oben) 6,18 μMol (ϵ $\text{C}_6\text{H}_6/602$) = 16'000 α,β -(14) reduziert. Mittlere Ausbeuten (gleiche Vorbehandlung wie S. 182.

neo-f-Nitril: 3,18 μMol (ϵ ($\text{C}_6\text{H}_6/597$) = 9'800) 51% (ca. 3,35 mg)
 neo-f-Nitril-c-lacton: 0,211 μMol (ϵ ($\text{C}_6\text{H}_6/599$) = 9'800) 3,4%

Kristallisation und Charakterisierung des neo-f-Nitrils vgl.S. 186.

neo-Cobester-c-lacton-f-nitril (ca. 220 γ) (vorläufige Daten):

UV (C_6H_6) qualitativ, aufgenommen auf PE 402
 599(0,38 max), 565(0,29 sh), 526(0,18 min), 508(0,19 max),
 455(0,12 min), 430(0,15 max) 418(0,14 min), 372(1,00 max),
 354(0,50 sh), 341(0,31 min), 322(0,45 max), 312(0,40 sh),
 295(0,31 min), 282(0,47 max).
 $\gamma/\alpha = 2,55$

IR (CHCl_3) Nitril nicht eindeutig erkennbar (2250 cm^{-1}), 1790 m (Lacton),
 1735 s (COOCH_3), 1586 m/ 1505 m (breit) (Chromophor).

DC $R_f = 0,15$ (0,57) Referenzen: neo-f-Nitril: $R_f = 0,22$ (0,83)
 Cobester-c-lacton : $R_f = 0,19$ (0,72)

III 3.2.3. Diskussion der Reduktionsbedingungen

Bei den zuerst nach Vorschriften der Harvard-Gruppe durchgeführten Reduktionsversuche mit Zink in Essigsäure verlief die gewünschte Reduktion, gegenüber der irreversiblen Zerstörung des Chromophors, zu langsam, und es konnten höchstens Ausbeuten um 25-30% erreicht werden. Die Harvard-Gruppe konnte dann eine Verbesserung erreichen, indem sie etwas Magnesium zum Zinkstaub (Verhältnis ca. 1:100) gab und so eine Beschleunigung der gewünschten Reduktion erreichten. Dieses Resultat konnte hier nicht reproduziert werden, vermutlich weil nicht die gleiche Qualität des Zinks und Magnesiums zur Verfügung stand (Korngrösse, Oberfläche etc). Durch Amalgamieren des Zinks wurde dann eine Beschleunigung der Reduktion und damit eine höhere Chromophorausbeute auf Anhieb erreicht. Obschon an jedem Tag neues Zinkamalgam zubereitet wurde, waren die Versuche sehr gut reproduzierbar, wie die oben angegebenen mittleren Ausbeuten bestätigen.

Wie schon bei der Raney-Nickel-Reduktion wurde auch hier in Vorversuchen (kürzere Reaktionszeiten) beobachtet, dass zuerst der Lactonring geöffnet wird; langsamer verläuft die Reduktion der beiden Phenylthiomethyl- zu den Methylgruppen.

Die grosse Menge Zinkamalgam (bei der Zn/Mg-Reduktion der Harvard - Gruppe werden ähnlich grosse Mengen verwendet) führte zu einer raschen und mehrheitlich vollständigen Reduktion ohne eine allzu geringe Chromophorausbeute.

Bei der Verwendung von weniger Reduktionsmittel war der Anteil der Zonen mit grösserem R_f -Wert als (9) grösser, die UV-Spektren dieser Zonen (vgl. die nur schwachen violetten und blauvioletten Zonen in den obigen Dünnschichtchromatogrammen) wiesen ein kleineres γ/α -Verhältnis auf. Aus den Erfahrungen der Raney-Nickel-Reduktion handelt es sich dabei um nur teilweise reduzierte Komplexe. In einem Vorversuch konnte ein solches Produkt auch mit Zinkamalgam weiter zum f-Nitril reduziert werden. Bei den kleineren Versuchen war der Lactonanteil im Produkt geringer als in den grösseren Ansätzen. Der Unterschied zwischen den beiden Versuchsgrössen lag darin, dass bei den grösseren mehr Zeit für das Transferieren der Methylenechlorid-Lsg. am Schluss der Reduktion und für das Waschen des Zinkamalgams benötigt wurde, bis die durch Luftsauerstoff sich langsam rot färbende Lsg. gegen Cyanid ausgeschüttelt werden konnte. (Anmerkung: Vitamin B₁₂ bildet in der Dicyanoform keinen c-Lactam-Ring, in der Aquocyanoforn aber leicht [49]). Da immer beobachtet worden war, dass der Lactonring leichter reduziert wird, wird das am Schluss gefundene Lacton vermutlich bei der Aufarbeitung gebildet. Der grosse Chromophorverlust während der Reduktion (Rohausbeute nur ca. 65%) ist auf die Bildung von gelben oder braunen Produkten zurückzuführen, deren UV-Spektren keine Ähnlichkeit mehr mit einem Dicyano-kobalt-III-corrin besitzen *48 (zwei ungefähr gleich intensive Maxima um 470 - 500 nm und 320 - 340 nm). Die Veresterung der c-Säure bot, wie schon in den früheren Versuchen, keine Schwierigkeiten. Durch LLC und die nachfolgende Charakterisierung konnte nachgewiesen werden, dass keine Isomerisierung an C-3 und C-13 während der Reduktion auftritt und dass die Stereochemie an C-8 der natürlichen Konfiguration entspricht. Es wurden keine Hinweise auf ein mögliches C-8- β -Isomeres gefunden (vgl. hierzu die Befunde von P. Rapp und U. Oltersdorf [41]).

III 3.2.4. Kristallisation der beiden C-13-Epimere des synth. f-Nitrils (9)

Kristallisation des synth. f-Nitrils ($\alpha\alpha\alpha$):

Die direkte Kristallisation des gepoolten Materials war nicht möglich (während 2 Wochen erfolglos versucht). Darauf wurde das f-Nitril (2,10 μ Mol (ϵ (C₆H₆/594) = 12'000)) auf einer Dünnschichtplatte chromatographiert. Durch Extraktion des Silicagels mit ca. 7 ml MeOH/Methylenechlorid (1:9) wurde das f-Nitril wieder isoliert und das Filtrat am Rotovap vollständig eingengt. Erneut wurde aus 1 ml Benzol eingengt und der Rückstand während 4 h am HV bei RT getrocknet. Mit möglichst wenig Methanol (ca. 1 ml) wurde unter Filtration durch Watte transferiert und nach Zugabe von 1 ml Benzol am Rotovap bis zur Trockene eingengt. Das ölige Nitril wurde während 1 h am HV bei RT getrocknet. Nach dem Lösen in 0,5 ml Methylacetat *27 wurden langsam ca. 0,7 ml Hexan zugegeben und die Lsg. bei RT stehengelassen. Nach 2 Tagen konnten die ersten Kristalle beobachtet werden, darauf wurden je nach 24 h dreimal 0,1 ml Hexan zugefügt. 24 h nach der letzten Zugabe wurde die Mutterlauge (0,126 μ Mol (ϵ (C₆H₆/594) = 12'000) abpipettiert. Die Kristalle wurden während 15 min am HV bei RT getrocknet.

Zur Umkristallisation wurden die Kristalle in ca. 1 ml Methylacetat *27 gelöst und unter Filtration durch Watte in einen neuen Kolben transferiert. Darauf wurden ca. 1,5 ml Hexan zugefügt und die Lsg. bei RT stehengelassen. Zweimal wurde dann nach je 48 h nochmals 1,0 ml Hexan zugegeben. 24 h nach der letzten Zugabe wurde die Mutterlauge (0,223 μMol ($\mathcal{E}(\text{C}_6\text{H}_6/595) = 12'000$)) abpipettiert und die Kristalle (dunkelrote, rosettenartig angeordnete Nadeln) fünfmal mit 1 ml Methylacetat/Hexan (1:5) gewaschen. Die Kristalle wurden 24 h am HV (0,03 Torr) bei RT getrocknet: berechnete Menge: ca. 1,6 mg (berechnet aus der eingesetzten Menge (2,10 μMol), dem normalen Verlust beim DC (ca. 10%) und den Substanzmengen in den beiden Mutterlauen). Anschliessend wurde das NMR-Spektrum aufgenommen. Danach wurde diese Probe analog der Umkristallisation wieder kristallisiert und nach erneutem Trocknen der Kristalle am HV (0,03 Torr) während 44 h bei RT die UV-, IR-, MS- und CD-Spektren aufgenommen.

Kristallisation des synth. neo-f-Nitrils ($\alpha\alpha\beta$):

Das zusammengenommene Material dieses Isomeren konnte im Gegensatz zum f-Nitril direkt ohne Dünnschichtchromatographie kristallisiert werden. Es war auch das am leichtesten kristallisierbare Derivat des Cobesters, das in dieser Arbeit gefunden worden war.

Unter Filtration durch Watte wurde das synth. neo-f-Nitril (3,18 μMol ($\mathcal{E}(\text{C}_6\text{H}_6/596) = 9'800$)) mit möglichst wenig Methanol transferiert und das Filtrat nach Zugabe von 2 ml Benzol am Rotovap vollständig eingengt. Der Rückstand wurde während 1 h am HV getrocknet, anschliessend in 0,6 ml Methylacetat *27 gelöst und die Lsg. mit ca. 0,8 ml Hexan versetzt. Nach 16 h wurden, ohne dass die Kristallisation eingesetzt hatte, noch ca. 0,5 ml Hexan zugegeben und mit einem Spatel leicht gekratzt, worauf die Kristallisation einsetzte. Nach nur 6 h war die Mutterlauge (0,134 μMol ($\mathcal{E}(\text{C}_6\text{H}_6/597) = 9'800$)) nur noch schwach gefärbt und nach weiteren 14 h wurde sie abpipettiert. Die Kristalle wurden einmal mit 2 ml Methylacetat/Hexan (1:2) gewaschen und anschliessend während 4 h am HV bei RT getrocknet.

Zur Umkristallisation wurden die Kristalle in ca. 1 ml Methylacetat gelöst und unter Filtration durch Watte in einen neuen Kolben transferiert. Nach der Zugabe von 1,5 ml Hexan setzte die Kristallisation sofort ein und nach 12 h konnte die schwach gefärbte Mutterlauge (0,242 μMol ($\mathcal{E}(\text{C}_6\text{H}_6/598) = 9'800$)) abpipettiert werden. Die Kristalle (rostbraune, durchsichtige feine Nadeln) wurden während 24 h am HV (0,03 Torr) bei RT getrocknet: berechnete Menge: ca. 2,9 mg (berechnet aus dem eingesetzten Material (3,18 μMol) und den beiden Mutterlauen). Anschliessend wurde das NMR-Spektrum aufgenommen. Nach erneuter Kristallisation (analog der Umkristallisation) wurden noch die übrigen Spektren aufgenommen (UV, IR, MS, CD).

Authentisches Vergleichsmaterial

Das authentische Vergleichsmaterial (Herstellung vgl. S. 253) war unter den gleichen Bedingungen umkristallisiert worden wie das synthetische, nur stand etwas mehr Material der beiden Proben zur Verfügung (f-Nitril und neo-f-Nitril je ca. 7 mg). Die Vorbehandlung der Proben war genau gleich wie im synthetischen Fall, und die Spektren wurden unter den möglichst identischen Bedingungen aufgenommen.

III 3.2.5. Identifikation: Cobyrynsäure-hexamethylester-f-nitril und neo-Cobyrynsäure-hexamethylester-f-nitril (9)

$C_{53}H_{70}N_7O_{12}Co$

MG 1055

NMR (C_6D_6) 100 MHz-Fourier-Transform Spektren, aufgenommen auf Varian XL-100 mit Varian-Computer VFT-100 *79 (Chem. Verschiebungen aus Computeroutput). Alle Proben in ca. 2 ml C_6D_6 in 12 mm Rohr, infolge der unterschiedlichen Konzentrationen mussten verschiedene Pulszahlen angewendet werden.

Probe	synth.f-Nitril	auth.f-Nitril	synth.neo-f-Nitril	auth.neo-f-Nitril	*80
Menge	ca. 1,6 mg	ca. 6 mg	ca. 2,9 mg	ca. 5 mg	
Pulsdauer(µsec)	60	30	60	60	
Repetitionszeit (sec)	1	2	2	2	
Anzahl Pulse	1000	100	400	100	
H-C-10:	5,75 ppm	5,75	5,78	5,78	
Ester:	3,47	3,47	3,46	3,47	
	3,41	3,41	3,37(2)	3,37(2)	
	3,39	3,39	3,32	3,32	
	3,37	3,36	3,29	3,29	
	3,28(2)	3,27(2)	3,24	3,24	
CH ₃ -C-5	2,10	2,10	2,09	2,09	
CH ₃ -C-15	2,01	2,01	1,88	1,88	
Methyl	1,49	1,49	1,47	1,47	
	1,38	1,38	1,40	1,40	
	1,17	1,16	1,26	1,26	
	1,13	1,12	1,15	1,15	
	0,98	0,98	1,07	1,07	
	0,81	0,80	0,81	0,81	
H ₂ O	0,50	0,61	0,54	0,58	
Methylacetat	3,33	3,33	----	----	
	1,65	1,65			
	(ca. 0,25 Mol)	(ca. 0,05Mol)			
Abbildung	79	80	81	82	*80

*79) Aufgenommen von Prof. W. v. Philipsborn, Universität Zürich; ich möchte Prof. v. Philipsborn auch an dieser Stelle bestens danken für die Aufnahmen.

*80) Dieses Spektrum (Abb. 82) des auth. neo-f-Nitrils stammt von einer Probe, die noch ca. 5-10% eines Nebenprodukts enthält. Nach der Behandlung des auth. neo-f-Amids (10) mit Methansulfonylchlorid in Pyridin wurde das neo-f-Nitril nach Dünnschichtchromatographie kristallisiert und umkristallisiert (vgl. S. 255). Von dieser Probe stammt das

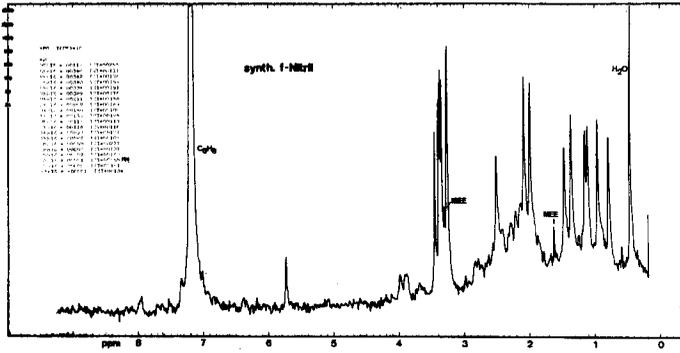


Abb. 79

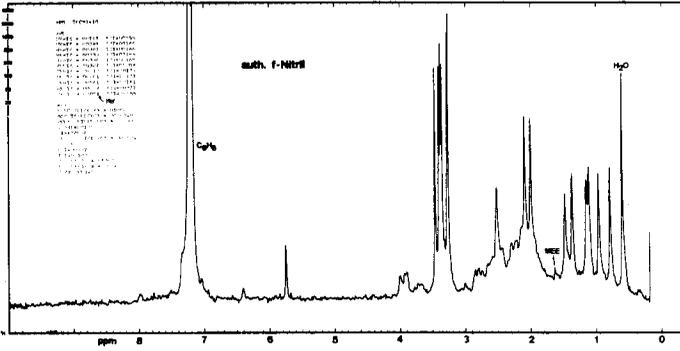


Abb. 80

NMR-Spektrum in Abb. 82. Nach dem NMR-Spektrum wurde das UV-Spektrum aufgenommen, das gegenüber demjenigen der synthetischen Probe einen geringfügig breiteren Ausläufer der α -Bande nach längeren Wellenlängen zeigte. Darauf wurde die Reinheit des auth. neo-f-Nitrils nochmals mit LLC überprüft. Dabei wurde das Nebenprodukt (vermutlich 10-Chlor-neo-f-nitril, vgl. S. 255) entdeckt, und es konnte abgetrennt werden (Vor der ersten Kristallisation war im LLC das Nebenprodukt infolge apparativer Schwierigkeiten (Detektor) nicht gefunden worden; sein Anteil war zu gering, um von Auge auf der Säule (Glassäule) entdeckt zu werden.). Nach der LLC-Reinigung wurde das auth. neo-f-Nitril wie-

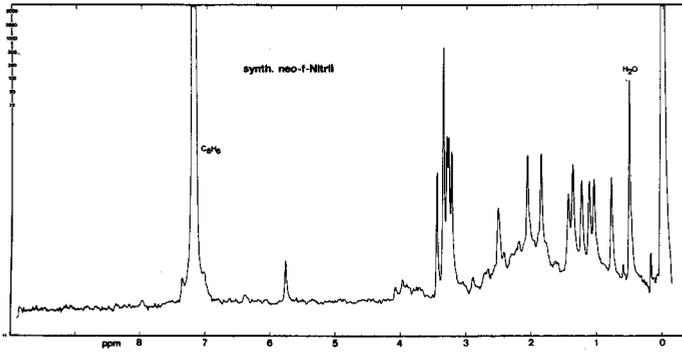


Abb. 81

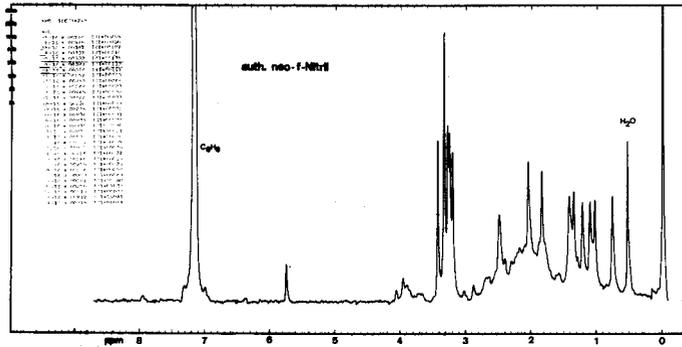


Abb. 82

der kristallisiert und umkristallisiert, und die UV, IR, CD und MS-Spektren stammen von der nachgereinigten Probe. Das in Abb. 82 dargestellte NMR-Spektrum der noch verunreinigten kristallinen Probe zeigt nur sehr geringfügige Intensitätsunterschiede einiger Banden gegenüber dem Spektrum des synth. neo-f-Nitrils (Abb. 81). Da bei der Fourier-Transform-Spektroskopie allein aus messtechnischen Gründen Intensitätsunterschiede entstehen können, ist nicht einmal sicher, ob die beobachteten Unterschiede wirklich vom Nebenprodukt herrühren.

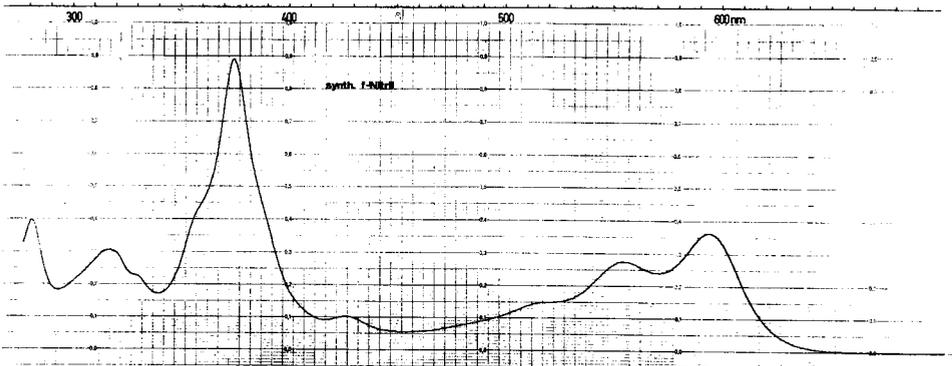


Abb. 83

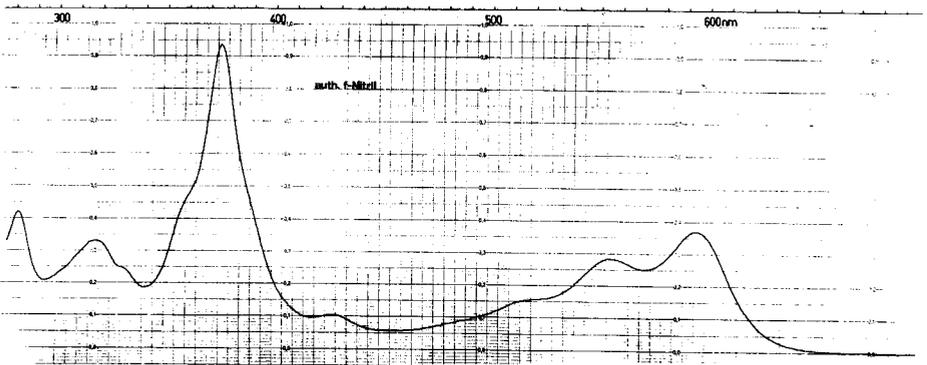


Abb. 84

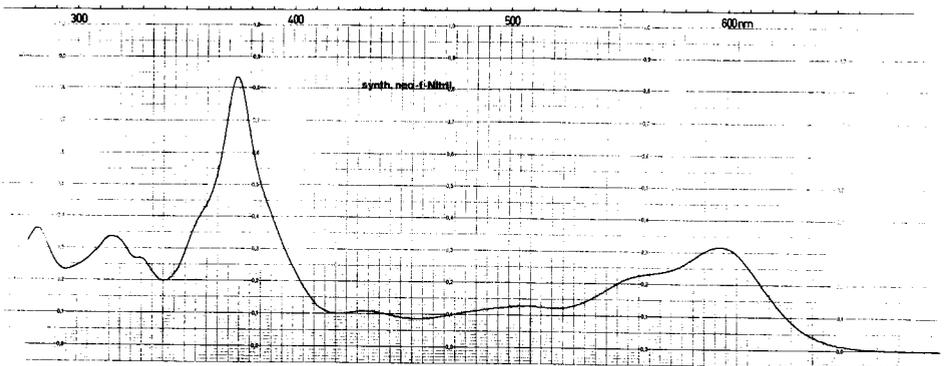


Abb. 85

UV (C₆H₆)

synth.f-Nitril auth.f-Nitril synth. neo-
 338 γ in 10ml 661 γ in 20ml f-Nitril
 721 γ in 20ml auth. neo-
 665 γ in 20ml

(Ablesegenauigkeit 1 nm)

594(11'300)	max	594(11'800)	596(9'300)	max	596(9'800)
571(7'200)	min	570(8'000)	563(6'700)	sh	563(7'000)
554(8'600)	max	554(9'000)	522(3'600)	min	522(3'700)
520(4'700)	sh	519(5'000)	508(3'700)	max	507(3'900)
453(1'700)	min	455(1'800)	457(2'500)	min	457(2'500)
427(3'200)	max	426(3'300)	433(3'200)	max	433(3'200)
417(2'900)	min	416(3'000)	421(2'900)	min	421(3'000)
375(27'800)	max	375(29'900)	374(24'400)	max	374(25'600)
360(14'000)	sh	360(15'400)	359(12'600)	sh	358(12'900)
340(5'400)	min	339(5'900)	340(5'800)	min	340(6'000)
329(7'100)	sh	328(7'900)	329(7'900)	sh	329(8'200)
316(9'600)	max	317(10'500)	315(9'900)	max	316(10'500)
293(5'700)	min	293(6'600)	295(6'800)	min	295(7'300)
281(12'300)	max	281(13'400)	281(10'500)	max	281(11'000)

Abbildung	γ/α	2,48	2,52	2,63	2,62
		83	84	85	86

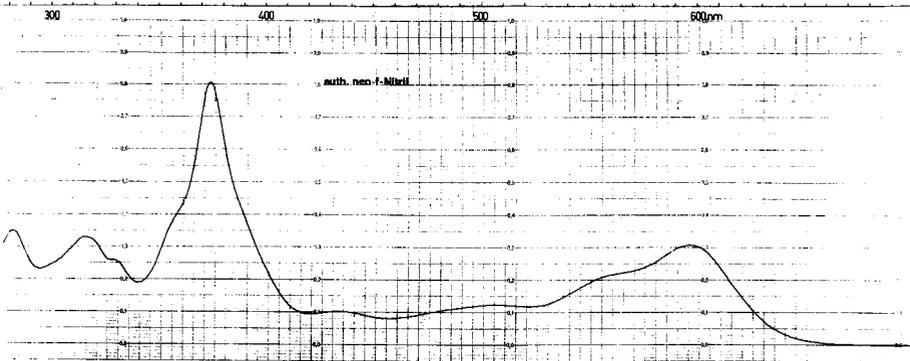


Abb. 86

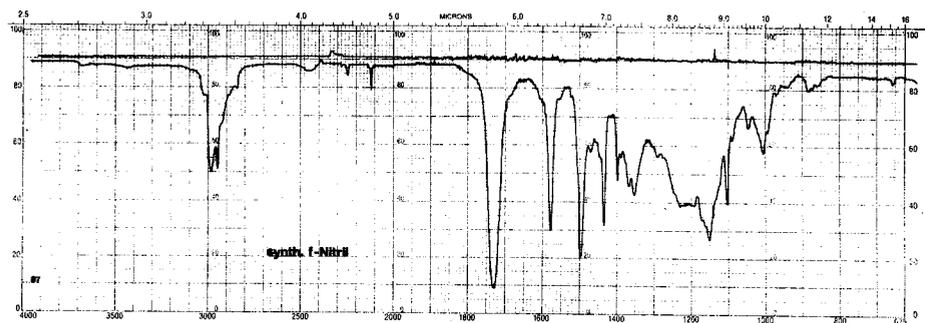


Abb. 87

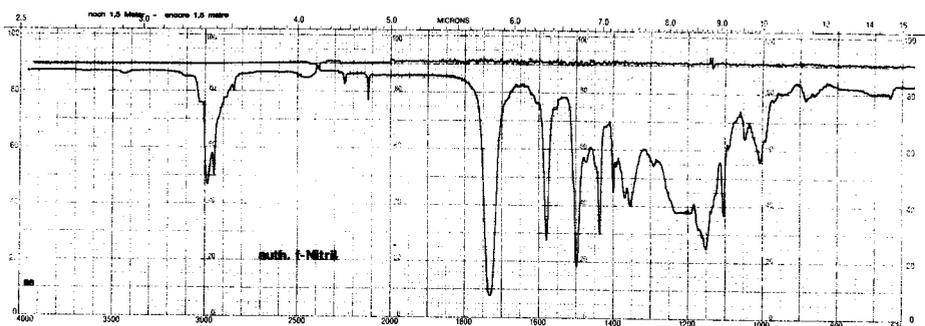


Abb. 88

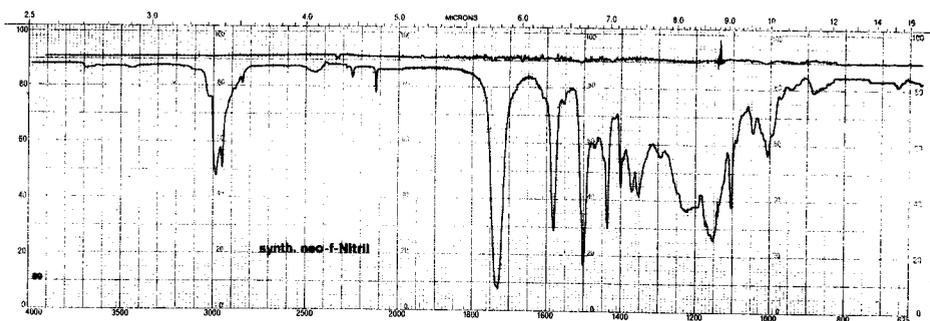


Abb. 89

IR (CHCl ₃) (wichtigste Banden)	ca. 2%-Lsg. in CHCl ₃ , Schichtdicke der Zellen: 0,2 mm			
	synth.f-Nitril	auth.f-Nitril	synth.neo- f-Nitril	auth.neo- f-Nitril
C-H	2990 m	2990 m	2990 m	2990 m
	2955 m	2955 m	2955 m	2955 m
CN	2250 w	2250 w	2250 w	2250 w
CoCN	2125 w	2125 w	2125 w	2125 w
COOCH ₃	1735 s	1735 s	1735 s	1735 s
Chromophor	1580 s	1580 s	1580 s	1580 s
	1500 s	1500 s	1500 s	1500 s
	1437 s	1437 s	1436 s	1436 s
	1400 m	1400 m	1400 m	1400 m
	1370 m	1370 m	1370 m	1370 m
	1355 m	1355 m	1350 m	1350 m
	1160 s	1160 s	1150 s	1150 s
	1104 s	1104 s	1104 s	1104 s
	1045 w	1045 w	1045 w	1045 w
	1004 m	1004 m	1004 m	1004 m
Abbildung	87	88	89	90

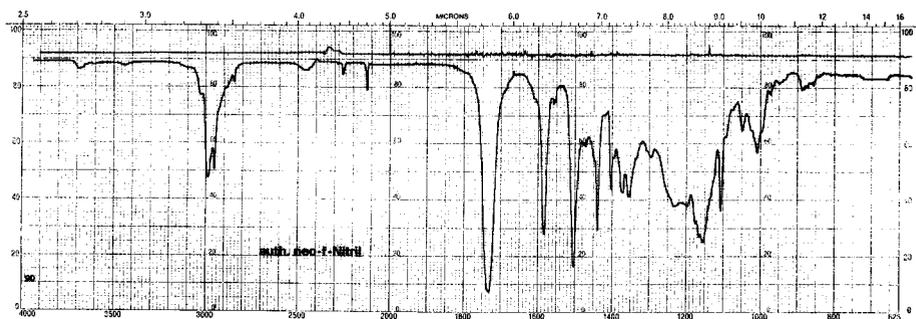


Abb. 90

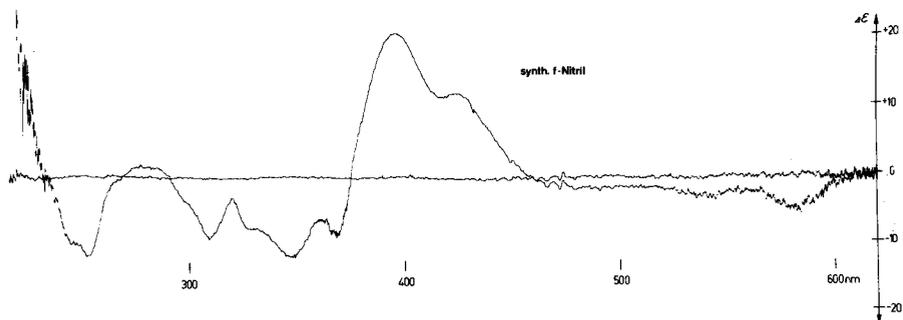


Abb. 91

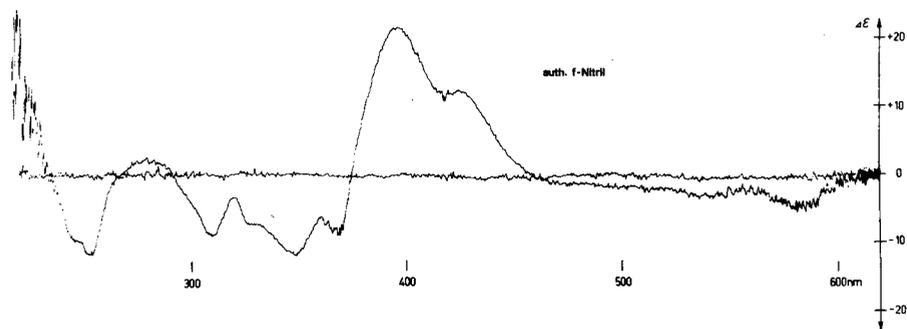


Abb. 92

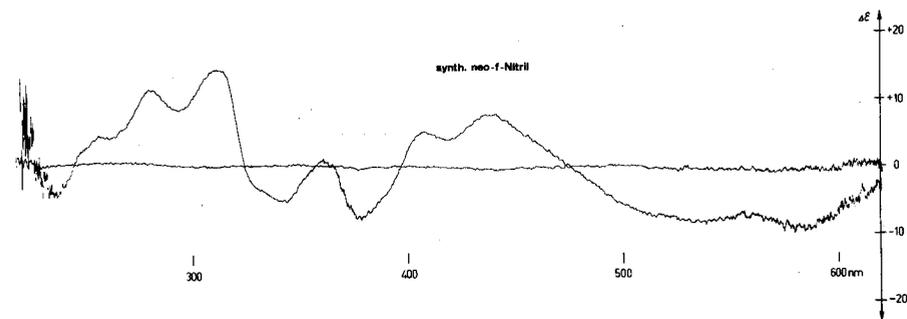


Abb. 93

CD (CH₃OH/
0,02% HCN)

$c = 6,36 \times 10^{-5}$ Mol/lit f-Nitril: $\epsilon(\text{CH}_3\text{OH}/585) = 11'000$
neo-f-Nitril: $\epsilon(\text{CH}_3\text{OH}/586) = 8'500$

synth.f-Nitril	auth.f-Nitril	synth.neo-f-Nitril	auth.neo-f-Nitril
583(-4,7)	583(-4,3)	583(-8,8)	583(-8,4)
557(-2,1)	558(-1,7)	558(-6,6)	558(-6,4)
540(-2,6)	539(-2,4)	538(-7,7)	538(-7,1)
		515(-7,0sh)	515(-6,8 sh)
460 [0.0]	462 [0.0]	475 [0.0]	478 [0.0]
425(+12,3)	425(+12,6)	439(+8,1)	439(+8,3)
418(+11,8)	420(+12,2)	419(+4,2)	418(+4,2)
		408(+5,2)	409(+5,2)
397(+20,8)	396(+21,6)	397 [0.0]	397 [0.0]
375 [0.0]	375 [0.0]	378(-7,5)	378(-7,0)
368(-8,2)	368(-8,5)	365 [0.0]	366 [0.0]
361(-6,3)	360(-6,4)	361(+0,8)	362(+0,8)
		358 [0.0]	358 [0.0]
347(-11,9)	348(-12,0)	343(-5,2)	342(-5,5)
328(-7,5 sh)	328(-7,4 sh)	330(-3,3sh)	330(-3,3 sh)
320(-3,0)	320(-3,5)	324 [0.0]	324 [0.0]
309(-8,9)	309(-9,0)	312(+14,6)	312(+14,6)
291 [0.0]	291 [0.0]	294(+8,2)	294(+8,2)
279(+1,5)	279(+2,1)	281(+10,9)	281(+11,5)
269 [0.0]	265 [0.0]	262(+3,6)	261(+3,7)
253(-11,9)	253(-11,6)	257(+3,9)	256(+3,8)
246(-9,9 sh)	246(-9,5 sh)	245 [0.0]	245 [0.0]
234 [0.0]	234 [0.0]	236(-4,4)	237(-4,7)

Nulllinien-

schwankung in $\Delta\epsilon$ ca. 1,0

ca. 1,0

ca. 2,0

ca. 2,0

Abbildung

91

92

93

94

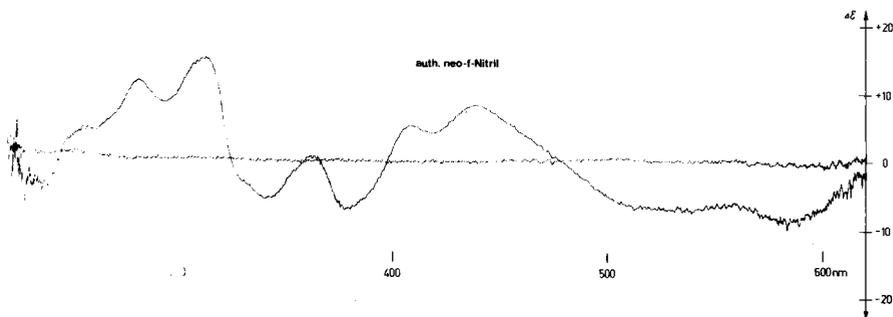


Abb. 94

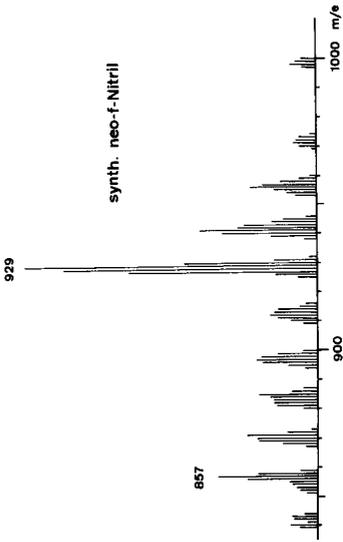


Abb. 97

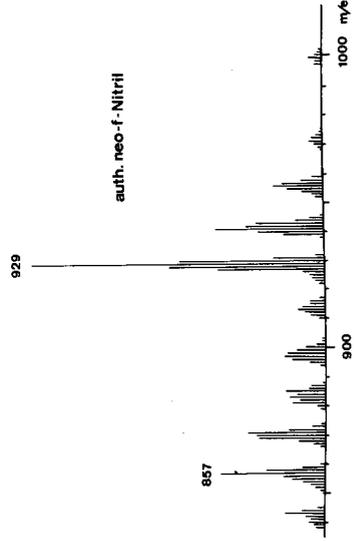


Abb. 98

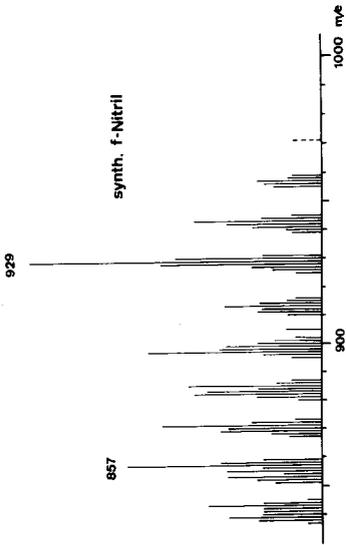


Abb. 95

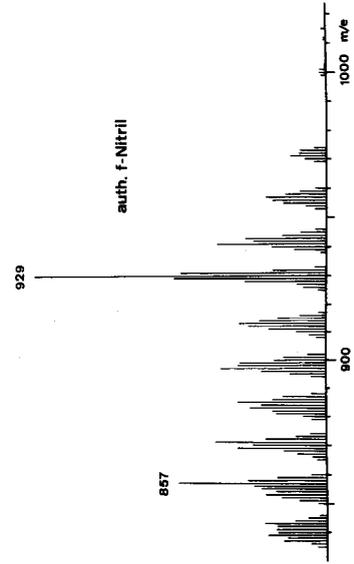


Abb. 96

MS

Basepeak: (M^+ - 2CN - CH_3COOCH_3) = 929 m/e

	synth. f-Nitril	auth. f-Nitril	synth. neo-f-Nitril	auth. neo-f-Nitril
	Di 190° C	Di 210° C	Di 190° C	Di 205° C
		(1000(3%))	(998(8%))	999(4%)
	(971(10%))	971(12%)	971(8%)	971(5%)
	957(22%)	957(21%)	956(23%)	956(17%)
	943(43%)	941(37%)	941(41%)	941(37%)
	929(100%)	929(100%)	929(100%)	929(100%)
	913(33%)	913(30%)	912(16%)	913(9%)
	897(60%)	897(36%)	897(21%)	897(14%)
	885(46%)	885(30%)	885(20%)	885(14%)
	871(55%)	871(38%)	871(24%)	871(27%)
	857(67%)	857(51%)	857(34%)	857(36%)
	843(39%)	843(21%)	843(9%)	843(14%)
	839(32%)	839(20%)		

im Spektrum	gemessene Höhe des Basepeaks	919 m/e		
in cm	0,9	16,0	2,0	13,2
Abbildung	95	96	97	98

Die geringe Intensität der Signale der synthetischen Proben hatte ihre Ursache darin, dass vom totalsynthetischen Material möglichst wenig verloren gehen sollte und deshalb nur je ca. 60 γ eingesetzt wurden. Bei den authentischen Proben wurden je ca. 200 γ verwendet. Umso erstaunlicher ist die gute Uebereinstimmung der normierten Spektren.

Durch die sehr gute Uebereinstimmung aller Spektren der beiden synthetischen Cobester-f-nitrile (C-13 α und β) mit denjenigen der authentischen, war die synthetische Reihe mit der natürlichen identifiziert, und es wäre möglich gewesen, von hier weg partialsynthetisch weiter zu arbeiten. Durch die Verbesserung der Trennmethode war es gegenüber dem New Delhi-Ansatz (S. 126) bereits eine Stufe früher möglich zu identifizieren, d.h. sofort nachdem das Kohlenstoffgerüst komplettiert worden war. Alle weiteren Transformationen bis zum Endpunkt, der Cobyrsäure, betreffen nur noch die Säurefunktionen der Seitenketten.

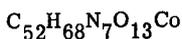
Um die erste Identifikation (New Delhi) mit 100 γ auf der Stufe des f-Amids (10) (S. 136) mit mehr Material bestätigen zu können, wurden die obigen synthetischen Proben der f-Nitrile (9) anschliessend noch durch Behandlung mit Schwefelsäure in die f-Amide (10) überführt (S. 206).

III 3.2.6. 5- oder 15-nor-Cobester-f-nitrile

Durch Reduktion mit Zinkamalgam in Essigsäure und anschließender Veresterung mit Diazomethan (vgl. S.181) konnten aus den eigentlichen mono-substituierten Produkten die entsprechenden nor-Cobester-f-nitrile erhalten werden. Da nur sehr geringe Substanzmengen (200 - 300 μ) zur Verfügung standen, konnten im wesentlichen nur die Elektronenspektren aufgenommen werden, die IR-Spektren waren im allgemeinen nur sehr schwach und wiesen deshalb nur eine geringe Signifikanz auf. Die Strukturzuordnungen für diese in nicht kristalliner Form isolierten Verbindungen werden zusammen mit den spektroskopischen Daten auf S. 203 diskutiert.

15-nor-Cobester-f-nitril- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ (17)

Erhalten durch Reduktion des 15-nor-5-Phenylthiomethyl-c-lacton-f-nitril-C-13-Epimerengemisches ($\alpha.\alpha / \alpha.\beta$ (15)) (vgl. S. 164), Ausbeute: ca. 40%



MG 1041

UV (C_6H_6)

qualitativ

581(0,383 max), 555(0,282 min), 549(0,284 max), 506(0,155sh), 450(0,091 min), 422(0,148 max), 410(0,126 min), 368(1,000max), 354(0,524 sh), 337(0,257 min), 325(0,350 max), 320(0,325min), 310(0,372 max), 291(0,278 min), 279(0,495 max).

$\gamma/\alpha = 2,60$

IR ($CHCl_3$)

normales Spektrum, aufgenommen mit 2%-iger Lsg.

2250 w (CN), 2120 w (CoCN), 1730 s ($COOCH_3$), (1635 w)/1596 m/1560 w/ 1520 m/ 1500 sh (Chromophor), 1437 m, 1392 m, 1367 m, 1150 s, 1099 m, 1040 w, 1006 m.

MS (Di 195⁰)
(Abb. 5)

961(26%), 947(31%), 931(55%), 915(68%, $M^+ - 2CN - CH_3COOCH_3$), 899(73%), 885(70%), 871(76%), 855(86%), 841(100%), 827(88%).

Beim Spektrum der gleichen Probe, das sofort nach Einführung der Probe bei 100⁰ C aufgenommen worden war, ist nur die Peakgruppe um 915 m/e zu erkennen, alle weiteren Gruppen sind nur andeutungsweise vorhanden.

DC

$R_f = 0,34$ (0,96) Referenzen:

f-Nitril: 0,30 (0,85)
Cobester-c-lacton: 0,27 (0,77)

Die beiden C-13-Epimere konnten mit LLC getrennt werden:

(S II, Kol.C, 42 ml/h) $\alpha\alpha\alpha$ -(17): $R_t = 21,9$ min (4'700, $k' = 6,3$)

$\alpha\alpha\beta$ -(17): $R_t = 22,8$ min (4'800, $k' = 6,9$)

Mengenverhältnis ca. 1:1

15-nor-Cobester-f-nitril- $\alpha\alpha\alpha$ (17)

UV (C ₆ H ₆) (Abb. 99)	qualitativ 581(0,388 max), 557(0,281 min), 546(0,295 max), 510(0,162 sh), 448(0,080 min), 421(0,146 max), 409(0,122 min), 368(1,000max), 336(0,253 min), 325(0,335 max), 320(0,317 min), 310(0,368max), 290(0,243 min), 278(0,440 max). $\gamma/\alpha = 2,58$
DC	R _f = 0,48 (0,92)

15-nor-neo-Cobester-f-nitril- $\alpha\alpha\beta$ (17)

UV (C ₆ H ₆) (Abb. 100)	qualitativ 580(0,369 max), 550(0,279 sh), 508(0,153 sh), 451(0,095 min), 421(0,145 max), 409(0,128 min), 368(1,000 max), 336(0,265min), 325(0,353 max), 319(0,325 min), 310(0,374 max), 290(0,279min), 278(0,452 max). $\gamma/\alpha = 2,70$
DC	R _f = 0,49 (0,93)

5-nor-Cobester-f-nitril- $\alpha\alpha\alpha$ (18)

Erhalten durch Reduktion des 5-nor-15-Phenylthiomethyl-cobester-c-lacton-f-nitrils $\alpha.\alpha$ (16) (Zone 3A S. 167), Ausbeute ca. 55%

UV (C ₆ H ₆) (Abb. 101)	qualitativ 584(0,413 max), 560(0,282 min), 547(0,308 max), 511(0,170 sh), 452(0,080 min), 422(0,150 max), 411(0,129 min), 369(1,000max), 337(0,268 min), 325(0,359 max), 320(0,349 min), 311(0,400max), 291(0,291 min), 278(0,540 max). $\gamma/\alpha = 2,42$
IR (CHCl ₃)	aufgenommen mit ca. 125 γ 2250 w (CN), 2120 w (CoCN), 1733 s (COOCH ₃), (1638 w?)/ 1590 m/ 1553 w/ 1510 m Breit (Chromophor), 1437 m, 1172 m, 1104 m.
DC	R _f = 0,21 (0,81) Referenzen: α uth.f-Nitril: R _f =0,22(0,85) Cobester-c-lacton: R _f =0,20(0,76)
LLC	(S II, Kol.C, 42 ml/h) R _t = 25,0 min (4'800, k'=7,3) einheitlich

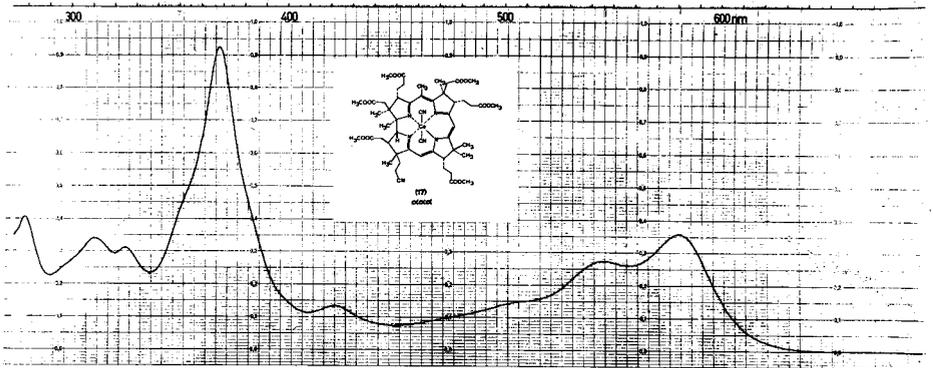


Abb. 99

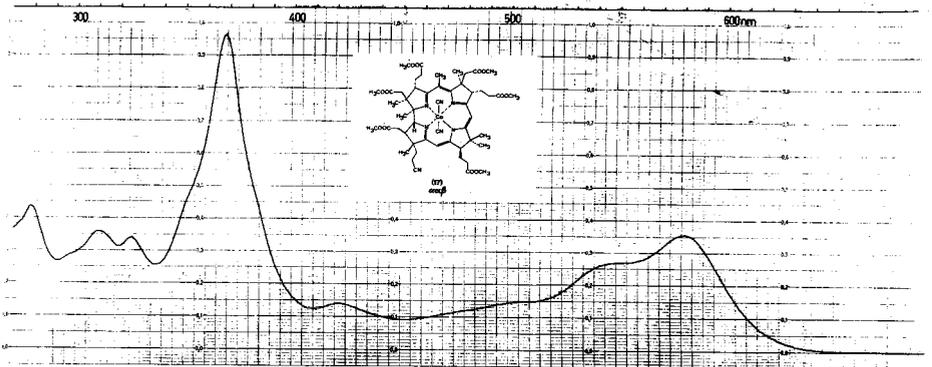


Abb. 100

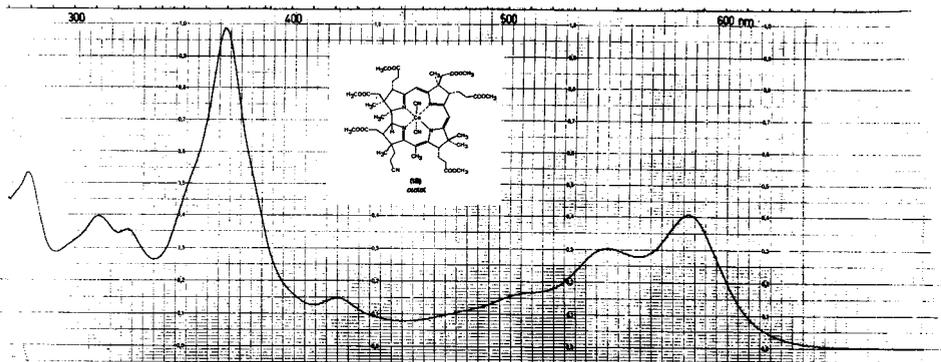


Abb. 101

5-nor-Cobester-f-nitril- $\alpha\alpha\beta$ (18)

Erhalten durch Reduktion des 5-nor-15-Phenylthiomethyl-neo-cobester-c-lacton-f-nitrils- $\alpha\beta$ (16) (Zone 3BII S. 167), Ausbeute ca. 65%.

UV (C_6H_6) qualitativ
(Abb. 102) 587(0,395 max), 554(0,268 sh), 514(0,135 min), 501(0,142max),
455(0,104 min), 427(0,146 max), 412(0,127 min), 369(1,000max),
337(0,367 min), 325(0,378 max), 320(0,346 min), 311(0,395max),
292(0,306 min), 289(0,466 max).
 $\gamma/\alpha = 2,53$

IR ($CHCl_3$) aufgenommen mit ca. 230 γ
2250 w (CN), 2120 w (CoCN), 1733 s (COOCH₃), 1640 w/
1592 m/ 1553 w/ 1510 m breit (Chromophor), 1437 m,
1174 m, 1104 m.

DC $R_f = 0,22$ (0,84) Referenzen: auth.f-Nitril: $R_f=0,22$ (0,85)
Cobester-c-lacton: $R_f=0,20$ (0,76)

LLC (S II, Kol.C, 42 ml/h) $R_f = 25,3$ min (4'900, $k' = 7,4$) ein-
heitlich. Gleichzeitig wie das $\alpha\alpha\alpha$ -Isomere (vgl.oben) aufgenom-
men.

5-nor-Cobester-f-nitril- $\beta\alpha\alpha$ (18)

Erhalten durch Reduktion des 5-nor-15-Phenylthiomethyl-c-lacton-f-nitrils- $\beta\alpha$
(16) (vgl. S. 177) Ausbeute: ca. 55%

$C_{52}H_{68}N_7O_{13}Co$ MG 1041

UV (C_6H_6) qualitativ
(Abb. 103) 589(0,405 max), 567(0,272 min), 550(0,320 max), 517(0,167 sh),
454(0,065 min), 427(0,149 max), 414(0,124 min), 372(1,000max),
357(0,545 sh), 340(0,261 min), 328(0,348 max), 323(0,325 min),
313(0,398 max), 292(0,295 min), 279(0,598 max).
 $\gamma/\alpha = 2,47$

IR ($CHCl_3$) aufgenommen mit ca. 130 γ
(2250 w (CN), 2120 w (CoCN)), 1733 s (COOCH₃), (1630 w/
1600 sh/), 1585 m/ (1550 w)/ 1510 m/ 1498 m (Chromophor),
1437 m, 1368 m, 1173 m, 1140 m, 1106 m.

DC $R_f = 0,46$ (0,90) Referenzen: f-Nitril: $R_f=0,48$ (0,93)
Cobester-c-lacton: $R_f=0,44$ (0,86)

(Reinheit nicht LLC geprüft!)

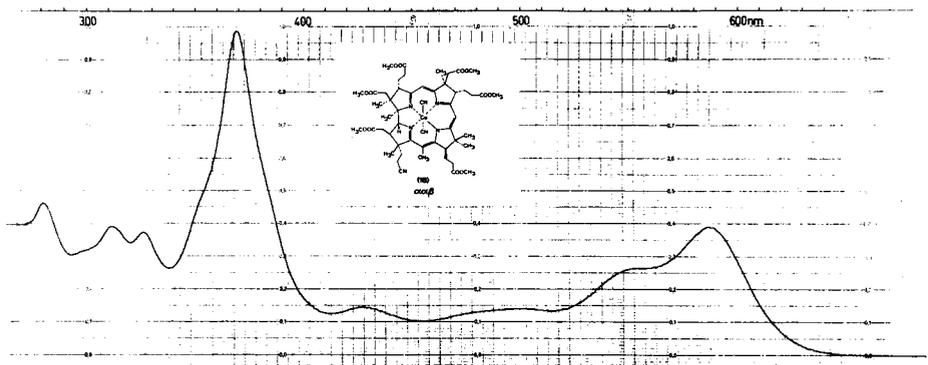


Abb. 102

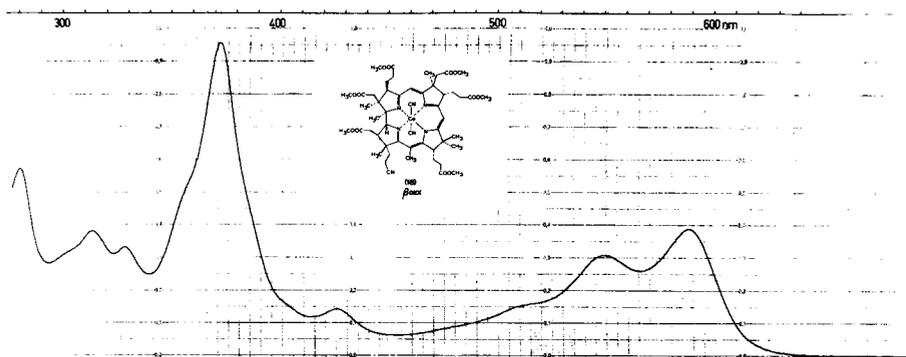


Abb. 103

5-nor-Cobester-f-nitril- $\beta\alpha\beta$ (18)

Erhalten durch Reduktion des 5-nor-15-Phenylthiomethyl-c-lacton-f-nitril- $\beta\beta$ (16)
(vgl. S. 175), Ausbeute: ca. 70%

$C_{52}H_{68}N_7O_{13}Co$

MG 1041

UV (C_6H_6)
(Abb. 104)

qualitativ
590(0,374 max), 567(0,286 min), 555(0,297 max), 514(0,158 sh),
456(0,103 min), 428(0,150 max), 416(0,135 min), 372(1,000 max),
358(0,371 sh), 340(0,296 min), 328(0,390 max), 322(0,365 min),
313(0,425 max), 294(0,358 min), 280(0,555 max).
 $\gamma/\alpha = 2,64$

IR (CHCl₃) aufgenommen mit ca. 250 μ
 2250 w (CN), 2120 w (CoCN), 1733 s (COOCH₃), 1630 w/
 1585 m/ 1550 w/ 1515 m/ 1500 sh (Chromophor), 1437 m,
 1370 m, 1175 m, 1140 m, 1107 m.

MS (Di 180°) 915(100%, M⁺ - 2CN - CH₃COOCH₃), 897(14%), 883(38%),
 869(92%), 855(53%), 841(28%), 839(28%).

DC R_f = 0,31(0,86) Referenzen: f-Nitril: R_f=0,30 (0,85)
 Cobester-c-lacton R_f=0,27 (0,77)

(Reinheit nicht LLC geprüft !)

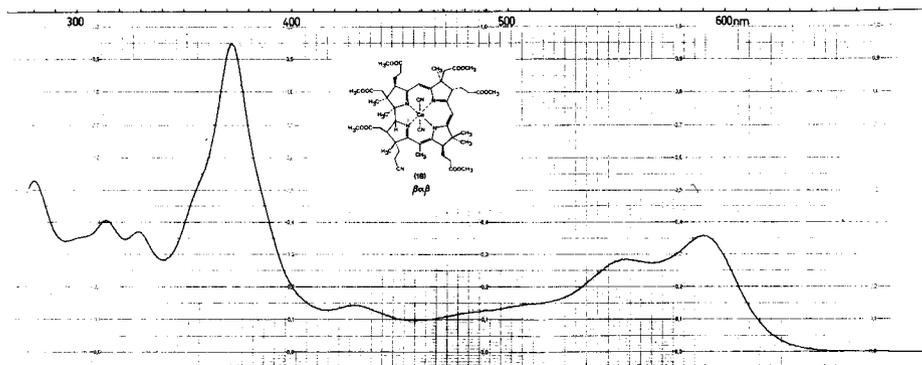


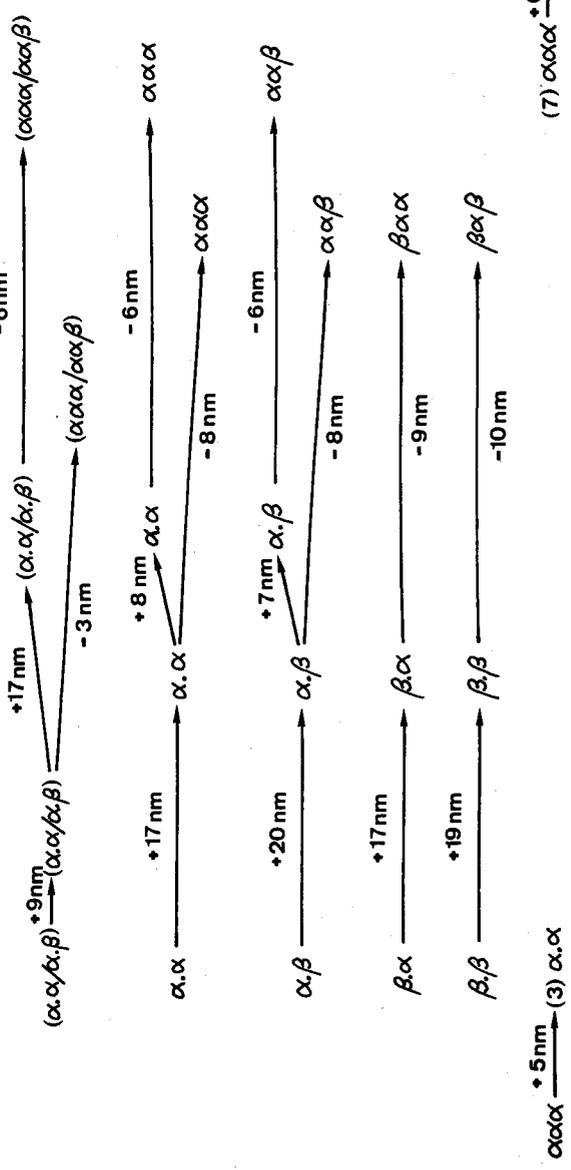
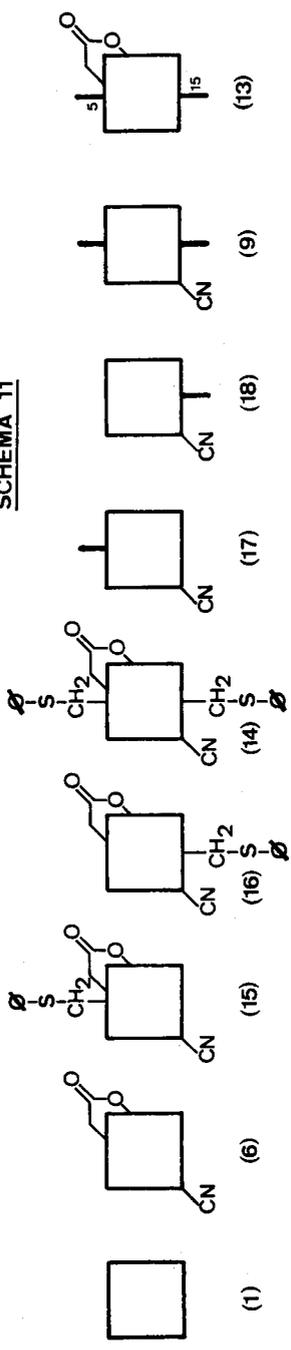
Abb. 104

Die Zuordnungen der nor-f-Nitrile und damit auch der entsprechenden Phenylthiomethyl-c-lacton-f-nitrile (vor der Reduktion) konnten in den Fällen des 15-nor-f-Nitril- $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ -Gemisches (bei dem das 15-nor-5-Phenylthiomethyl-c-lacton-f-nitril- $\alpha\alpha/\alpha\beta$ schon durch NMR, UV und IR charakterisiert war) und dem 5-nor-f-Nitril- $\beta\alpha\beta$ (bei dem die Konstitution aufgrund der Herstellung plausibel war) je durch ein Massenspektrum weiter gesichert werden (Basepeak: 915 m/e = M⁺ - 2CN - CH₃COOCH₃). Die weiteren Zuordnungen sind hauptsächlich durch die erwartungsgemäße Position der α -Bande im UV gerechtfertigt, wie das Schema 11 zeigt. Danach geben die Substituenten bausteinartig zu Verschiebungen der α -Bande im UV Anlass:

- | | |
|--|-------------|
| - Phenylthiomethyl an C-5 | ca. + 9 nm |
| - Phenylthiomethyl an C-15 | ca. + 18 nm |
| - Reduktion zu C-5-Methyl (inkl. Lactonreduktion) | ca. - 3 nm |
| - Reduktion zu C-15-Methyl (inkl. Lactonreduktion) | ca. - 9 nm |

Dabei verhalten sich die Komplexe, deren Konstitutionszuordnungen durch die unvollständige Charakterisierung der Phenylthiomethyl-f-nitrile unsicher waren, vollkommen den Erwartungen entsprechend. Bevor aber diese Produkte nicht auch noch durch NMR, IR, CD und MS charakterisiert sind, müssen diese Zuordnungen weiterhin als vorläufig betrachtet werden.

SCHEMA 11



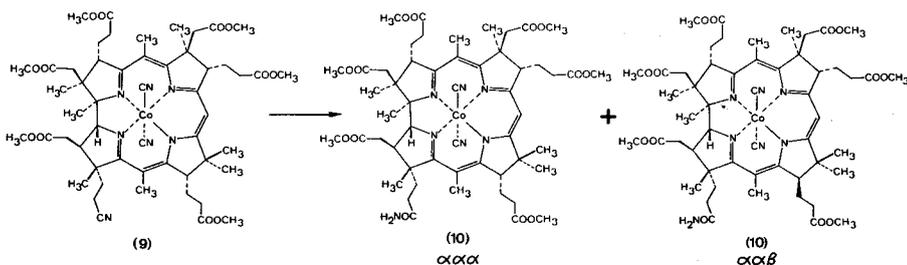
Bei den C-13-Epimeren der 5-nor- und 15-nor-f-Nitrilen werden in beiden Fällen ähnliche Unterschiede in der Strukturierung des VIS-Teils der Elektronenspektren beobachtet wie bei den f-Nitrilen (9) (5,15-Dimethyl). Da beim 5,15-bis-nor-Cobester-C-13-Gemisch (1) gegenüber dem $\alpha\alpha\alpha$ -Isomeren nur sehr geringe Unterschiede gefunden werden (vgl. Abb. 6a und 16), war eigentlich erwartet worden, dass durch die Methylgruppe an C-15 der grosse Unterschied in den UV-Spektren der 5,15-Dimethyl-C-13-Epimere bewirkt würde. Dies scheint nicht der Fall zu sein.

III 3.3. IDENTIFIKATION DER COBESTER -f- AMIDE

Totalsynthetisches Cobyrynsäure-hexamethylester-f-amid und neo-Cobyrynsäure-hexamethylester-f-amid (10)

(vgl. auch S. 134 und 240)

Die Proben des synthetischen f-Nitrils und des synthetischen neo-f-Nitrils (9) (vgl. S.) wurden nach der Identifikation je in einem einzigen Ansatz ins C-13-Epimerengemisch des f-Amids überführt. Mit den vereinigten Mutterlaugen der beiden Nitril-Proben wurde ein weiterer Ansatz durchgeführt. Nachdem mit UV und LLC nachgewiesen worden war, dass in allen drei Fällen das gleiche C-13-Epimerengemisch des f-Amids erhalten worden war, wurden die LLC-getrennten Proben der Ansätze vereinigt, kristallisiert und charakterisiert (vgl. die identischen Versuchsreihen bei der Darstellung der auth. Vergleichsprodukte S. 243).



1,17 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/594) = 12'000$) synthetisches f-Nitril (aus Charakterisierung) wurden mit Chloroform in ein Glühröhrchen transferiert und das Lsm. mit Argon abgeblasen. Während 60 h wurde der Rückstand am HV (0,01 Torr) bei RT über P_2O_5 getrocknet. Unter Argon *81 wurden ca. 0,2 ml konz. Schwefelsäure *82 zugegeben und durch die gelbbraune Lsg. mit einer Kapillare während 90 min bei RT ein feiner Argonstrom durchgeleitet (Glühröhrchen mit Alufolie vor Licht geschützt). In einem 100 ml Rundkolben waren 10 ml Methylenechlorid und 10 ml gesättigte KHCO_3 -Lsg. (ca. 2 N) auf 0°C vorgekühlt worden.

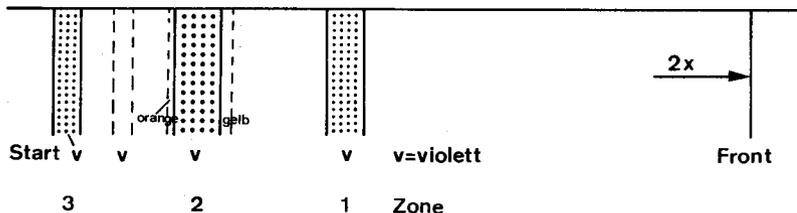
Die Schwefelsäurelsg. wurde unter heftigem Rühren tropfenweise zum Phasengemisch gegeben (rote Lsg.), das Glühröhrchen noch zweimal mit 100 μl konz. Schwefelsäure und anschliessend mit wenig Wasser gewaschen und diese Lösungen ebenfalls zum Bicarbonat/Methylenechlorid-Gemisch gegeben.

*81) Argon (spezial, Sauerstoff und Wasserstoffwerk AG, Luzern) wurde über BTS-Katalysator (BASF), Blaugel, CaCl_2 und durch eine Waschflasche mit konz. Schwefelsäure geleitet.

*82) konz. Schwefelsäure *11, vorher durch Durchleiten von Argon *81 während 3 h entgast.

Mit 5 ml CH_2Cl_2 und ca. 5 ml H_2O wurde das Gemisch in einen Scheidetrichter transferiert, und sofort wurden 15 ml gesättigte $\text{KCl}/0,1\% \text{ KCN}$ -Lsg. zugegeben und ausgeschüttelt (Farbwechsel nach violett). Die CH_2Cl_2 -Lsg. wurde zweimal mit der gesättigten $\text{KCl}/0,1\% \text{ KCN}$ -Lsg. gewaschen, die wässrigen Phasen wurden noch zweimal mit 5 ml CH_2Cl_2 extrahiert und die organischen Auszüge durch Watte filtriert. Das Filtrat wurde am Rotovap vollständig eingengt und die Chromophorausbeute UV-spektroskopisch bestimmt. Rohausbeute: $0,930 \mu\text{Mol}$ ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/592) = 10'500$) 79,5%

Dieses Rohprodukt wurde auf einer Dünnschichtplatte chromatographiert:



Das Silicagel der Zonen 1 - 3 wurde je mit Methanol/Methylenchlorid extrahiert (Zone 1 und 2: 1:9, Zone 3: 1:1) und die Filtrate am Rotovap bis zur Trockene eingengt. Die Anteile wurden spektroskopisch bestimmt:

Zone 1: f-Nitrile: $0,074 \mu\text{Mol}$ ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/594) = 10'500$) 6,4%
 Zone 2: f-Amide: $0,735 \mu\text{Mol}$ ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/592) = 10'500$) 63,0%
 Zone 3: "Säuren": $0,059 \mu\text{Mol}$ ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/590) = 10'500$) 5,0%

Uebersicht über die beiden andern Ansätze

neo-f-Nitril: $2,53 \mu\text{Mol}$ ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/597) = 9'800$) in 0,3 ml konz. H_2SO_4 umgesetzt.

Rohausbeute: $2,03 \mu\text{Mol}$ ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/592) = 10'500$) 80%

nach DC: Zone 1: f-Nitrile: $0,189 \mu\text{Mol}$ ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/595) = 10'500$) 7,5%
 Zone 2: f-Amide: $1,62 \mu\text{Mol}$ ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/593) = 10'500$) 64,0%
 Zone 3: "Säuren": $0,118 \mu\text{Mol}$ ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/588) = 10'500$) 4,7%

Mutterlaugen:

Vereinigtes Material aus den Mutterlaugen 1-3 des synth. f-Nitrils (S.185) und den Mutterlaugen 1-3 des synth. neo-f-Nitrils (S.186) der Kristallisationen vor der Identifikation der f-Nitrile (S. 187).

$1,11 \mu\text{Mol}$ Gemisch aus $0,546 \mu\text{Mol}$ ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/594) = 12'000$) ML 1-3 f-Nitril u. $0,566 \mu\text{Mol}$ ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/597) = 9'800$) ML 1-3 neo-f-Nitril

wurden in 0,2 ml konz. Schwefelsäure umgesetzt.

Rohausbeute: $0,924 \mu\text{Mol}$ ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/592) = 10'500$) 83%
 nach DC: Zone 1: f-Nitrile: $0,074 \mu\text{Mol}$ ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/595) = 10'500$) 6,7%
 Zone 2: f-Amide: $0,587 \mu\text{Mol}$ ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/592) = 10'500$) 53,0%
 Zone 3: "Säuren": $0,071 \mu\text{Mol}$ ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/588) = 10'500$) 6,4%

Die aus den drei Ansätzen zusammengenommenen zurückgewonnenen f-Nitrile (UV-spektroskopisch in allen Fällen ein C-13-Isomerenmisch, d.h. das f-Nitril isomerisiert während der Schwefelsäurebehandlung ebenfalls) zeigten im IR keine Amidbande und nur die schwache Bande für das f-Nitril wie im Edukt (Eine Verlängerung der Reaktionszeit ist nicht ratsam, da die Chromophorausbeute kleiner wird).

Um mehr f-Amide isolieren zu können, wurde das Material der Zone 3, die sog. "Säuren", zusammengenommen und in Methylenchlorid mit Diazomethan verestert. Dadurch konnte gleichzeitig auch gezeigt werden, dass es sich um unspezifisch hydrolysierte Komplexe handelt (Methylester irgend einer Seitenkette hydrolysiert):

Die vereinigten "Säuren" ($0,248 \mu\text{Mol}$ ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/588) = 10^500$) wurden in 4 ml CH_2Cl_2 aufgenommen und einmal gegen 0,1 N H_2SO_4 /halb gesättigte KCl-Lsg. und einmal gegen gesättigte KCl/0,1% KCN-Lsg. ausgeschüttelt. Die organischen Auszüge (wässrige Phasen zweimal mit CH_2Cl_2 gewaschen) wurden durch Watte filtriert und das Filtrat am Rotovap vollständig eingeeengt. Nach dem Trocknen am HV während 15 min bei RT wurde in ca. 1 ml CH_2Cl_2 aufgenommen und die Lsg. mit 2 Tropfen 0,5 N CH_2N_2 in Aether *45 versetzt. Nach 30 sec Stehenlassen bei RT wurde am Rotovap bis zur Trockene eingeeengt und der Rückstand auf einer Dünnschichtplatte chromatographiert. Die Zone mit dem gleichen R_f wie das f-Amid wurde ausgekratzt und das Silicagel mit $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1:8) extrahiert:
 $0,14 \mu\text{Mol}$ ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/592) = 10^500$) 57% f-Amide.

Die f-Amid-Gemische der drei Schwefelsäureansätze und des Veresterungsexperiments wurden zeitlich hintereinander durch LLC (in je 2-3 Einspritzungen) aufgetrennt. Abbildung 105 zeigt das LLC-Chromatogramm des f-Amid-Gemisches aus dem f-Nitril-Ansatz, die LLC-Chromatogramme der drei andern Ansätze sind völlig analog, insbesondere stimmten die entsprechenden Retentionszeiten ausgezeichnet überein.

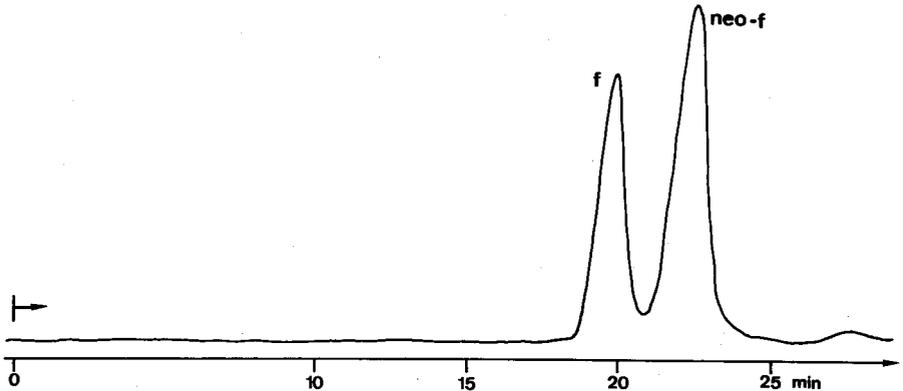


Abb. 105

Das gleiche gilt für die entsprechenden UV-Spektren. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle dargestellt, die Mengen wurden mit $\epsilon(C_6H_6/592) = 12'000$ für das f-Amid und mit $\epsilon(C_6H_6/593) = 9'800$ für das neo-f-Amid berechnet.

LLC (S I, Kol. A, 87 ml/h) f-Amid: $R_t = 20,0$ min (3'200, $k' = 3,10$) $R_s = 1,58$
 neo-f-Amid: $R_t = 22,3$ min (3'800, $k' = 3,55$)

Versuch	f-Amid (μ Mol)	neo-f-Amid (μ Mol)	Verhältnis
f-Nitril	0,232	0,473	33:67
neo-f-Nitril	0,446	1,095	29:71
Mutterlaugen	0,192	0,338	36:64
Veresterung	0,050	0,090	36:64
Total	0,920	1,996	32:68

Nachdem sowohl nach LLC und UV in allen Versuchen die zwei gleichen Produkte erhalten worden waren, wurde das entsprechende Material zusammengekommen und beide Proben in CH_2Cl_2 zweimal gegen gesättigte $KCl/0,1\%$ KCN-Lsg. ausgeschüttelt. Darauf wurden die Anteile nochmals UV-spektroskopisch bestimmt:

synthetisches f-Amid: 0,906 μ Mol	($\epsilon(C_6H_6/590) = 12'000$)	Verhältnis: $\frac{18,8\%}{30:70}$	+ 43,2% + 62,0% ⁺
synth. neo-f-Amid: 2,08 μ Mol	($\epsilon(C_6H_6/592) = 9'800$)		

+ Ausbeute bzgl. der Summe der eingesetzten f-Nitrile

Kristallisation

Die beiden Proben (synth. f-Amid: 0,906 μ Mol, synth. neo-f-Amid: 2,08 μ Mol), die nach LLC einheitlich nach UV und IR sehr rein waren (bzgl. nicht corrinoiden Verunreinigungen, z.B. im IR nur wenig intensivere Banden zwischen 3000 und 2900 cm^{-1}), konnten aus Methylacetat/Hexan nicht spontan kristallisiert werden (vgl. die spontane Kristallisation der 100 μ S. 136). Beide f-Amide wurden nach 4 Tagen mit erfolglosen Versuchen noch auf einer Dünnschichtplatte chromatographiert. Das Silicagel der jeweiligen Corrinzone wurde mit $MeOH/CH_2Cl_2$ extrahiert, das Filtrat am Rotovap vollständig eingengt und der Rückstand während 1 h am HV getrocknet. Darauf wurde in 5 ml Methylenchlorid aufgenommen und die Lsg. zweimal mit gesättigter $KCl/0,1\%$ KCN-Lsg. gewaschen, die organischen Auszüge (wässrige Phasen zweimal mit CH_2Cl_2 extrahiert) durch Watte filtriert und das Filtrat erneut zur Trockene eingengt. Anschliessend wurde noch aus 4 ml Benzol *68 eingedampft und der Rückstand während 3 h am HV bei RT getrocknet. Mit möglichst wenig Methanol *67 wurde unter Filtration durch Watte transferiert und nach Zugabe von 3 ml Benzol *68 am Rotovap vollständig eingengt. Nach dem Trocknen am HV während 1 h bei RT wurde die Kristallisation erneut versucht:

-synth. f-Amid:

Nach dem Lösen in ca. 0,5 ml Methylacetat *27 wurden ca. 0,7 ml Hexan zugegeben und die Lsg. bei RT stehengelassen. Da nach 24 h noch keine Kristalle beobachtet wurden, wurde die Lsg. mit einer von Auge nicht sichtbaren Menge *83 an synth. New-Delhi-f-Amid (vgl. S. 136) angeimpft. Darauf erfolgte die Kristallisation sehr rasch, und nach ca. 30 min war das Material schon fast vollständig auskristallisiert. Nach 12 h wurde die Mutterlauge abpipettiert und die Substanzmengen spektroskopisch bestimmt:

(eingesetzt: 0,906 μMol vor Dünnschichtchromatographie)

Kristalle: 0,763 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/592) = 12'000$) (spektroskopisch bestimmt vor Umkristallisation)

ML 1: 0,058 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/591) = 12'000$)

Diese Kristalle (rote Nadeln) wurden mit 0,400 μMol kristallinem synth. f-Amid aus einem früheren Versuch *84 zusammen noch zweimal aus Methylacetat/Hexan umkristallisiert (1,16 μMol eingesetzt, ML 2:0,055 μMol , ML 3: 0,022 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/592) = 12'000$)) und die Kristalle nach Abpipettieren der letzten Mutterlauge während 48 h am HV (0,05 Torr) über P_2O_5 getrocknet (ca. 1,09 μMol = ca. 1,1 mg). Darauf wurde das NMR-Spektrum aufgenommen, nach dem Einengen der CDCl_3 -Lsg. wurde nochmals aus 1 ml CHCl_3 eingengt und der ölige Rückstand während 15 min am HV bei RT getrocknet. Darauf wurde das IR-Spektrum aufgenommen und anschliessend das f-Amid wieder aus Methylacetat/Hexan kristallisiert (ML 4:0,024 μMol) und die Kristalle während 15h am HV (ca. 0,1 Torr) über P_2O_5 getrocknet. Darauf wurde das UV-Spektrum, anschliessend das CD aufgenommen und die LLC-Identifikation durchgeführt. Nach Aufnahme der Spektren wurde das Material wieder kristallisiert (Museumskristalle).

*83) Der Spatel berührte die Kolbenwand mit den Kristallen, und ohne dass daran eine von Auge sichtbare Menge Material hängengeblieben wäre, wurde darauf an der Glaswand des Kristallisationskolbens gekratzt, worauf die Kristallisation sofort einsetzte.

*84) Aus einer Versuchsreihe (Sommer 1972), die nach derjenigen der S.126-141 (New Delhi) durchgeführt worden war: Alkylierung mit Chlormethylbenzyläther in Gegenwart von Lithiumchlorid in Acetonitril; Reduktion des C-13-Epimerengemisches von (14) mit Zinkamalgam in Essigsäure und Behandlung des C-13-Gemisches des f-Nitrils (1,36 μMol) mit konz. H_2SO_4 . Durch zweimalige Nachbehandlung des neo-f-Amids (+ zurückgewonnene f-Nitrile) mit konz. H_2SO_4 konnten 0,491 μMol (36%) f-Amid (neben noch 15% neo-f-Amid) isoliert werden. Das f-Amid war zweimal aus Methylacetat/Hexan kristallisiert worden, ein IR-Spektrum (als Ergänzung zur New Delhi-Identifikation, vgl. S. 136) aufgenommen (identisch mit IR-Spektrum des auth. f-Amids) und anschliessend wieder kristallisiert worden.

synth. neo-f-Amid:

Nach dem Lösen in ca. 0,7 ml Methylacetat *27 wurden ca. 1,0 ml Hexan zugegeben und die Lsg. bei RT stehengelassen. Nachdem nach 24 h keine Kristalle beobachtet worden waren, wurde mit einer von Auge nicht sichtbaren Menge *83 an auth. neo-f-Amid angeimpft, worauf die Kristallisation sehr rasch erfolgte. Nach 12 h wurde die Mutterlauge abpipettiert und die Substanzmengen spektroskopisch bestimmt:

(eingesetzt: 2,08 μMol vor Dünnschichtchromatographie !)

Kristalle: 1,71 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/593) = 9'800$) (Schwarz-violette Nadeln)

ML 1: 0,16 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/592) = 9'800$)

Das kristalline neo-f-Amid wurde zweimal aus Methylacetat/Hexan umkristallisiert und die Probe gleich wie beim f-Amid für die Aufnahme der Spektren vorbereitet. (Kristalle: ca. 1,64 μMol = ca. 1,7 mg, ML 2: 0,033 μMol , ML 3: 0,035 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/593) = 9'800$)). Nach Aufnahme der NMR- und IR-Spektren wurde nochmals umkristallisiert (ML 4: 0,057 μMol). Am Ende der Identifikation wurde erneut kristallisiert (Museumskristalle).

Authentisches Vergleichsmaterial

1,2 mg auth. f-Amid, durch partielle Ammonolyse von Cobester hergestellt, (vgl. S. 226, 4 x kristallisiert aus Methylacetat/Hexan), und 1,7 mg auth. neo-f-Amid (vgl. S. 240, 5 x kristallisiert aus Methylacetat/Hexan) wurden parallel zur zweiten Umkristallisation der synthetischen Proben (d.h. ungefähr gleiche Mengen in beiden Fällen) nochmals umkristallisiert. Die nachfolgende Behandlung (Trocknung und weitere Umkristallisation nach dem IR-Spektrum) erfolgte immer parallel und unter den identischen Bedingungen wie beim synthetischen Material.

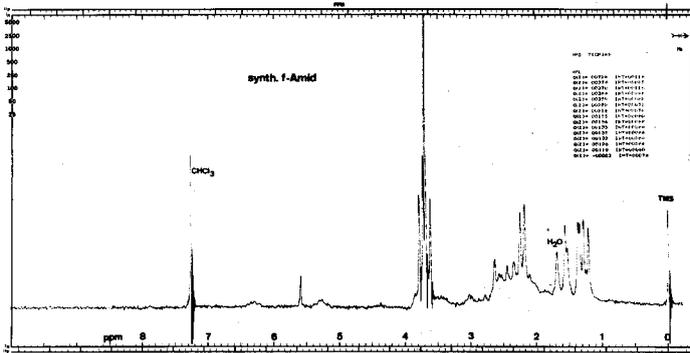


Abb. 106

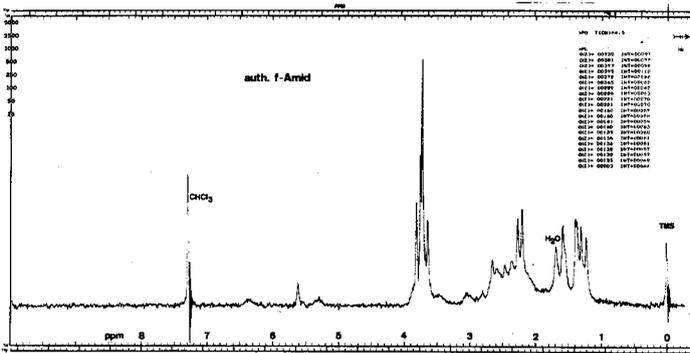


Abb. 107

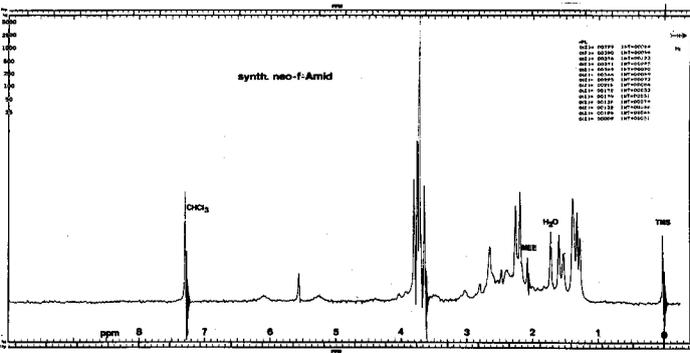


Abb. 108

Identifikationsspektren

Cobester-f-amid und neo-Cobester-f-amid

NMR (CDCl₃) aufgenommen auf Varian XL-100 mit Varian Computer 620 L, *85 CAT, je 20 scans. *17
 Substanz in Mikrozelle 120 µl (f-Amid: ca. 1,1 mg, neo-f-Amid: 1,6 mg)

	synth.f-Amid	auth.f-Amid	synth.neo-f-Amid	auth.neo-f-Amid
NH	6,32 ppm	6,34	6,07	6,05
H-C-10	5,60	5,60	5,53	5,54
NH	5,30	5,30	5,24	5,22
Ester	3,79	3,79	3,78	3,78
	3,73	3,72	3,72	3,73
	3,69(3)	3,69(3)	3,69(3)	3,70(3)
	3,62	3,62	3,62	3,62
CH ₃ -C-5	2,25	2,25	2,23	2,24
CH ₃ -C-15	2,19	2,18	2,16	2,17
Methyl	1,58	1,57	1,57	1,58
	1,54	1,53	1,50	1,51
	1,38	1,37	1,36(2)	1,36(2)
	1,35	1,35		
	1,29	1,29	1,30	1,30
	1,22	1,22	1,26	1,26
H ₂ O (ca. 1,5-2 Mol)	1,71	1,70	1,70	1,67
Methylacetat	-	-	2,05	2,06

(je ca. 0,3 Mol, das zweite Signal bei ca. 3,6 ppm konnte nicht direkt beobachtet werden)

Abbildung	106	107	108	109
-----------	-----	-----	-----	-----

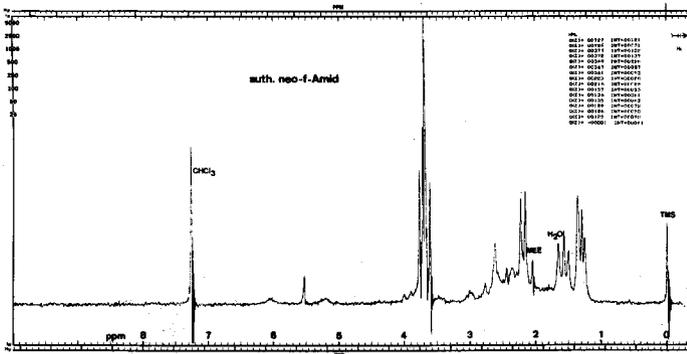


Abb. 109

*85) Das kristalline f-Amid (und neo-f-Amid) war im Gegensatz zum amorphen in C₆D₆ nur schlecht löslich (vgl. S. 234).

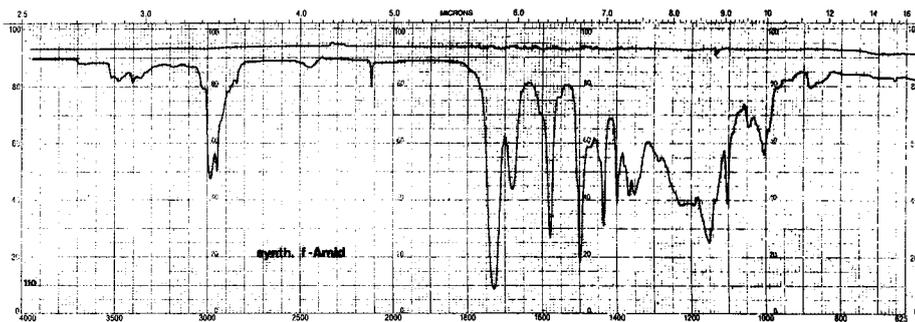


Abb. 110

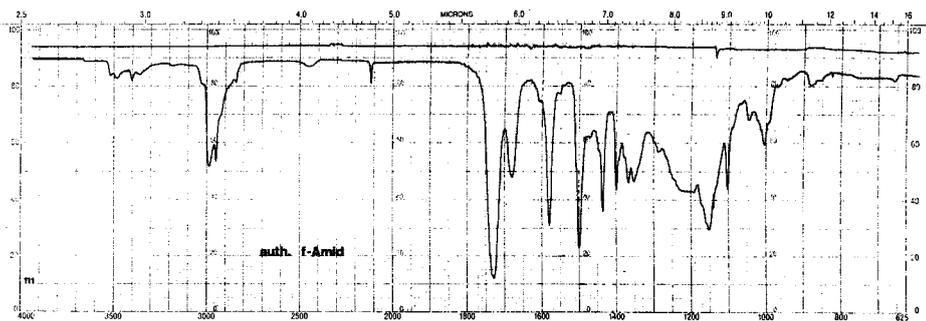


Abb. 111

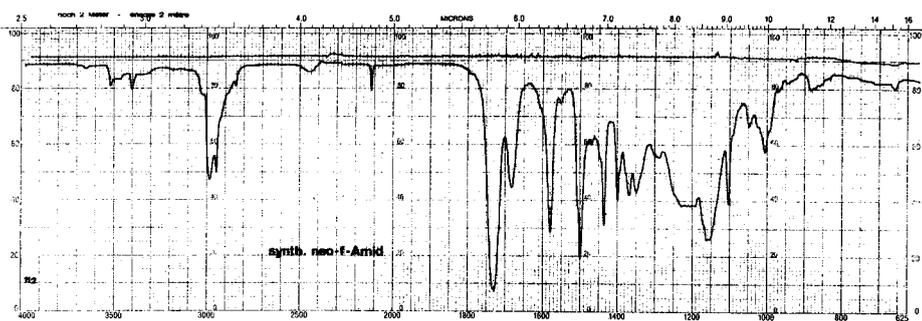


Abb. 112

IR (CHCl₃)

ca. 2%-ige Lsg., Schichtdicke der Zellen: 0,2 mm

(wichtigste Banden)	synth.f- Amid	auth.f-Amid	synth.neo-f-Amid	auth.neo-f-Amid
NH	3520 w	3520 w	3518 w	3515 w
	3480 w	3485 w	3480 w sh	3480 w sh
	3405 w	3405 w	3405 w	3403 w
	3360 w	3360 w		
C-H	2985 m	2985 m	2985 m	2985 m
	2950 m	2950 m	2950 m	2950 m
Co-CN	2118 w	2118 w	2118 w	2118 w
COOCH ₃	1730 s	1730 s	1730 s	1730 s
Amid	1680 m	1680 m	1682 m	1682 m
Chromophor	1580 s	1580 s	1580 s	1580 s
	1500 s	1500 s	1500 s	1500 s
	1435 m	1435 m	1435 m	1435 m
	1398 m	1398 m	1398 m	1398 m
	1365 m	1367 m	1368 m	1368 m
	1351 m	1352 m	1350 m	1350 m
	1150 s	1152 s	1157 s	1157 s
	1103 m	1102 m	1103 m	1102 m
	1045 w	1045 w	1048 w	1047 w
	1005 m	1005 m	1005 m	1005 m
Abbildung	110	111	112	113

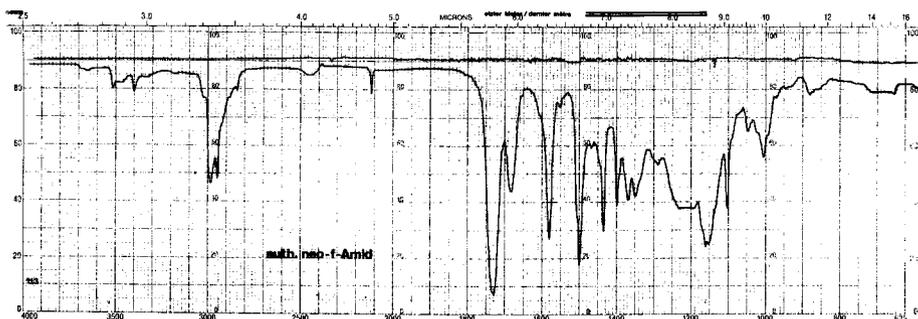


Abb. 113

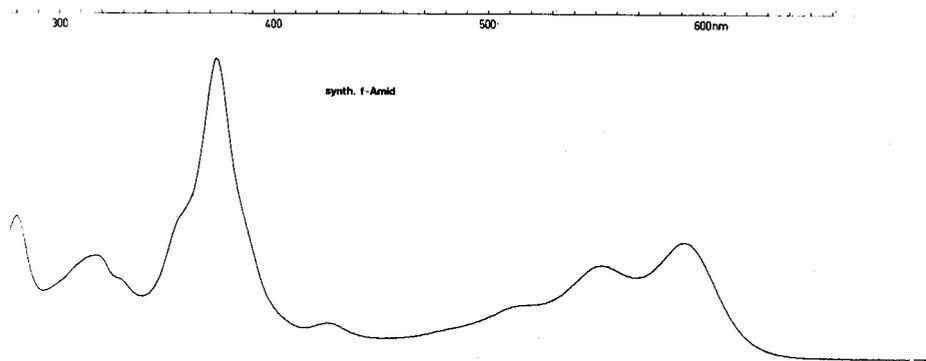


Abb. 114

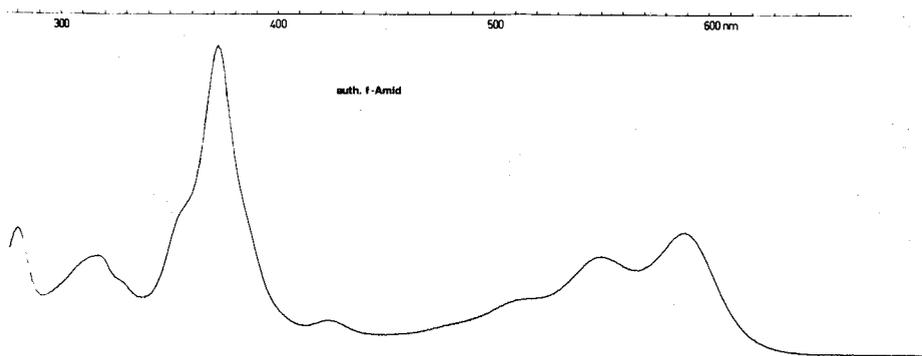


Abb. 115

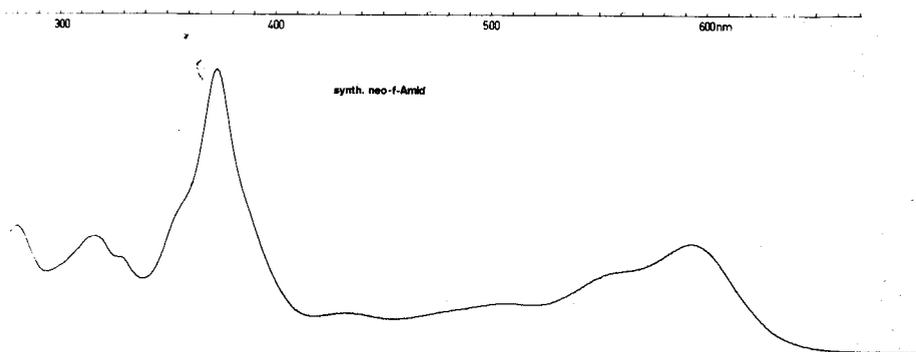


Abb. 116

UV (C₆H₆)

synth. f-Amid	auth. f-Amid *86	synth. neo- f-Amid	auth. neo- f-Amid
335 γ in 10 ml	1,71 mg in 50 ml	377 γ in 10 ml	378 γ in 10 ml
(Ablesegenauigkeit ca. \pm 1 nm)			
592(11'300)	max591(11'800)	593(9'400)	max593(9'400)
569(7'900)	min 568(8'100)	561(7'000)	sh561(7'100)
553(9'000)	max550(9'400)	520(4'000)	min 520(4'150)
518(5'100)	sh515(5'300)	508(4'100)	max508(4'250)
451(1'800)	min 449(2'100)	455(2'700)	min 455(2'750)
425(3'200)	max424(3'200)	433(3'150)	max434(3'300)
414(2'800)	min 413(2'700)	419(2'900)	min 418(2'950)
373(29'200)	max372(29'800)	373(25'000)	max373(25'000)
358(14'400)	sh357(14'300)	357(13'000)	sh357(13'100)
339(5'800)	min 337(5'400)	339(6'300)	min 339(6'600)
327(7'600)	sh327(7'100)	328(8'150)	sh328(8'400)
318(9'900)	max317(9'400)	316(10'050)	max316(10'100)
292(6'400)	min 291(5'600)	294(6'900)	min 294(7'000)
280(13'700)	max280(12'100)	280(11'200)	max280(10'800)

	γ/α 2,58	2,52	2,65	2,65
Abbildung	114	115	116	117

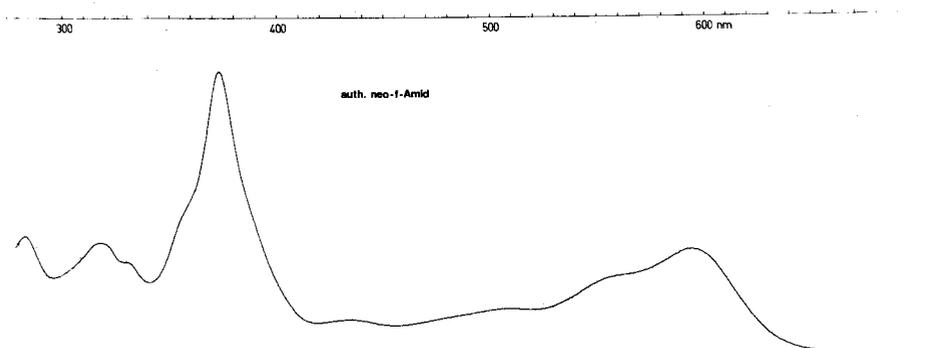


Abb. 117

*86) Die eigentliche Referenzprobe konnte nicht abgewogen werden, da die Kristalle elektrostatisch aufgeladen waren und nicht transferiert werden konnten. Deshalb wurde das Spektrum der extra zubereiteten Referenzprobe qualitativ unter Adjustierung der optischen Dichte aufgenommen; es war mit dem Spektrum der synth. Probe deckungsgleich. Die oben angegebenen Werte (inkl. Abb. 115) stammen von einer früheren Aufnahme mit dreimal kristallisiertem Material (vgl. S. 233).

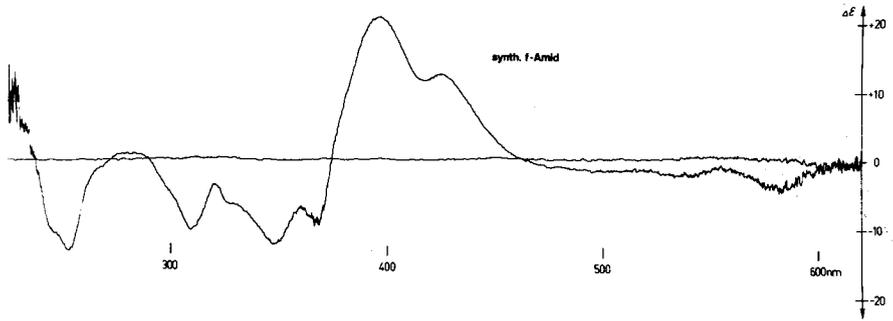


Abb. 118

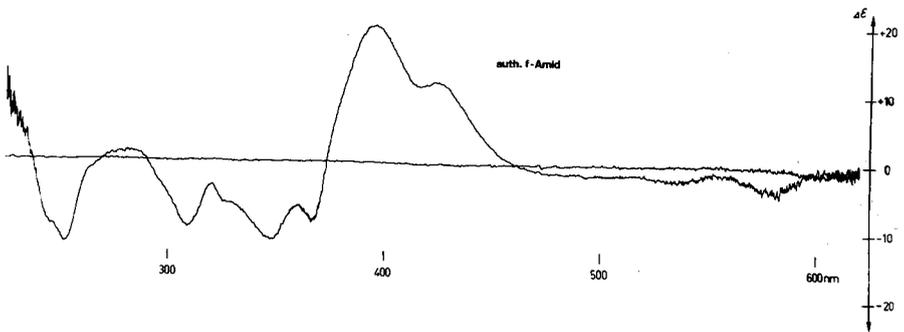


Abb. 119

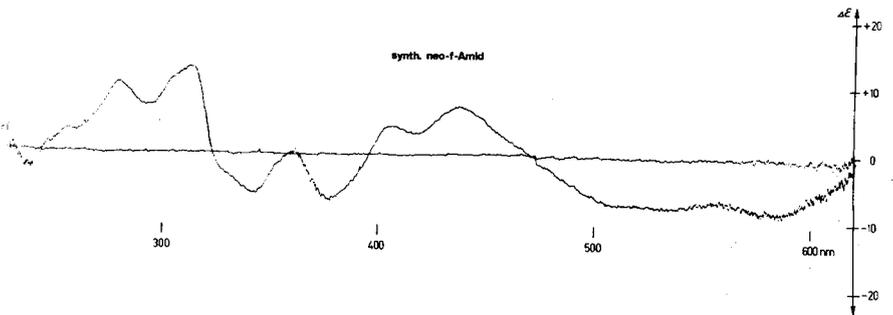


Abb. 120

CD (CH₃OH/
0,02% HCN)

c = 6,35 x 10⁻⁵ Mol/lit

f-Amid: $\epsilon(\text{CH}_3\text{OH}/584)=11'000$
neo-f-Amid: $\epsilon(\text{CH}_3\text{OH}/584)=8'500$

synth. f-Amid	auth. f-Amid	synth. neo-f-Amid	auth. neo-f-Amid
580(-4,3)	580(-3,6)	583(-7,9)	582(-8,1)
554(-1,3)	554(-1,1)	557(-6,4)	558(-6,5)
535(-2,4)	535(-2,2)	534(-7,3)	533(-7,5)
518(-1,5)	517(-1,3)	510(-7,0 sh)	510(-7,1 sh)
497(-1,6)	495(-1,5)		
462[0.0]	461[0.0]	471[0.0]	473[0.0]
424(+12,5)	423(+12,0)	437(+7,2)	437(+7,7)
417(+11,6)	417(+11,2)	417(+3,2)	417(+3,5)
		406(+4,2)	405(+4,4)
396(+20,6)	395(+20,0)	396[0.0]	396[0.0]
374.[0.0]	373[0.0]	377(-6,7)	377(-6,7)
367(-9,0)	367(-8,7)	363[0.0]	363[0.0]
360(-6,7)	361(-6,5)	361(+0,6)	360(+0,6)
		358[0.0]	357[0.0]
348(-12,2)	348(-11,4)	342(-5,8)	342(-5,8)
328(-6,7 sh)	328(-6,2 sh)	329(-3,0 sh)	329(-3,3 sh)
320(-3,9)	320(-3,5)	323[0.0]	323[0.0]
309(-10,4)	309(-9,5)	312(+12,9)	312(+13,1)
290[0.0]	290[0.0]	293(+7,3)	293(+7,3)
281(+0,9)	282(+1,3)	279(+10,6)	279(+11,0)
272[0.0]	270[0.0]	260(+3,1)	260(+3,5)
253(-12,9)	252(-11,9)	256(+3,3)	255(+4,0)
245(-10,0 sh)	246(-9,3 sh)	243[0.0]	243[0.0]
237[0.0]	238[0.0]	238(-2,6)	238(-2,4)
		232[0.0]	232[0.0]

Nulllinien-
schwankung $\Delta\epsilon$

ca. 1,5

ca. 1,0

ca. 1,0

ca. 0,5

Abbildung

118

119

120

121

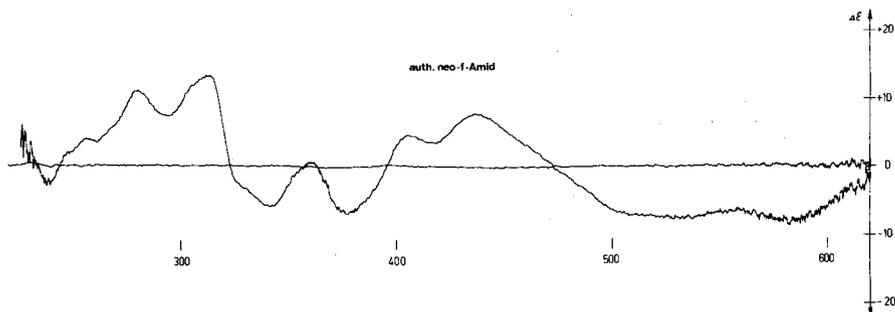


Abb. 121

LLC

(S I, Kol. A, 84 ml/h) Substanzen in der angegebenen Reihenfolge eingespritzt (je ca. 50 γ)

	R _t (min)	N	k'	R _s
auth.f-Amid	20,2	3'150	3,12	
synth.f-Amid	20,4	3'350	3,25	
auth.+synth.				
f-Amid (ca. 1:1)	20,8	3'500	3,25	
auth. neo-f-Amid	23,7	3'700	3,85	
synth. neo-f-Amid	23,7	3'500	3,85	
auth.+synth. neo-f-Amid (1:1)	23,6	3'650	3,82	
auth.f-Amid+neo f-Amid (1:1)	21,2	3'300	3,25	1,50
	23,8	3'550	3,76	
Cobester+Cobester-c-lacton	6,5	2'500	0,33	
(Charakterisierung der Säulenleistung)	10,2	3'050	1,08	5,00

Anmerkung: Die Harvard-Gruppe konnte die Cobester-f-nitrile (9) durch Behandlung mit BF₃ in Essigsäure praktisch ohne Isomerisierung an C-13 in die entsprechenden f-Amide (10) überführen [44].

Die bei den beiden C-13-Epimeren des Cobester-f-nitrils (9) und des Cobester-f-amids (10) beigebrachten spektroskopischen Daten illustrieren in signifikanter Weise die Identität der synthetischen und der authentischen Reihe. Die vorhandenen Abweichungen von der völligen Deckbarkeit der jeweiligen Spektrenpaare entstammen den normalen Schwankungen der verwendeten Messmethoden. In verschiedenen Fällen wurden Abweichungen solchen Ausmasses auch bei sukzessiver Spektrenaufnahme ein und derselben Probe beobachtet.

Aus den sauberen Signalen (ganzzahlige relative Intensitäten) für die Methyl-ester- und die angulären Methylgruppen in den NMR-Spektren darf geschlossen werden, dass es sich in diesen synthetisch-authentischen Substanzpaaren um isomerenreine (bzgl. Ort der Funktionalisierung wie der Konfiguration der Seitenketten) Verbindungen handelt. Die CD-Spektren zeigen in beiden Fällen eine ausgezeichnete Uebereinstimmung mit den Spektren des Cobesters und des neo-Cobesters (vgl. Abb. 28), es kann daraus mit grosser Sicherheit geschlossen werden, dass keine C-3- β oder C-8- β -Komplexe vorliegen (vgl. das CD des C-8- β -Cobinamids [41] und die CD-Spektren der Konfigurationsisomere des 5,15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid-f-nitrils (4) [35]). Die UV-Spektren, mit ihren grossen Aehnlichkeiten zu den Spektren des Cobesters und des neo-Cobesters, sind weitere Stützen der Strukturzuordnung, doch ist ihre Signifikanz relativ gering, wie die sehr ähnlichen Spektren der beiden C-8-Epimere des Cobinamides [41] und die "Riga-Spektren" des 5,15-bis-nor-Cobesters (1) ($\alpha\alpha\alpha$ gegenüber $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ vgl. Abb. 6 und 16a) zeigen. Ebenso lassen die IR-Spektren keine Zweifel aufkommen, doch wurde allgemein in dieser Arbeit beobachtet, dass Konfigurationsisomere praktisch deckungsgleiche IR-Spektren zeigen (vgl. auch die IR-Spektren der vier Monoamide b, d, e und f in Abb. 124, 126, 111 und 128). Bei den Massenspektren der f-Nitrile ist eine ausgezeichnete Uebereinstimmung vorhanden (vgl. Abb. 95 - 98),

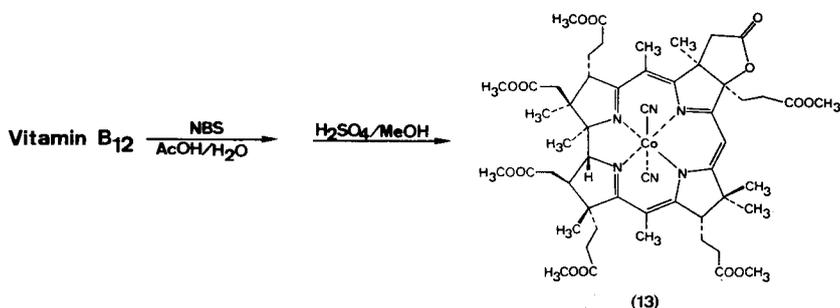
doch zeigten ja die nur teilweise reduzierten Produkte der Raney-Nickel-Reduktion ebenfalls ähnliche Spektren (mit identischem Basepeak) wie die vollständig reduzierten Produkte (vgl. S. 131).

Nicht durch eine einzige spektroskopische Methode kann bei solch komplexen Verbindungen die Identität von zwei Proben oder die Strukturzuordnung bewiesen werden, sondern es ist einzig die Gesamtheit aller Messungen, die dies mit einiger Sicherheit ermöglicht.

Zusätzlich zu den spektroskopischen Identitäten lieferte das völlig gleiche Verhalten der *f*-Nitrile bei der Schwefelsäurebehandlung bei den synth. wie den auth. Proben einen weiteren chemischen Identitätsbeweis.

IV AUTHENTISCHE DERIVATE DES COBYRINSÄURE-HEPTAMETHYLESTERS

IV 1. COBESTER - c - LACTON (13) *87



1,27 gr (0,937 mMol) kristallines Vitamin B₁₂ *88 wurden in 500 ml 2 N wässriger Essigsäure gelöst und die Lsg. mit 209 mg (1,17 mMol = ca. 1,25 Aeq.) N-Brom-succinimid *89 versetzt. Unter Lichtschutz wurde während 3 h bei RT gerührt und anschliessend das Lsm. am Rotovap bei ca. 45° C völlig entfernt (Dauer ca. 1 h). Der orangefarbene Rückstand wurde mit Methanol in einen 100 ml Kolben transferiert, das Lsm. am Rotovap entfernt und noch zweimal aus 15 ml Methanol eingeeengt. Der Rückstand wurde während 18 h am HV bei RT über P₂O₅ getrocknet (Gewicht: 1,65 gr) und anschliessend mit einer Lsg. aus 150 ml Methanol *67 und 10 ml konz. H₂SO₄ *11 in einen Zweihalskolben transferiert. Während 1 h wurde N₂ bei RT durch die Lsg. geleitet, anschliessend während 5 Tagen wurde unter einem leichten Stickstoffstrom am Rückfluss gekocht (Oelbadtemp. 85°). Nach dem Abkühlen auf RT wurde die orange Lsg. mit wenig Methanol in einen Kolben transferiert und am Rotovap bis auf ca. 15 ml eingeeengt. Nach der Zugabe von 200 ml H₂O wurde unter Rühren die Lsg. mit festem NaHCO₃ *12 neutralisiert (am Ende Farbwechsel von orange nach weinrot) und anschliessend in einen Scheidetrichter transferiert. Nach der Zugabe von 700 mg KCN *13 (rot → violett) wurde dreimal mit 200 ml CCl₄ und dreimal mit 200 ml CH₂Cl₂ extrahiert und die Auszüge jeweils zweimal mit 200 ml gesättigter KCl/0,1% KCN-Lsg. gewaschen *90.

- *87) Lactonisierungsbedingungen zur Herstellung von Vitamin B₁₂-lacton nach V. B. Koppenhagen, Diss. TH Stuttgart 1967, vgl. auch [76]; direkt anschliessende Veresterung wie im Fall des Cobesters, L. Wertheimann, Diss. ETH 1968 S. 67 (vgl. auch S. 65).
- *88) Vitamin B₁₂ krist. Hoffmann-La Roche AG Basel (H₂O-Gehalt nicht bestimmt, vgl. Ausbeute)
- *89) N-Brom-succinimid, Fluka purum
- *90) wässrige Phase nur noch schwach rot-violett gefärbt, ca. 27 μMol (ε(H₂O/583) = 12'000) 2,9%

Die CCl_4 - und CH_2Cl_2 -Auszüge wurden je durch Watte filtriert und darauf die Lsm. am Rotovap entfernt. Beide Rückstände wurden je zweimal in 20 ml Benzol aufgenommen und erneut am Rotovap eingeengt. Nach dem Trocknen am HV bei RT während 2 h wurden folgende Materialmengen bestimmt:

CCl_4 -Auszüge: 700 mg, DC: R_f um 0,21 (0,72) (CCl_4 löst nur vollständig verestertes Material)
 CH_2Cl_2 -Ausz.: 270 mg, DC: R_f um 0,04 (0,14)

Wie im Fall des Cobesters wurde das Material des CH_2Cl_2 -Auszugs noch in 30 ml Methanol und 3 ml konz. H_2SO_4 während 2 Tagen nachverestert. Nach der identischen Aufarbeitung wie bei der primären Veresterung wurden die folgenden Anteile isoliert:

CCl_4 -Auszüge: 207 mg
 CH_2Cl_2 -Ausz.: 45 mg (spektroskopisch: 18,9 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/592)=12'000$) 2%)

Die CCl_4 -Auszüge der beiden Ansätze (907 mg) wurden an 200 gr Silicagel *15 im System Hexan:Isopropanol:Methanol = 5:2:1 (+ 0,1% Acetoncyanhydrin) chromatographiert, wobei die Chromatographie mittels DC verfolgt wurde. In der angegebenen Reihenfolge wurden die folgenden Produkte isoliert:

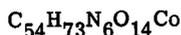
Cobester:	42,5 μMol	($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/592) = 12'000$)	4,5%
Mischfrakt.:	22,5 μMol	($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/596) = 12'000$)	2,4%
Lacton:	562,0 μMol	($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/597) = 12'000$)	60,0%
Nachlauf:	24,6 μMol	($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/596) = 12'000$)	2,6%

Durch Dickschichtchromatographie konnte aus dem Nachlauf und aus der Mischfraktion noch 6,12 μMol Cobester und 35,6 μMol Cobester-c-lacton erhalten werden, zusammen ergaben sich spektroskopisch folgende Ausbeuten (bez. B_{12} -Gewicht):

Cobester: 48,6 μMol (entsprechend 53 mg, Gewicht nach 4 h HV RT:80mg) 5,2%
 Lacton: 598,0 μMol (entsprechend 643mg, Gewicht nach 12h HV RT:810mg)64%

Das Lacton wurde in 100 ml Benzol und 60 ml Hexan zur Kristallisation angesetzt und mit Kristallen aus einem Vorversuch angeimpft. Während rund 1 Monat wurde von Zeit zu Zeit (3-4 Tage) etwas Hexan zugegeben (das Cobester-c-lacton kristallisierte immer sehr langsam), worauf nach Abpipettieren der Mutterlauge und dem Trocknen der Kristalle am HV während 12 h 653 mg kristallines Cobester-c-lacton ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/594) = 10'000$, bestimmt mit 8,2 mg auf PE 402) erhalten wurden. Die Mutterlauge (55,8 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/594) = 12'000$) wurde am Rotovap vollständig eingeengt und der Rückstand am HV während 12 h bei RT getrocknet (Gewicht: 112 mg). Anschließend wurde mit möglichst wenig Methanol unter Filtration durch Watte transferiert *54 und nach Zugabe der gleichen Menge Benzol erneut bis zur Trockene eingedampft. Durch erneute Kristallisation aus Benzol/Hexan (Dauer ca. 1 Monat) konnten nochmals 60 mg kristallines Lacton erhalten werden ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/596)=9'000$, bestimmt mit 1,514 mg/50 ml). Zur Charakterisierung wurden 70 mg Cobester-c-lacton der ersten Kristallisation zweimal aus Benzol/Hexan umkristallisiert (in 2 resp. 1 Woche) und die Kristalle (dunkel-violette Nadeln) nach Abpipettieren der letzten Mutterlauge am HV (0,01 Torr) während 14 h bei 60° C getrocknet.

Cobester-c-lacton (13)



MG 1072

Analyse Substanz eingewogen im Schweinchen und nochmals während 24 h über P_2O_5 getrocknet (Gewichtsverlust 2,2%), dann über Co_3O_4 verbrannt.

ber: C 59,32% H 6,48% N 7,83%
gef: C 59,34% H 6,53% N 7,83%

UV (C_6H_6) 1,476 mg in 50 ml
(Abb. 1) 597(11'300 max), 575(7'750 min), 557(9'300 max), 520(5'100 sh),
449(1'700 min), 425(3'000 max), 414(2'600 min), 372(29'400max),
357(14'000 sh), 340(6'400 min), 321(9'800 max), 314(8'300min),
310(8'500 max), 292(5'400 min), 282(11'100 max).
 $\gamma \alpha = 2,60$

IR ($CHCl_3$) 2125 w (CoCN), 1792 m (Lacton), 1732 s ($COOCH_3$), 1585 m/
(Abb. 2) 1510 m (Chromophor), 1437 m, 1402 m, 1370. m, 1152 s,
1110 m, 1080 m.

NMR (C_6D_6) 13 mg in 0,4 ml
(Abb. 4)

	Bereich	Integral T	E	E'
A: H-C-10: 5,82		1	0,74	0,83
B:Ester: 3,46/3,37(2)/ 3,32(3)	4,2-3,0 ppm	21	18,8	21,0
C:CH ₃ -C-15 ? : 2,17 CH ₃ -C- 5 ? : 1,93	3,0-1,6 ppm	29	28,8	31,7
D:Methyl: 1,45/1,13/ 0,99(2)/0,93/0,83	1,6-0,7 ppm	18	21,0	23,4

CD ($CH_3OH/$
0,02% HCN)
(Abb. 122) $c = 4,25 \times 10^{-5}$ Mol/lit ($\epsilon(CH_3OH/587) = 11'000$)
586(-4,0), 562(-2,1), 545(-3,1), 517(-1,5 sh), 483[0.0],
418(+9,5 sh), 391(+17,6), 377(+11,6 sh), 368[0.0], 361(-6,2sh),
347(-10,9), 329([0.0], 324(+3,1), 321[0.0], 315(-5,9),
310(-5,0), 304(-7,4), 286(0,0), 277(-3,5), 272(-2,8), 258(-10,1),
238[0.0].

MS (Di 200^o) 990(28%), 976(100%), $M^+ - 2CN - CO_2$, 964(37%), 960(28%),
946(37%), 932(34%), 919(47%), 915(45%), 904(40%), 890(65%).

LLC (S I, Kol.A, 84 ml/h) $R_t = 10,2$ min (3'050, $k' = 1,08$)
Cobester: $R_t = 6,5$ min (2'500, $k' = 0,33$)
(S II, Kol.C, 44 ml/h) $R_t = 17,7$ min (4'000, $k' = 4,00$)
Cobester: $R_t = 7,4$ min (3'250, $k' = 1,10$)

DC $R_f = 0,20$ (0,75)

Dieser Versuch repräsentiert sicher nicht die optimalen Bedingungen zur Darstellung des Cobester-c-lactons (13). Jetzt würde man z.B. die Lactonisierung von Cobester (7) unter den Bedingungen der Lactonisierung des 5,15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid-f-nitrils (4) [38] versuchen. Dieser Versuch war durchgeführt worden, um zeigen zu können, dass das c-Lacton unter den Methanolysenbedingungen stabil ist (vgl. Herstellung des auth. 5,15-bis-nor-Cobesters (1) und um (13) als Vergleichsmaterial und als Uebungsobjekt für Reduktionsversuche zur Verfügung zu haben. Da im weiteren das Lacton des Vitamins B₁₂ gut charakterisiert ist *91 und bekannt war, dass bei der Methanolyse von B₁₂ ein isomerenreiner Cobester (7) mit natürlicher Konfiguration aller Seitenketten erhalten wird *92, war anzunehmen, dass auch das c-Lacton (13) isomerenrein sein würde. Dies scheint durch die spektroskopischen Daten erwiesen zu sein :

NMR: Sowohl die Signale für die Methylestergruppen (nach Integration 6, in Cobester 7), sowie diejenigen der angulären Methylgruppen zeigen keine Anzeichen auf ein Isomeregemisch.

CD: Das CD-Spektrum ist sehr ähnlich demjenigen des Cobesters (7). Auch im Fall des 5,15-bis-nor-Cobesters- $\alpha\alpha\alpha$ (1) und dem entsprechenden Lacton- $\alpha\alpha\alpha$ (3) werden nur geringfügige Unterschiede beobachtet (vgl. S.78).

Durch Reduktion mit Raney-Nickel und anschliessender Veresterung der c-Säure (vgl. S.100) konnte in ca. 50% Ausbeute Cobester erhalten werden, dessen UV-, IR- und NMR-Spektren nach Kristallisation (zu 90%) mit den Spektren von Cobester (Analysematerial von L. Werthemann) identisch waren. Eine zusätzliche Bestätigung dafür, dass der Lactonring in (13) am Ring B sitzt (wie im Produkt vor der Methanolyse), liefert die gegenüber Cobester erschwerte Substitution an C-10 (vgl. S. 178).

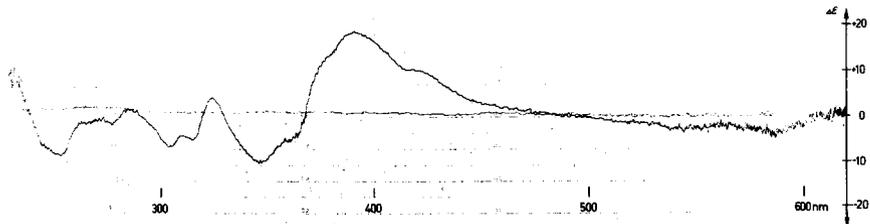


Abb. 122

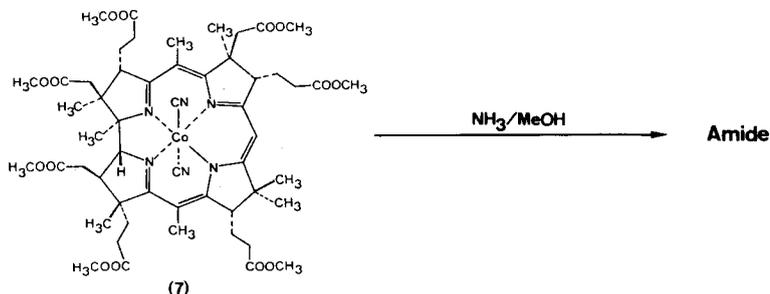
*91) vgl. [49] und die X-Ray-Analyse des Cobyrynsäure-c-lactams [77].

*92) Von einem Derivat des Cobesters, dem dimeren Jodo-Co(II)-cobester (L. Werthemann, Diss.ETH 1968), existiert eine Röntgenstrukturanalyse, die die natürliche Konfiguration aller Seitenketten zeigt [69].

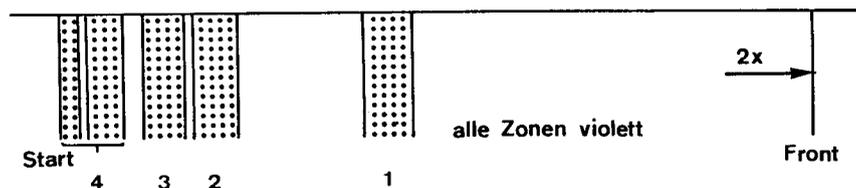
IV 2. PARTIELLE AMMONOLYSE VON COBESTER

Monoamide des Cobesters

(Die Zuordnung der einzelnen Monoamide wird ab S.248 diskutiert)



500 mg kristalliner Cobester *93 (460 μ Mol) wurden unter Argon in 100 ml 9,0 N NH_3/MeOH *94 gelöst und die Lsg. unter Argon und Lichtschutz während 5 h bei RT (25° C) stehengelassen. Anschliessend wurde am Rotovap bis zur Trockene eingengt und der violette Rückstand am HV während 12 h getrocknet. Darauf wurde auf 24 Dickschichtplatten (20x20x0,1 cm) chromatographiert:



- *93) Gegenüber der Herstellung von L. Werthemann war dieser Cobester nach der Methanolyse ohne Chromatographie direkt kristallisiert worden (einmal kristallisiert aus Benzol/Hexan; NMR-, UV- und IR-Spektren identisch mit den Spektren der Analysenprobe von L. Werthemann, DC einheitlich). Später durchgeführte DC-Tests mit starker Beladung zeigten jedoch, dass das Material Spuren von Cobester-c-lacton und eines nicht näher untersuchten Monoamids (IR !) enthielt (vgl. *95).
- *94) Hergestellt durch Einleiten von über KOH getrocknetem NH_3 in auf 0° C gekühltes Methanol (Gehalt bestimmt durch Titration gegen HCl in H_2O).

Das Silicagel der einzelnen Zonen wurde mit MeOH/CH₂Cl₂ (Zone 1: 1:9, Zonen 2 und 3: 1:8, Zone 4: 1:1) extrahiert und die Filtrate am Rotovap eingengt. Darauf wurden die Anteile spektroskopisch bestimmt:

Zone 1 : Cobester (Edukt) :	175 µMol	(ϵ (C ₆ H ₈ /591) = 12'000)	38%
Zone 2 : Monoamide 1 :	95,5 µMol	(ϵ (C ₆ H ₈ /589) = 12'000)	21%
Zone 3: Amid IV :	92,0 µMol	(ϵ (C ₆ H ₈ /590) = 12'000)	20%
Zone 4:	79,0 µMol	(ϵ (CH ₃ OH/582) = 11'000)	17%
		Summe:	96%

In den IR-Spektren der Zone 2 und 3 war die Amidbande (1680 cm⁻¹) gegenüber der Chromophorbände bei 1582 cm⁻¹ ungefähr gleich intensiv wie die Lactonbande in (13), im Spektrum der Zone 4 bedeutend intensiver. Es wird angenommen, dass Zone 4 Di-, Tri-, und eventuell Tetraamide enthält; durch Behandlung mit H₂SO₄/MeOH (2 Tage, 75° C (Ampulle) vgl. S.65) konnte dieses Material zu 81% in kristallinen Cobester zurückgeführt werden. Der Cobester der Zone 1 konnte aus Benzol/Hexan zu 93% kristallisiert werden.

Zonen 2 und 3 waren durch die einmalige Dickschichtchromatographie nicht vollständig voneinander getrennt worden, durch nochmaliges Chromatographieren und Rechromatogramm der resultierenden Randzonen konnten folgende Substanzmengen erhalten werden:

eingesetzter Cobester:	460 µMol	
zurückgewonnener Cobester (krist.) (aus direkter Kristallisation Zone 1 und aus Veresterung Zone 4) :	226 µMol	49%
Zone 2: Monoamide 1:	88,7 µMol	19,3% (bzgl. umgesetztem (7): 38%)
Zone 3: Amid IV :	85,0 µMol	18,5% (" " " : 36%)
	Summe Monoamide	(bzgl. umgesetztem (7): 74%)

Zone 2 (Monoamide 1) (nach DC einheitlich) enthielt nach LLC im wesentlichen 3 Monoamide (Amid I (19), Amid II (20), Amid III = f-Amid (10)), während die Zone 3 nur eine Komponente, das kristallisierbare Amid IV (21) enthielt.

Das Material der Zone 2 wurde mit LLC getrennt:

(S I, Kol. A, 90 ml/h), ca. 100 Einspritzungen à 1 mg (vgl. Abb. 123):

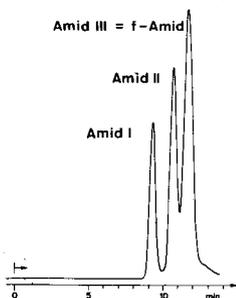


Abb. 123

Amid I	: $R_t = 9,2$ min	16,75 μMol	($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_8/591)=12'000$)	18,9% ¹	3,6% ²	7,1% ³
Amid II	: $R_t = 10,6$ min	24,3 μMol	($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_8/589)=12'000$)	27,5%	5,3%	10,4%
f-Amid	: $R_t = 11,6$ min	40,5 μMol	($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_8/591)=12'000$)	45,7%	8,8%	17,3%
				Summe:	92,1%	

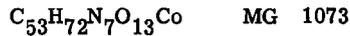
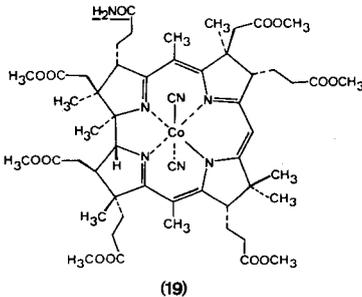
- ¹ bzgl. beim LLC eingesetzten Material
² " eingesetztem Cobester (7)
³ " umgesetztem Cobester

Jede dieser Zonen enthielt nach analytischen LLC-Test noch ca. 5% Material der andern beiden Zonen (inkl. unbekannter Verunreinigungen), die angegebenen Prozentzahlen dürften trotzdem für die Anteile der einzelnen Cobester-monoamide repräsentativ sein.

Charakterisierung der Monoamide

Amid I (19) (LLC $R_t = 9,2$ min)

Dieses Amid konnte trotz verschiedener Versuche nicht kristallisiert werden (auch nach nochmaligem LLC). Zur Charakterisierung wurde das obige Material nochmals mit Hilfe der flüssig-flüssig Verteilungschromatographie gereinigt, die grosszügig abgetrennte Hauptfraktion auf einer Dickschichtplatte chromatographiert und anschliessend in Methylenchlorid zweimal gegen gesättigte KCl/0,1% KCN-Lsg. ausgeschüttelt und darauf während 16 h am HV bei RT getrocknet (13,5 mg = 12,5 μMol):



?

UV (C_6H_8)

13,5 mg gelöst in 20 ml, davon 1 ml auf 20 ml verdünnt.
 591(12'200 max), 568(8'000 min), 552(9'200 max),
 516(5'200 sh), 451(1'800 min), 425(3'200 max), 414(2'700 min),
 373(32'700 max), 357(15'100 sh), 338(5'500 min), 327(7'700 sh),
 315(10'400 max), 292(6'500 min), 280(13'600 max).
 $\gamma/\alpha = 2,68$

UV praktisch identisch mit jenem des f-Amids (10), vgl. Abb. 115

IR (CHCl₃) 3475 w/ 3320 w/ 3185 w (NH), 2990 m/ 2950 m (CH), 2120 w (CoCN), 1735 s (COOCH₃), 1675 m (Amid), 1580/ 1500 s (Chromophor), 1440 m, 1400 m, 1150 s, 1105 m, 1010 m.

NMR (CDCl₃) 13,5 mg in ca. 0,4 ml
(Abb. 125)

	Bereich	Integral		
		T	E	E'
A: 6,75 (1H, breit, NH)/ 5,04(1H, breit(NH)) H-C-10: 5,58	6,9-4,8 ppm	3	3,1	3,1
B: Ester:3,77/3,72/ 3,70(3)/3,65	4,2-3,0 ppm	22	22,0	<u>22,0</u>
C: CH ₃ -C-5:2,24/CH ₃ - C-15: 2,20	3,0-1,75ppm	29	28,0	28,0
D: Methyl:1,59/1,50/ 1,36(2)/1,28/1,21	1,75-1,1ppm	18	19,0	19,0
Verunreinigung:1,26 ppm (ca. 1H, s)				

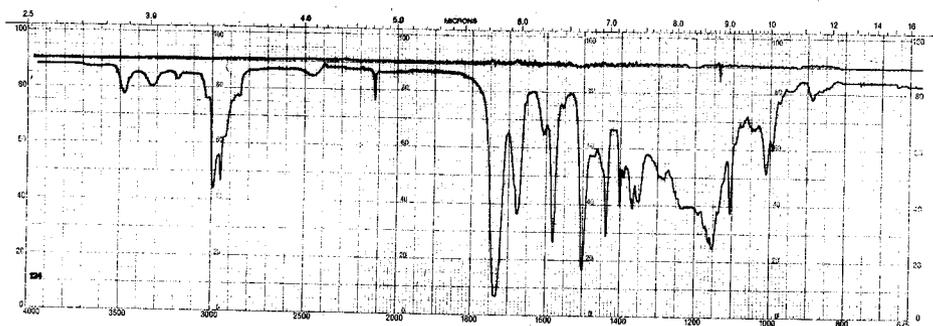


Abb. 124

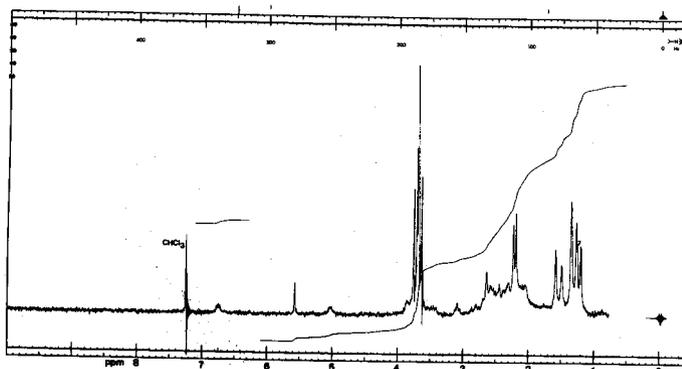


Abb. 125

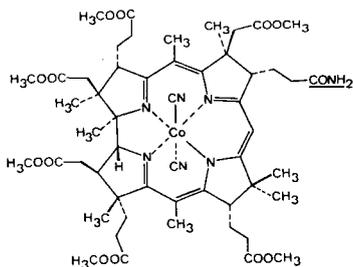
NMR (C ₆ D ₆)	12 mg in 0,4 ml				
		Bereich	Integral	T	E
	A:NH: ca. 7,15 (teilweise verdeckt durch C ₆ H ₆)				
	5,05 (1 H, breit)	7,2-4,8 ppm	3		3,2
	H-C-10: 5,63				3,6
	B:Ester: 3,44/3,43/3,38/3,36/3,28(2)	4,2-3,0 ppm	22		19,3
	C:CH ₃ -C-5: 2,11/				<u>22,0</u>
	CH ₃ -C-15: 2,06	3,0-1,7 ppm	29		27,2
	D:Methyl: 1,49/1,36/1,17/1,02/0,95/0,90	1,7-0,8 ppm	18		25,4
	unbekannte Verunreinigung: 1,35 ppm (ca. 2,2 H)				
	6,30 ppm (ca. 0,3 H, s)				

CD (CH₃OH/
0,02% HCN) c = 6,36 x 10⁻⁵ Mol/lit (ε(CH₃OH/582) = 11'000)
582(-3,7), 558(-1,3), 536(-2,4), 520(-1,9), 498(-2,4), 456[0.0],
423(+12,3), 416(+11,5), 395(+20,6), 373[0.0], 367(-8,7),
359(-6,5), 347(-12,0), 328(-7,1), 319(-3,7), 309(-9,9),
290[0.0], 281(+1,7), 269[0.0], 252(-12,5), 243(-9,5sh),
236[0.0].
CD praktisch identisch mit jenem des f-Amids (10),
vgl. Abb. 119

LLC und DC vgl. S.238

Amid II (20) (LLC R_t = 10,6 min)

Auch bei diesem Amid verliefen alle Kristallisationsversuche erfolglos. Wie beim Amid I wurde das ölige Produkt vor der Charakterisierung nochmals gereinigt: LLC, DC, Waschen der C₆H₆-Lsg. mit ges. KCl/0,1% KCN-Lsg., Trocknen am HV während 48 h bei RT. Erhalten: 18,3 mg = 16,9 μMol.



(20)

C₅₃H₇₂N₇O₁₃Co MG 1073

?

UV (C₆H₆) 18,3 mg gelöst in 25 ml, davon 1 ml auf 20 ml verdünnt.
 590(12'800 max), 566(8'000 min), 550(9'500 max), 515(5'100 sh),
 452(17'700 min), 424(3'300 max), 414(2'800 min), 373(32'000max),
 358(15'300 sh), 337(5'600 min), 326(7'800 sh), 314(10'300 max),
 292(6'300 min), 280(13'600 max).

$\chi/\alpha = 2,50$
 UV praktisch identisch mit jenem des f-Amids (10), vgl. Abb. 115

IR (CHCl₃) 3475 w/ 3320 w/ 3190 w(NH), 2990 m/ 2950 m (CH), 2120 w
 (CoCN), 1735 s (COOCH₃), 1675 m (Amid), 1580 m/ 1500 s
 (Chromophor), 1435 m, 1400 m, 1155 s, 1105 m, 1010 m.

NMR (CDCl₃) 18,3 mg in 0,4 ml
 (Abb. 127)

	Bereich	Integral T	E	E'
A: 6,73 (1H, breit, NH)/ 5,06 (1H, breit, NH) H-C-10: 5,59	6,9-4,8 ppm	3	2,7	2,8
B: Ester: 3,77/3,73/ 3,71(3)/3,59	4,1-3,0 ppm	22	21,1	<u>22,0</u>
C: CH ₃ -C-5: 2,27/ CH ₃ -C-15: 2,22	3,0-1,8 ppm	29	28,8	29,7
D: Methyl: 1,60/1,49/ 1,37(2)/1,28/1,21	1,8-1,1 ppm	18	19,8	20,6
Verunreinigung: 1,27 ppm (ca. 1H, s)				

NMR (C₆D₆) 15 mg in 0,4 ml

	Bereich	Integral T	E	E'
A: NH: 6,90(1H, breit), 5,40(1H, breit) H-C-10: 5,52	7,0-5,3 ppm	3	2,5	2,9
B: Ester: 3,47/3,40(2)/ 3,33/3,31/3,29	4,2-3,0 ppm	22	19,6	<u>22,0</u>
C: CH ₃ -C-5: 2,18/ CH ₃ -C-15: 2,07	3,0-1,6 ppm	29	29,7	33,5
D: Methyl: 1,44/1,39/1,19/ 1,00/0,98/0,93	1,6-0,8 ppm	18	20,2	22,9
unbekannte Verunreinigungen: 6,37 ppm (ca. 0,3 H, s), 1,35 ppm m.				

CD (CH₃OH/
0,02% HCN) $c = 6,36 \times 10^{-5}$ Mol/lit (ϵ (CH₃OH/582) = 11'000)
 580(-4,6), 558(-2,0), 537(-3,0), 513(-1,5), 502(-1,9), 462[0.0],
 423(+12,7), 416(+12,0), 396(+20,6), 375[0.0], 367(-8,8),
 360(-6,6), 348(-11,7), 327(-7,2), 320(-3,1), 309(-9,0),
 292[0.0], 278(+4,1), 264[0.0], 253(-11,2), 245(-8,8 sh),
 237[0.0].

CD praktisch identisch mit jenem des f-Amids (10), vgl. Abb. 119

LLC und DC vgl. S. 238

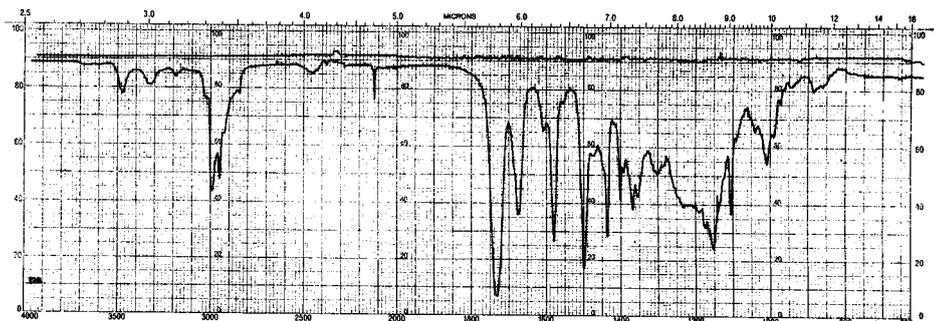


Abb. 126

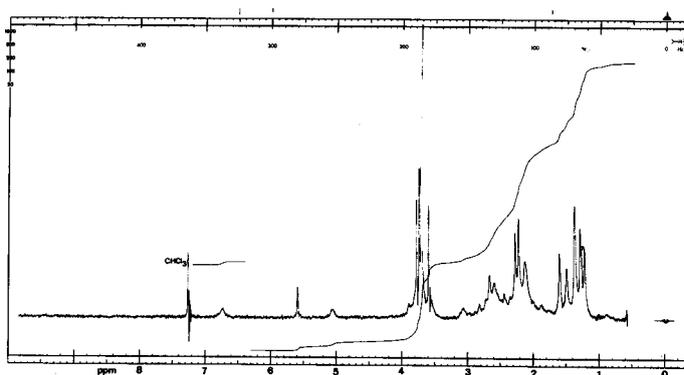


Abb. 127

Cobester-f-Amid (10) (LLC R_t = 11,6 min)

Das durch LLC abgetrennte Material (40,5 μ Mol) wurde in CH_2Cl_2 aufgenommen und die Lsg. zweimal mit gesättigter $\text{KCl}/0,1\% \text{ KCN}$ -Lsg. gewaschen, die organischen Auszüge (wässrige Phasen zweimal mit CH_2Cl_2 extrahiert) durch Watte filtriert und das Filtrat am Rotovap eingeeengt und der Rückstand am HV während 12 h bei RT getrocknet. Nach dem Transferieren mit möglichst wenig Methanol *54 wurde nach der Zugabe der gleichen Menge Benzol erneut am Rotovap bis zur Trockene eingeeengt und der Rückstand am HV während 4 h bei RT getrocknet. Dann wurde in 4 ml Methylacetat *27 gelöst und die Lsg. mit 3 ml Hexan versetzt. Die Kristallisation wurde durch Animpfen mit Kristallen aus einem Vorversuch eingeleitet, und nach je 24 h wurde zweimal 3 ml Hexan zugegeben. 24 h nach der letzten Zugabe wurden die Kristalle mit der Mutterlauge auf eine G 3 Glasfilternutsche transferiert und dort einmal mit der Mutterlauge gewaschen. Nach dem Trocknen am HV während 12 h bei RT wurden 33 mg kristallines f-Amid erhalten. Aus der Mutterlauge (8,22 μ Mol, ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/590) = 12000$)) konnten nach DC noch

1,3 mg kristallines f-Amid gewonnen werden *95 (ca. 80% der LLC-Fraktion ($R_t = 11,6$ min) kristallisiert). Die einmal kristallisierte Probe war nach LLC, UV und IR mit der Charakterisierungsprobe identisch ($\epsilon(C_6H_6/592) = 11'750$, bestimmt mit 1,486 mg in 50 ml).

Charakterisierungsprobe

Aus zwei analogen und ähnlich verlaufenen Ansätzen (1,0 und 1,5 g Cobester) waren nach LLC durch Kristallisation aus Methylacetat/Hexan 156 mg f-Amid (12 h am UV getrocknet) erhalten worden. Durch zweimalige Umkristallisation aus Methylacetat/Hexan erhielt man 127 mg f-Amid (12 h am HV bei 0,02 Torr getrocknet). Von diesem dreimal kristallisierten Material stammen die folgenden spektroskopischen Daten:

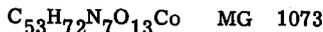
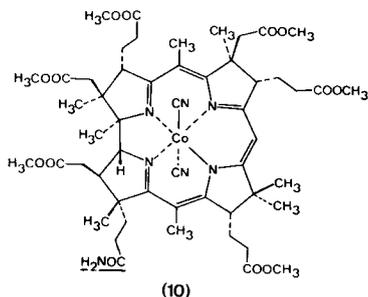
- New Delhi-Identifikation: UV ($CH_3OH/0,02\%$ HCN): Abb. 46 (die ϵ -Werte dieses Spektrums sind unten angegeben).
CD ($CH_3OH/0,02\%$ HCN): Abb. 47
NMR (90 MHz-FT/ $CDCl_3$): Abb. 45
- Analyse (C,H,N) vgl. unten
- NMR (100 MHz/ $CDCl_3$) aufgenommen mit ca. 16 mg, unten angegeben; da bei der endgültigen Identifikation das Integral im NMR fehlt (CAT-Spektrum)
- NMR (100 MHz/ C_6D_6) vgl. unten. (gleiche Probe wie für $CDCl_3$ -Spektrum)
- UV (C_6H_6) der endgültigen Identifikation vgl. Abb. 115

Die ca. 16 mg, die für die Aufnahme der beiden 100 MHz-NMR-Spektren verwendet worden waren, wurden erneut aus Methylacetat/Hexan kristallisiert. Von den dabei erhaltenen 14,4 mg (nach 12 h HV bei ca. 0,01 Torr) wurden ca. 1,2 mg (bewusst ähnlich geringe Menge wie bei synth. Probe) für die endgültige Identifikation (S. 212) verwendet:

- NMR (100 MHz/ $CDCl_3$) vgl. Abb. 107
- IR ($CHCl_3$) vgl. Abb. 111
- UV (C_6H_6) nur qualitatives Spektrum, vgl. *86.
- CD ($CH_3OH/0,02\%$ HCN) vgl. Abb. 119
- LLC - Identifikation auf S. 220

*95) Als Hauptverunreinigung der LLC einheitlichen Mutterlauge erwies sich das im DC einen grösseren R_f aufweisende Monoamid, das als Verunreinigung im Edukt (7) vorhanden gewesen war *93. Vermutlich handelt es sich dabei um das sterisch am stärksten gehinderte Monoamid des Cobesters.

Die bei den beiden Identifikationen noch nicht angegebenen Daten sind hier aufgeführt:



Analyse: zusätzlich während 44 h am HV bei 90° C getrocknet. Probe im Schweinchen eingewogen und nochmals über P₂O₅ getrocknet (Gewichtsverlust 2%), verbrannt über Co₃O₄.

ber: C 59,26% H 6,76% N 9,13%
 gef: C 59,28% H 6,78% N 9,15%

NMR (CDCl₃) 16,3 ml in 0,4 ml

Bereich	Integral		
	T	E	E'
A: NH: 6,40 (1H, breit)/ 5,36 (1H, breit) H-C-10: 5,59			
B: Ester: 3,79/3,73/ 3,70(3)/3,62	6,5-5,2 ppm	3	2,7 2,9
C: CH ₂ -C-5: 2,26/ CH ₃ -C-15:2,20	4,2-3,2 ppm	22	20,5 <u>22,0</u>
D: Methyl: 1,59/1,55/1,39/ 1,37/1,30/1,22	3,2-1,75ppm 1,75-1,1ppm	29 18	30,8 33,0 18,0 19,0

NMR (C₆D₆)

Das kristalline f-Amid war in Benzol nur noch langsam und schlecht löslich. Aus der durch Erwärmung auf ca. 50° C erhaltenen Lsg. kristallisierte beim Abkühlen ein Teil wieder aus und musste abfiltriert werden. In ca. 0,4 ml C₆D₆ waren danach nur noch ca. 6-8 mg gelöst.

	Bereich	Integral	E	E'
		T		
A: (NH: 7,97 (breit)/ 6,38 (breit)+ ?) H-C-10: 5,68		1	1,3	1,5
B:Ester: 3,57/3,49/3,41/ 3,39/3,32/3,30	4,2-3,0 ppm	22	18,8	<u>22,0</u>
C:CH ₃ -C-5 :2,18/ CH ₃ -C-15:2,10	3,0-1,7 ppm	29	27,2	32,0
D:Methyl:1,56/1,37/1,24/ 1,10(2)/0,95	1,7-0,8 ppm	18	22,7	26,7

Verunreinigungen: 4,36 ppm (ca. 0,5 H s), 1,43 ppm (ca. 1,5 H, s)
+ Da beim Lösen auch noch C₆H₆ verwendet worden war,
ist es nicht sicher, ob es sich bei diesen zwei breiten Signa-
len wirklich um diejenigen der NH's handelt, keine Integration
ausgeführt.

ϵ -Werte des CH₃OH-UV-Spektrums der ersten Identifikation (S. 140):

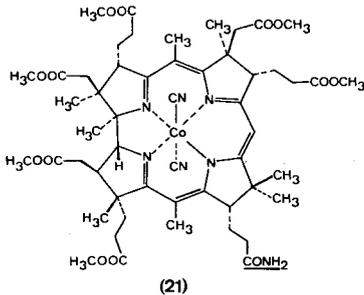
UV (CH₃OH/
0,02% HCN) 1,515 mg in 50 ml gelöst
583(11'400 max), 561(8'100 min), 545(9'250 max), 511(5'600 sh),
445(1'600 min), 419(2'700 max), 411(2'400 min), 369(31'300max),
353(14'700 sh), 331(4'900 min), 314(9'500 max), 289(5'600 min),
277(10'900 max), 260(5'500 min), (215(53'000 max)).

LLC und DC vgl. S.238

Amid IV (21) (DC Zone 3, LLC R_t = 43,5 min)

Das durch zweimalige Dickschichtchromatographie gereinigte Material (85 μ Mol) (vgl. S. 227) wurde in CH₂Cl₂ aufgenommen und die Lsg. zweimal gegen gesättigte KCl/0,1% KCN-Lsg. geschüttelt. Die organischen Auszüge (wässrige Phasen zweimal mit CH₂Cl₂ extrahiert) wurden durch Watte filtriert und das Filtrat am Rotovap vollständig eingengt. Nach dem Trocknen am HV bei RT während 12 h wurde mit möglichst wenig Methanol transferiert *54 und nach Zugabe der gleichen Menge Benzol erneut bis zur Trockene eingedampft und der Rückstand während 3 h am HV getrocknet. Nach dem Lösen in 10 ml Methylacetat *27 wurden 8 ml Hexan zugegeben und die Kristallisation durch Animpfen mit Kristallen aus einem Vorversuch eingeleitet. Dreimal wurde nach je 24 h 4 ml Hexan zugegeben, 36 h nach der letzten Zugabe wurden die tiefroten, kleinen, kubischen Kristalle mit der Mutterlauge auf eine G 3 Nutsche transferiert und einmal mit der Mutterlauge gewaschen. Nach dem Trocknen am HV während 12 h über P₂O₅ wurden 79 mg kristallines Amid IV (21) isoliert, das nach UV und IR mit dem Analysenmaterial identisch war (ϵ (C₆H₆/592) = 12'000, bestimmt mit 1,423 mg in 50 ml) (Mutterlauge: 11,0 μ Mol (ϵ (C₆H₆/591) = 12'000).

Zur Charakterisierung gelangte eine dreimal kristallisierte Probe aus einem Nachschubansatz (Umkristallisation und Charakterisierung von Dr. A.B. Holmes ausgeführt):



$C_{53}H_{72}N_7O_{13}Co$ MG 1073

UV (C_6H_6)

1,681 mg in 50 ml

592(11'900 max), 569(7'900 min), 552(9'300 max), 517(5'100 sh),
449(1'800 min), 425(3'300 max), 415(2'900 min), 373(30'100max),
358(14'600 sh), 338(5'700 min), 328(7'500 sh), 317(10'100max),
292(5'800 min), 280(12'400 max).

$\eta/\alpha = 2,53$

UV-Spektrum sehr ähnlich zu jenem des f-Amids,
vgl. Abb. 115

UV ($CH_3OH/$
0,02% HCN)

1,467 mg gelöst in 50 ml

584(11'000 max), 561(7'800 min), 545(8'900 max), 514(5'500 sh),
441(1'500 min), 420(2'500 max), 411(2'200 min), 369(31'400max),
353(14'700 sh), 331(4'700 min), 314(9'400 max), 309(9'350 sh),
289(5'800 min), 278(11'100 max), 260(5'500 min),
(214(52'000 max)).

IR ($CHCl_3$)
(Abb. 128)

3520 w/ 3495 w/ 3410 w (NH), 2120 w (CoCN), 1730 s
(COOCH₃), 1680 m (Amid), 1578 m/ 1497 m (Chromophor),
1435 m, 1400 m, 1150 m, 1104 m, 1006 m.

NMR (CDCl₃) 15 mg in 0,4 ml
(Abb. 129)

	Bereich	Integral T	E	E'
A: 6,00 (1H, breit, NH)/ 5,50 (1H, breit, NH) H-C-10: 5,58	6,2-5,2 ppm	3	3,2	3,5
B: Ester: 3,77/3,71(2)/ 3,69(2)/3,63	4,1-3,2 ppm	22	20,1	<u>22,0</u>
C: CH ₃ -C-5 : 2,25/ CH ₃ -C-15: 2,18	3,2-1,9 ppm	29	28,0	30,6
D: Methyl: 1,57/1,52/ 1,38(2)/1,28/1,21	1,9-1,1 ppm	18	20,6	22,5
H ₂ O ? : 1,79 ppm (ca. 1,5 H)				

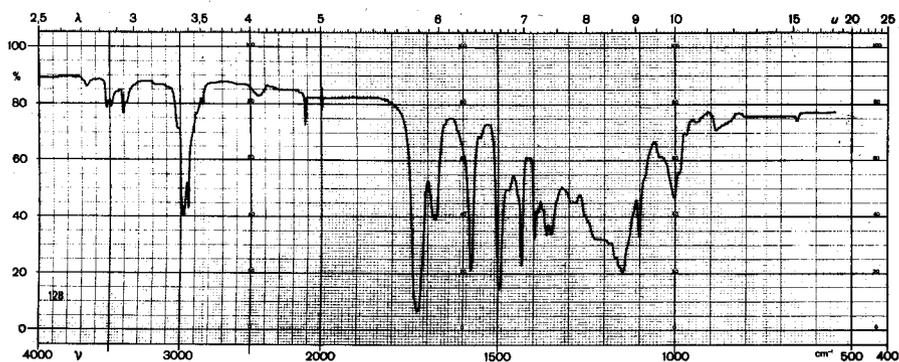


Abb. 128

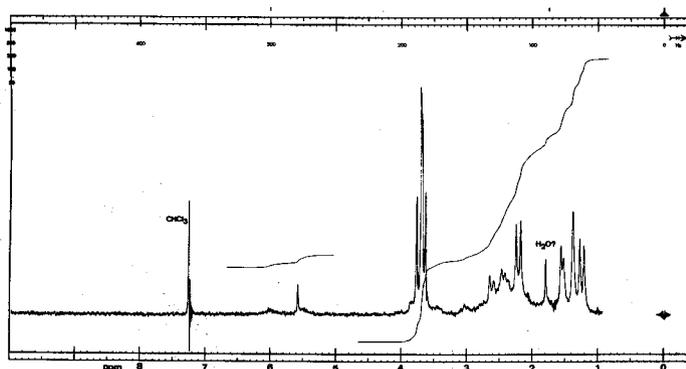


Abb. 129

NMR (C₆D₆)

Das kristalline Amid IV war wie das f-Amid in C₆D₆ relativ schlecht löslich, gegenüber dem f-Amid war die Auflösung im Spektrum schlechter, was auf eine gewisse Dimerenbildung zurückzuführen sein könnte.

15 mg in ca. 0,4 ml

	Bereich	Integral T	E	E'
A:NH: 6,30 (breit)/ 6,18 (breit) H-C-10: 5,64	6,5-5,5 ppm	3	2,4	2,8
B:Ester:3,49/3,47(2)/3,45/ 3,40/3,35	4,2-3,1 ppm	22	18,8	<u>22,0</u>
C:CH ₃ -C-15:2,25/ CH ₃ -C- 5:2,20	3,1-1,8 ppm	29	26,6	31,0
D:Methyl:1,67/1,48/1,40/ 1,10/1,07/0,97	1,8-0,8 ppm	18	22,2	26,0

CD (CH₃OH/
0,02% HCN)

$c = 4,27 \times 10^{-5}$ Mol/lit (ϵ (CH₃OH/583) = 11'000)
582(-4,5), 560(-1,9), 539(-3,1 sh), 507(-2,3), 458 [0.0],
424(+12,2), 416(+11,4) 395(+20,4), 373 [0.0], 367(-8,9),
359(-6,9), 347(-12,0), 329(-6,9 sh), 319(-3,5), 308(-9,5),
290 [0.0], 279(+1,3), 268 [0.0], 252(-11,7).
CD-Spektrum sehr ähnlich zu jenem des f-Amids,
vgl. Abb. 119

LLC und DC aller Monoamide (hintereinander bestimmt):

LLC

(S I, Kol. A, 105 ml/h)

DC

Cobester	R _t = 4,8 min (1'900, k'=0,26)	R _f = 0,29
Cobester-c-lacton	6,8 min (2'200, k'=0,79)	0,20 (0,69)
Amid I	10,0 min (2'800, k'=1,63)	0,13 (0,45)
Amid II	11,5 min (2'500, k'=2,02)	0,13 (0,45)
Amid III =f-Amid	12,4 min (2'200, k'=2,29)	0,13 (0,45)
Amid IV	43,5 min (3'600, k'=10,42)	0,09 (0,30)

Die für die grosse Retentionszeit erstaunlich hohe theoretische Bodenzahl für das e-Amid wurde extra nachgeprüft, die Bodenzahlen für die übrigen drei Monoamide sind innerhalb der Fehlergrenze konstant.

Ammonolysebedingungen:

In einem Vorversuch mit 10 mg Cobester unter den gleichen Bedingungen wie S. 226 war alle 2 h eine Probe aus der Reaktionslg. entnommen, aufgearbeitet und DC-chromatographiert worden.

Es wurde folgende Veränderung der Produktverteilung festgestellt
(RT, 9,0 N NH₃/MeOH) : (aus einem weiteren Versuch)

Zeit (h)	2	4	6	8	10	15
Cobester	76,6%	60,0%	46,0%	34,4%	27,8%	10,7%
Monoamide 1	12,5%	18,3%	20,5%	20,6%	19,5%	14,7%
Amid IV	8,5%	13,2%	19,2%	23,3%	23,0%	19,4%
polarere Zonen	2,4%	8,5%	14,3%	21,7%	29,7%	55,2%

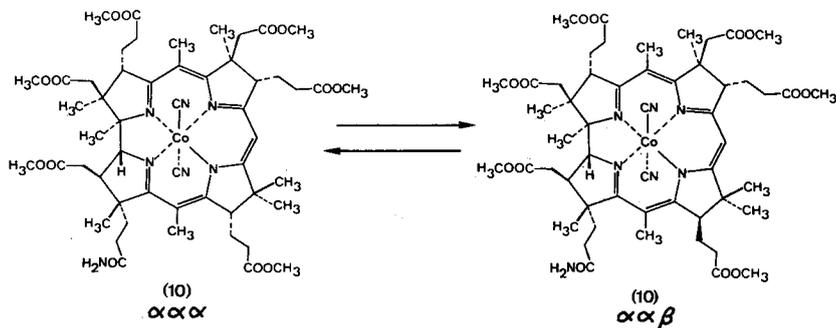
Die Verteilung innerhalb der Monoamide-1-Zone wurde hier nicht untersucht. Der auf S. 226 beschriebene Ansatz sowie alle Nachschubansätze wurden mit Reaktionszeiten von 5 bis 7 h (bei RT) durchgeführt, wobei immer ca. 20% der Monoamide-1-Zone erhalten wurde.

Wichtig bei dieser Reaktion ist der möglichst vollständige Ausschluss von Sauerstoff. Ist dies nicht der Fall, so treten nach der Aufarbeitung grosse Mengen von braunen und gelben Produkten auf, deren UV-Spektren keine Ähnlichkeit mehr mit einem Dicyano-kobalt-III-corrin besitzen *48. Weitere Schwierigkeiten sind nicht aufgetreten, was an der hohen Chromophorausbeute abgelesen werden kann.

IV 3. C - 13 - EPIMERISIERUNG DER MONOAMIDE

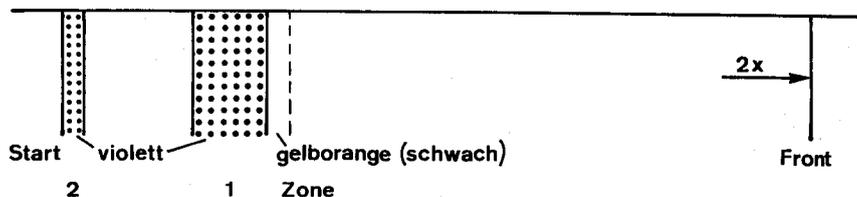
neo-Monoamide des Cobesters [17]

f-Amid - neo-f-Amid (vgl. S. 134 u. 206)



Versuch durchgeführt von Prof. N. Obata (vgl. sein Arbeitsbericht 1972)

14,2 mg kristallines f-Amid (10) (13,2 μMol) wurden unter Argon *81 in 1 ml konz. H_2SO_4 *82 gelöst und während 90 min ein feiner Argonstrom durch die gelbbraune Lsg. geleitet. Darauf wurde die Reaktionslsg. tropfenweise zu einem stark gerührten Gemisch von 20 ml CH_2Cl_2 , 7,5 gr NaHCO_3 *65 und Eis gegeben und das Reaktionsrohr noch mit 0,5 ml Schwefelsäure nachgespült. Das rote Gemisch wurde in einen Scheidetrichter gegeben, getrennt und der organische Auszug noch zweimal gegen gesättigte KCl -Lsg. und zweimal gegen gesättigte $\text{KCl}/0,1\%$ KCN -Lsg. ausgeschüttelt. Die wässrigen Phasen wurden noch zweimal mit CH_2Cl_2 extrahiert und die organischen Phasen durch Watte filtriert und das Filtrat am Rotovap vollständig eingengt. Der violette Rückstand wurde auf Dünnschichtplatten chromatographiert (Rohausbeute: 12,2 μMol ($\mathcal{E}(\text{CH}_2\text{Cl}_2/591) = 10'500$) 92,5%):



Das Silicagel der beiden Zonen wurde mit MeOH/CH₂Cl₂ (1:9) extrahiert, die Filtrate am Rotovap eingengt und die Anteile spektroskopisch bestimmt:

Zone 1: f-Amide : 10,86 μMol ($\epsilon(\text{CH}_2\text{Cl}_2/590) = 10'500$) 82%
 Zone 2: "Säuren" : 0,80 μMol ($\epsilon(\text{CH}_2\text{Cl}_2/587) = 10'500$) 6%

Zone 1 wurde durch LLC im wesentlichen in zwei Zonen (neben sehr geringen Mengen an Nebenprodukten), den beiden C-13-Epimeren des f-Amids, aufgetrennt, vgl. Abb. 130:

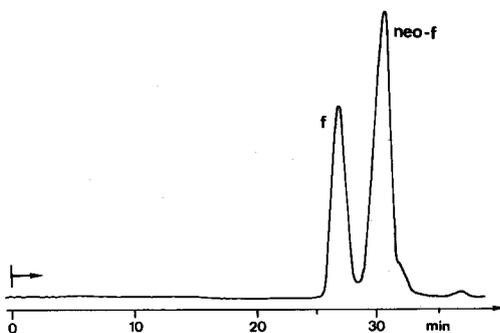


Abb. 130

(S I, Kol. A, ca. 100 ml/h)

f-Amid : $R_t = 26,6$ min (2'350), 2,97 μMol ($\epsilon(\text{CH}_2\text{Cl}_2/590) = 12'000$) 22,5%
 neo-f-Amid: $R_t = 30,4$ min (2'300), 7,20 μMol ($\epsilon(\text{CH}_2\text{Cl}_2/592) = 9'300$) 54,5%

Verhältnis: 29:71

Summe 77,0%
 (Ausbeute bez. Edukt (10))

Das f-Amid wurde mit LLC und UV mit dem Edukt identifiziert und konnte anschliessend aus Methylacetat/Hexan zu 98% kristallisiert werden. In einem Vorversuch war das f-Amid zweimal kristallisiert worden und anschliessend noch durch UV (0,255 mg in 10 ml CH₃OH: $\epsilon(\text{CH}_3\text{OH}/583) = 11'300$, vgl. S. 235), IR und CD mit dem Edukt identifiziert worden.

neo-f-Amid:

Nach LLC wurde das oben erhaltene neo-f-Amid (7,20 μMol) durch Dünnschichtchromatographie gereinigt (6,79 μMol ($\epsilon(\text{CH}_2\text{Cl}_2/592) = 9'300$, 94%), und anschliessend mit Methylacetat *27 unter Filtration durch Watte transferiert. Nach dem Einengen des Filtrats am Rotovap wurde in 1,5 ml Methylacetat *27 aufgenommen und langsam 1,8 ml Hexan zugegeben. Die Kristallisation setzte spontan ein und nach 5 h wurden 1,0 ml Hexan, viermal nach je 7 h weitere 0,5 ml Hexan zugegeben. Anschliessend wurde die Mutterlauge (ML 1: 0,142 μMol ($\epsilon(\text{CH}_2\text{Cl}_2/592) = 9'300$)) abpipettiert und die Kristalle noch zweimal aus Methylacetat/Hexan umkristallisiert.

(ML 2: 0,080 μMol , ML 3: 0,108 μMol ($\epsilon(\text{CH}_2\text{Cl}_2/592) = 9'300$). Nach dem Trocknen am HV während 24 h bei RT und 24 h bei 50° C, wurden 6,88 mg (entsprechend 6,40 μMol) kristallines neo-f-Amid isoliert. Von dieser Probe wurde ein NMR-Spektrum (in CDCl_3) mit 6,5 mg aufgenommen, anschließend wurde wieder kristallisiert und ein IR, drei UV (C_6H_6 , CH_3OH , CH_2Cl_2) und ein CD-Spektrum aufgenommen. Darauf wurde erneut kristallisiert und von dieser Probe stammen die 1,7 mg, welche für die endgültige Identifikation benützt wurden (vgl. die hierfür durchgeführten Vorbereitungsoperationen S. 210).

Hier werden nun noch das NMR-Spektrum der 6,5 mg (bei der Identifikation fehlt das Integral) und die drei UV-Spektren angegeben, während die übrigen Angaben auf S. 212 zu finden sind.

neo-Cobester-f- amid (10)

$\text{C}_{53}\text{H}_{72}\text{N}_7\text{O}_{13}\text{Co}$

MG 1073

NMR (CDCl_3) 6,5 mg in 0,1 ml Mikrozelle

	Bereich	Integral		
		T	E	E'
A: 6,20 (1H, breit, NH)/ 5,30 (1H, breit, NH) H-C-10: 5,52	6,3-5,1 ppm	3	2,85	2,92
B:Ester: 3,77/3,72/ 3,69(3)/3,61	4,1-3,2 ppm	22	21,5	22,0
C: CH_3 -C- 5: 2,23 CH_2 -C-15:2,17	3,2-1,7 ppm	29	29,0	29,7
D:Methyl:1,58/1,50/1,36(2)/ 1,30/1,25	1,7-1,1 ppm	18	18,6	19,1
H ₂ O: 1,94 ppm (2,4 H, s) Methylacetat: 2,06 ppm (1,2 H, s), das zweite Signal bei ca. 3,6 ppm konnte nicht beobachtet werden.				

UV (C_6H_6)

1,805 mg in 50 ml
593(9'750 max), 559(7'100 sh), 520(4'200 min), 507(4'300 max),
454(2'700 min), 434(3'200 max), 417(2'900 min), 372(25'800max),
357(13'400 sh), 338(6'100 min), 327(7'900 sh), 318(9'900 max),
293(6'500 min), 281(9'400 max).

UV ($\text{CH}_3\text{OH}/$

0,02% HCN

1,980 mg in 50 ml
585(8'650 max), 551(6'200 sh), 517(4'800 min), 505(4'900 max),
447(2'500 min), 435(2'600 max), 415(2'250 min), 368(25'500max),
352(13'300 sh), 332(5'700 min), 311(9'700 max), 289(6'500 min),
278(8'500 max), 264(7'000 min), (217(50'000 max)).

UV (CH₂Cl₂) 0,975 mg in 25 ml
 591(9'250 max), 558(6'700 sh), 520(4'300 min), 507(4'500 max),
 452(2'600 min), 434(2'900 max), 417(2'600 min), 371(25'500max),
 357(13'200 sh), 336(5'800 min), 326(7'500 sh), 314(9'600 max),
 292(6'400 min), 279(9'400 max), 266(7'300 min).

Um die Gleichgewichtslage der Isomerisierung bestimmen zu können, wurde auch neo-f-Amid in einem analogen Isomerisierungsansatz umgesetzt. Da unter den gleichen Bedingungen auch das auth. f-Nitril und neo-f-Nitril in die f-Amide überführt wurden, wird hier als Uebersicht eine Zusammenstellung aller Resultate der C-13-Isomerisierung durch konz. Schwefelsäure (90 min RT) angeführt (die Versuche mit den synth. f-Nitrilen sind auf S.206 beschrieben):

Versuch-Nr.	Edukt	µMol	Chromophor- ausbeute	DC			LLC		
				f-Nitrile	f-Amide	nSäuren ⁿ	f-Amid	neo-f-Amid	Verhältnis
1	f-Amid	13,20	92,5%	-	82,0%	6,0%	22,5%	54,5%	29:71
2	f-Amid *	9,80	-	-	67,0%	18,0%	19,6%	43,3%	31:69
3	neo-f-Amid	1,15	85,5%	-	76,0%	2,1%	22,3%	47,6%	32:68
4	f-Nitril	6,80	93,5%	5,1%	68,8%	12,3%	19,4%	36,2%	35:65
5	neo-f-Nitril**	1,44	83,0%	3,5%	65,5%	6,3%	16,4%	45,6%	26:74
6	synth. f-Nitril	1,17	79,5%	6,4%	63,0%	5,0%	19,8%	40,4%	33:67
7	synth. neo-f-Nitril	2,53	80,0%	7,5%	64,0%	4,7%	17,6%	43,3%	29:71

Versuch 1 = Beschreibungsansatz auf S.240

Versuche 1 - 4 durchgeführt von Prof. N. Obata

* Gegenüber den übrigen Versuchen wurde hier das Argon nur über BTS-Katalysator (BASF), CaCl₂ und Blaugel geleitet, nicht aber durch eine Waschflasche mit konz. Schwefelsäure *82, vgl. die grösseren Säureanteile.

** als Vorversuch zu den Ansätzen der synth. f-Nitrile ausgeführt (S.206).

Die LLC-Chromatogramme von diesen Versuchen hatten alle ein sehr ähnliches Aussehen, für Abbildungen von Chromatogrammen dieses Typs vgl. Abb. 44, 105 und 130.

Die vorgenannten Prozentzahlen beruhen auf den spektroskopischen Mengenberechnungen mit folgenden ε-Werten:

f-Amid:	ε(C ₆ H ₆ /592) = 12'000	ε(CH ₂ Cl ₂ /590) = 12'000 *
neo-f-Amid	ε(C ₆ H ₆ /593) = 9'800	ε(CH ₂ Cl ₂ /592) = 9'300 *
Gemisch (3:7)	ε(C ₆ H ₆ /591) = 10'500	ε(CH ₂ Cl ₂ /591) = 10'500 *

f-Nitril	$\epsilon(C_6H_6/594) = 12'000$	
neo-f-Nitril	$\epsilon(C_6H_6/596) = 9'800$	
Gemisch	$\epsilon(C_6H_6/595) = 10'500$	
"Säuren"	$\epsilon(C_6H_6/588) = 10'500$	$\epsilon(CH_2Cl_2/589) = 10'500$

*) nur im ersten Versuch erfolgte die spektroskopische Bestimmung in CH_2Cl_2 (vgl. S.240), in allen übrigen in Benzol (vgl. z. B. S. 206), die "Säuren" wurden in den ersten vier Versuchen in CH_2Cl_2 bestimmt.

Die Identität und Reinheit der Produkte (f-Amid und neo-f-Amid) war in den ersten vier Versuchen 1 - 4 (auth. Material) mit folgenden Daten belegt worden :

Versuch	Edukt	Produkte + Charakterisierung
1	f-Amid (13,20 μ Mol)	f-Amid : kristallisiert, UV(qualit.) LLC-Iden. neo-f-Amid: 3xkrist. und charakterisiert:S. 242
2	f-Amid (9,80 μ Mol)	f-Amid : 2xkrist. UV(quant.) IR, CD, LLC-Ident. neo-f-Amid: DC gereinigt, UV(qualit.), IR, NMR, CD, LLC-Ident.
3	neo-f-Amid (1,15 μ Mol)	f-Amid : krist. UV(quant.), LLC-Ident. neo-f-Amid : DC gereinigt, UV(qualit.), LLC-Ident.
4	f-Nitril (6,80 μ Mol)	f-Amid : krist. UV(quant.), IR, CD, LLC-Iden. neo-f-Amid : DC gereinigt, UV(qualit.), IR, NMR, CD, LLC-Ident.

Die "Säuren" der authentischen Versuche wurden nicht weiter untersucht, ausser in einem kleinen (ca. 150 μ) Veresterungsvorversuch zur synth. Reihe (vgl. S. 208), bei dem qualitativ das gleiche Resultat erzielt worden war. Nach DC wurden dabei hauptsächlich f-Amide erhalten, d.h. dass in diesem Produktgemisch Komplexe vorliegen, die durch unspezifische Hydrolyse einer (oder mehrerer) Methylestergruppen gebildet worden waren. Der Versuch 1 in obiger Uebersicht (Umsetzung von 13,2 μ Mol f-Amid) stellt das beste Resultat dar, das erzielt worden war. Allgemein wurde beobachtet, dass bei grösseren Ansätzen (z. B. 10 mg gegenüber 1 mg) etwas grössere Ausbeuten erreicht wurden. Wie die Resultate mit dem weniger gut getrockneten Argon zeigen, ist es wichtig, unter möglichst gutem Wasserausschluss zu arbeiten. Ebenso muss die Reaktion unter möglichst gutem Sauerstoffausschluss ausgeführt werden, da schon unter den beschriebenen Bedingungen geringe Mengen von gelben und orangen Nebenprodukten auftreten (vgl. die gelborange Randzone im DC auf S.240). Diese meistens durch DC nur teilweise abgetrennten Produkte wurden durch LLC vollständig abgetrennt, wegen ihrer gelben oder orangen Farbe wurden sie aber mit dem Detektor bei 570 nm nur teilweise registriert.

Wie die Uebersicht zeigt, wird ausgehend von den f-Amiden in 90 min bei RT das Gleichgewicht der C-13-Isomere bei ca. 30:70 (f-Amid: neo-f-Amid) erreicht, ausgehend von den f-Nitrilen aber nur knapp. Das synth. Material verhält sich dabei gleich wie das authentische. Vermutlich erfolgt die C-13-Isomerisierung beim f-Nitril langsamer als beim f-Amid, was bedeuten würde, dass die Amidgruppe als Tautomerisierungspartner wirken würde; wird doch angenommen, dass die Isomerisierung durch Protonierung des Chromophors eingeleitet wird (vgl. S.179).

In Uebereinstimmung mit den Resultaten von R. Bonnett an Vitamin B₁₂ [17] (C-13-Epimerisierung von Vitamin B₁₂ mit Trifluoressigsäure bei RT) wurde neben den beiden C-13-Isomeren des f-Amids, die nach NMR isomerenrein waren, in keinem Fall Hinweise auf mögliche C-3 oder C-8-β-Komplexe gefunden.

H₂SO₄-Behandlung der Amide I, II und IV

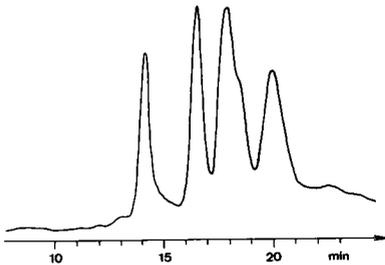
Historische Zwischenbemerkung:

Mit den Versuchen zur Herstellung eines authentischen Vergleichsmaterials wurde im Mai 1971 von N. Obata begonnen. Die partielle Ammonolyse von Cobester lieferte nach DC zwei Monoamid-Zonen (vgl. S. 226). Aus beiden DC-Zonen wurden auch die entsprechenden Nitrile hergestellt, ohne dass schon bekannt war, aus wievielen Komponenten diese zwei Zonen bestehen. Mit diesen Nitrilen konnte die (CN → CONH₂)-Umwandlung mit konz. Schwefelsäure ausgearbeitet werden. Die Ende Mai 1971 verfügbare LLC-Chromatographie zeigte dann, dass die Monoamide-1-Zone aus drei Komponenten bestand, während die zweite Monoamid-DC-Zone einheitlich war. Anfang Juni 1971 setzte W. Fuhrer die ersten ca. 100 γ des f-Nitril-Gemisches mit konz. Schwefelsäure zu den Amidien um, die totalsynthetisch aus dem A-D-C-B-Nitril durch "Schneider-Cyclisierung" und Alkylierung mit Chlor-methyl-benzyl-äther, gefolgt von Raney-Nickel-Reduktion erhalten worden waren (2 DC-Zonen, später nach LLC 3 Fraktionen, vgl. S.107). Bei dem dabei erhaltenen Amidgemisch zeigte das LLC ca. 7 Fraktionen, wobei nur eine dieser Fraktionen identische Retentionszeit wie eines der Monoamide aus der auth. Reihe zeigte. Dadurch war Anfang Juni 1971 bekannt, welches der Monoamide in der auth. Reihe das f-Amid ist; im weiteren wurde der Fraktion des synth. Amidgemisches, die nur eine wenig grössere Retentionszeit besass, und ein UV-Spektrum mit neo-Struktur zeigte, dem neo-f-Amid zugeordnet. Gerade kurz zuvor (April 1971) war die wichtige Arbeit von R. Bonnett et al. [42] über neo-Vitamin B₁₂ erschienen. Da bei der Schwefelsäure-Behandlung des synthetischen Nitrilgemisches ein C-13-Epimerengemisch eingesetzt worden war, wurde gehofft, dass bei dieser Hydrolyse keine Isomerisierung an C-13 eintritt.

Die unangenehme Konsequenz des Black Friday bestand darin, dass der erhaltene Cobester als C-13-Gemisch nicht sauber identifiziert werden konnte, da keine Trennmöglichkeit für die beiden C-13-Epimere existierte. Wie das vorher gefundene Beispiel des f-Amids gezeigt hatte, sollte eine Trennung auf der Amidstufe leichter sein. Das in grösster Menge anfallende Monoamid (Amid IV, durch DC abtrennbar) wurde aus sterischen Gründen dem e-Amid zugeordnet und man nahm an, dass sich dieses sehr leicht in die C-13-Epimere auftrennen lassen sollte. Nach einem Rettungsplan sollte von N. Obata versucht werden, den totalsynthetischen Cobester dadurch zu identifizieren, dass das C-13-Gemisch partiell ammonolysiert, das Amid IV

in die C-13-Epimere aufgetrennt und durch Veresterung des $\alpha\alpha\alpha$ -Isomeren mit Schwefelsäure in Methanol in $\alpha\alpha\alpha$ -Cobester überführt wird. Bei der partiellen Ammonolyse des synthetischen $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ -Cobester-Gemisches wurde die in Abb. 131 dargestellten LLC-Fractionen der Monoamide 1 erhalten (DC-Zone 1 der Monoamide, vgl. auch das LLC der entsprechenden Zone bei der Ammonolyse des $\alpha\alpha\alpha$ -Cobesters in Abb. 123); das als weitere Zone auf dem DC erhaltene Amid IV zeigte aber keine Auftrennung, sondern nur eine geringfügige Verbreiterung (bei einer sehr grossen Retentionszeit von ca. 40 min). Dadurch war es nicht möglich, auf diese Weise in der zur Verfügung stehenden Zeit genügend $\alpha\alpha\alpha$ -Cobester für eine Identifikation bereitzustellen. Als Folge des Befundes, dass die Amidzone IV durch LLC nicht auftrennbar ist, wurde die Zuordnung des Amids IV geändert, man nahm nun an, dass es sich um das d-Amid handeln könnte. Anschliessend wurde auch das authentische Nitrilgemisch (nur C-13 α !) aus den Amiden I-III mit Schwefelsäure umgesetzt und das in Abb. 132 dargestellte Gemisch erhalten.

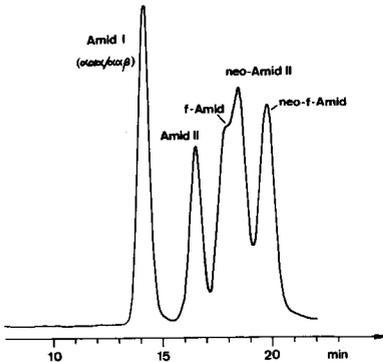
LLC (S I, Kol. A, 86 ml/h) Monoamide 1 aus Ammonolyse von synthetischem $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ -Cobester



Amid I : $R_t = 14,1$ min
 (3'200, $k' = 1,95$)
 Amid II : $R_t = 16,4$ min
 f-Amid : $R_t = 17,9$ min
 neo-Amid II : $R_t = 18,2$ min (Schulter zu f-Amid)
 neo-f-Amid : $R_t = 19,7$ min

Abb. 131

LLC (S I, Kol. A, 86 ml/h) Monoamide 1 aus Nitrilgemisch (ex auth. Amide I - III)



Amid I : $R_t = 14,2$ min
 (3'200, $k' = 1,95$)
 Amid II : $R_t = 16,5$ min
 f-Amid : $R_t = 18,2$ min (Schulter zu neo-Amid II)
 neo-Amid II : $R_t = 18,5$ min
 neo-f-Amid : $R_t = 19,8$ min

Abb. 132

Erst jetzt war klar (ca. 20. Juli 1971), dass bei der Schwefelsäurebehandlung auch an C-13 epimerisiert wird. Darauf wurde auch jedes Monoamid einzeln mit Schwefelsäure umgesetzt, was erlaubte, die jeweiligen $\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\beta$ -Paare einander zuzuordnen. In diesen Vorversuchen mit je ca. 400 γ Material, die von N. Obata durchgeführt worden waren (Sommer 1971), wurden die folgenden Resultate erhalten (konz. H_2SO_4 / 90 min/ RT):

Amid I \rightleftharpoons neo-Amid-I

Das nach der H_2SO_4 -Behandlung von reinem Amid I nach DC isolierte Produkt, zeigte im LLC (S I) nur eine Zone, deren Retentionszeit und theoretische Bodenzahl (N) gleich war, wie im eingesetzten Edukt. Da die Strukturierung des VIS-Teils des Elektronenspektrums im Produkt gegenüber dem Edukt nur geringfügig verschieden war, war man nicht sicher, ob an C-13 epimerisiert worden war. Die entsprechende LLC-Zone aus der partiellen Ammonolyse des synth. C-13-Epimerengemisches des Cobesters (Abb. 131), ebenso wie jene aus der Schwefelsäurebehandlung des auth. Nitrilgemisches aus den Amidinen I - III (Abb. 132), zeigten die gleichen Eigenschaften (gleiche Retentionszeit, gleiche Bodenzahl, VIS-Teil des UV's sehr ähnlich zum $\alpha\alpha\alpha$ -Amid I). Damit konnte eindeutig gezeigt werden, dass das Amid I mit diesem LLC-System nicht in die C-13-Epimere aufgetrennt wird.

LLC-Daten: (S I, Kol. A, 84 ml/h)

Amid I vor H_2SO_4 -Behandlung (Charakterisierungsmaterial vgl. S.228)

$R_t = 15,5$ min ($3'400$, $k' = 2,17$)

Amid I nach H_2SO_4 -Behandlung:

$R_t = 15,7$ min ($3'250$, $k' = 2,21$)

Amid II \rightleftharpoons neo-Amid II

Durch H_2SO_4 -Behandlung (90 min RT) des Amids II wurden nach LLC 2 Zonen erhalten (vgl. auch Abb. 131 und 132):

(S I, Kol. A, 84 ml/h) Amid II : $R_t = 18,2$ min ($3'300$, $k' = 2,71$)
neo-Amid II: $R_t = 20,6$ min ($3'600$, $k' = 3,20$) $R_s = 1,75$

Während das erhaltene Amid II nach LLC und UV mit dem Edukt identisch war, zeigte das neo-Amid II die folgenden UV- und CD-Spektren:

neo-Amid II

$C_{53}H_{72}N_7O_{13}Co$

MG 1073

UV (C_6H_6)

qualitativ

592(0,366 max), 557(0,258 sh), 520(0,156 min), 506(0,167 max),
454(0,104 min), 433(0,125 max), 417(0,113 min), 372(1,000 max),
357(0,505 sh), 338(0,236 min), 327(0,310 sh), 313(0,390 max),
293(0,268 min), 281(0,405 max).

$\gamma/\alpha = 2,73$

CD (CH₃OH/
0,02% HCN) $c = 2,81 \times 10^{-5}$ Mol/lit ($\epsilon(\text{CH}_3\text{OH}/585) = 8'500$)
585(-8,7), 555(-6,7), 535(-8,0), 514(-7,4 sh), 472 [0.0],
436(+7,7), 412(+4,2), 407(+5,5), 395 [0.0], 378(-5,8), 365 [0.0],
361(+1,1), 356 [0.0], 342(-5,4), 330(-1,4 sh) 325 [0.0],
312(+13,8), 292(+8,3), 280(+11,8), 259(+3,3), 256(+3,6),
246(+0,9 sh), 244 [0.0], 238(-1,9), 232 [0.0].

LLC vgl. oben

Amid IV \rightleftharpoons neo-Amid IV

Das nach der Behandlung mit konz. Schwefelsäure erhaltene Produkt zeigte im LLC zwar keine Aufspaltung in zwei Zonen, aber eine Verbreiterung. Beim in zwei Teilen aufgefangenen Material zeigte der vordere Abschnitt ein UV-Spektrum, das mehr einem neo-Komplex, der hintere ein solches, das einem C-13- α -Isomeren, ähnlich war.

LLC (S I, Kol.A, ca. 100 ml/h)

nach Isomerisierung: Amid IV: $R_t = 36,2$ min (2'700, $k' = 6,9$)
 $R_t = 36,3$ min (1'900, $k' = 6,9$)

Während die neo-Isomere des Amids II und des f-Amids isoliert werden konnten, war dies in den beiden andern Fällen, dem Amid I und IV, wegen der fehlenden Separierbarkeit nicht möglich. Es kann deshalb nur angenommen werden (die UV-Spektren der Gemische liefern dazu eine Stütze), dass sich diese beiden Cobester-derivate analog verhalten haben, d.h. dass bei allen vier Amiden (I - IV) die Isomerisierung an C-13 eintrat.

ZUORDNUNG DER MONOAMIDE

Dass bei einer milden Ammonolyse von Cobester zuerst die Propionsäureseitenketten reagieren würden, war von Anfang an angenommen worden, da ja diese Versuche den Zweck hatten, eine Referenzverbindung zum synth. f-Amid (10) oder f-Nitril (9) herzustellen. Im Experiment wurden dann auch im wesentlichen vier Monoamide erhalten, von denen eines, das f-Amid (10), durch wechselseitige Identifikation mit der synthetischen Reihe eindeutig zugeordnet werden konnte. Während in der synthetischen Reihe dadurch die Korrektheit des gesamten Corrinaufbaus nachgewiesen wurde, konnte in der Reihe aus authentischem Cobester gewonnenen Monoamide der Ort der speziellen Funktionalisierung bestimmt werden. Bei allen vier Monoamiden werden im NMR-Spektrum eindeutig sechs Signale (nach Anzahl und Höhe) für Methyl ester- und der angulären Methylgruppen zueinander aufweisen, deuten zudem

auf isomerenreine (bez. Ort der Amidgruppe und der Konfiguration der Seitenketten) Verbindungen hin. Im IR-Spektrum weisen alle vier Produkte eine zur Chromophorbande bei 1580 cm^{-1} gleich intensive Amidbande bei 1675 cm^{-1} auf. Die bei der Herstellung erhaltenen DC-Zonen mit geringerem R_f -Wert (Polyamide) zeigen intensivere Amidbanden. Da zusätzlich alle UV-Spektren zu jenem des Cobesters (vgl. [16]) sehr ähnlich sind, ebenso die CD-Spektren, konnte mit grosser Sicherheit angenommen werden, dass es sich bei allen vier Verbindungen um Monoamide des Cobesters mit natürlicher Konfiguration der Seitenketten handelt. Neben dem durch die Totalsynthese eindeutig zugeordneten f-Amid, konnten die übrigen drei nur spekulativ zugeordnet werden:

Die sterische Hinderung als Mass für die Bildungsgeschwindigkeit der Amide der Propionsäureketten ist nur sehr schwer abzuschätzen (vgl. z.B. die Röntgenstrukturanalyse der Cobyrssäure [14]); die vier Propionsäureseitenketten unterscheiden sich hauptsächlich folgendermassen:

Drei der Seitenketten (b,d,f) besitzen in α -Stellung eine Essigsäureseitenkette, die vierte (e) dafür eine Methylgruppe. Von den drei Amid b, d und f liegt beim d-Amid die benachbarte Essigsäureseitenkette c am stärksten axial (vgl. Röntgenstrukturanalysen). Drei Monoamide (darunter f) werden in ungefähr gleichen Anteilen erhalten und besitzen sehr ähnliche chromatographische Eigenschaften (nur durch LLC voneinander trennbar); das vierte Amid wird in dreimal grösserer Ausbeute erhalten und kann schon mit DC abgetrennt werden. Daraus wird vermutet, dass es sich beim einfach abtrennbaren Amid IV um das d- oder e-Amid handelt. Aus der Röntgenstrukturanalyse der Cobyrssäure kann vermutet werden, dass die Seitenkette b durch die axial stehende Methylgruppe an C-1 stärker gehindert sein sollte als die übrigen Propionsäureseitenketten. Das b-Amid sollte demnach in kleineren Anteilen anfallen. Die Retentionszeiten im LLC verhalten sich auffallend parallel zu den Mengen an gebildetem Amid; Amid I mit der kürzesten Retentionszeit weist den geringsten Anteil, das Amid IV mit der grössten Retentionszeit den grössten Anteil auf *96.

Aus den NMR-Spektren in CDCl_3 wird eine weitere auffallende Parallelität gefunden, indem die NH-Protonen umso mehr aufspalten, je geringer der Anteil des betreffenden Amids ist:

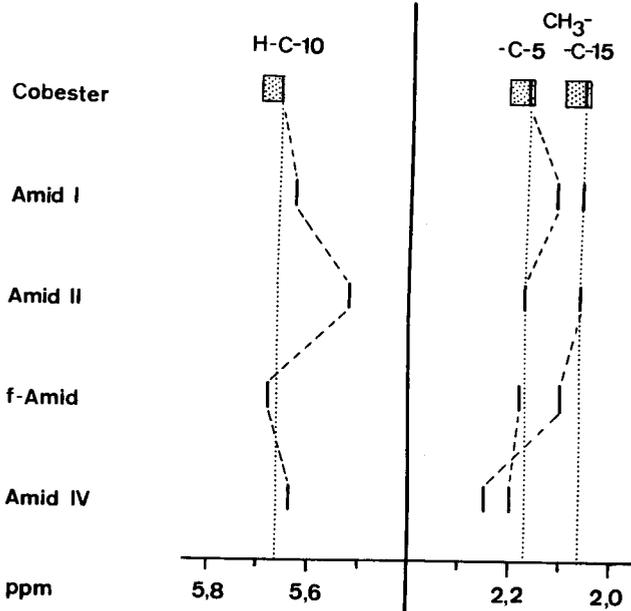
Amid I	: $\Delta\delta(\text{NH}) = 1,71\text{ ppm}$ (6,75/5,04)
Amid II	: = 1,67 ppm (6,73/5,06)
f-Amid	: = 1,04 ppm (6,40/5,36)
Amid IV	: = 0,50 ppm (6,00/5,50)

Im übrigen sind die CDCl_3 -NMR-Spektren der vier Monoamide so ähnlich, dass keine Schlüsse auf die Stellung der Amidfunktion gezogen werden können.

*96) Das als Verunreinigung im Cobester vor der Ammonolyse (S. 226) vorhandene Monoamid (vgl. *93 und *95) weist nur im DC einen grösseren R_f -Wert auf, während im LLC die Retentionszeit ungefähr gleich ist wie beim f-Amid. Diese Nichtparallelität im LLC zur sterischen Hinderung ist wahrscheinlich durch die verschiedene Konstitution der Amid-gruppe bedingt (Propionsäure- gegenüber Essigsäureseitenkette).

NMR-Spektren in C_6D_6 :

In den Spektren in C_6D_6 zeigen die Signale für das H-C-10 und die chromophorgebundenen Methylgruppen gegenüber Cobester die unten angegebenen Verschiebungen. Die Zuordnungen der Signale stammen aus der in sich konsistenten Zuordnungstabelle für die C_6D_6 -Spektren der Derivate des Cobesters, die im Anhang zu finden ist (S. 258). Die Unsicherheit in der Zuordnung der chromophorgebundenen Methylgruppen sollte hier beachtet werden (Diskussion auf S. 260).



(Die schraffierten Felder bei den Signalen des Cobesters geben die aus verschiedenen Spektren (verschiedene Konzentrationen, Aufnahmegeräte etc.) erhaltenen unterschiedlichen Positionen der jeweiligen Signale an)

Nur beim Amid II zeigt das H-C-10 eine deutliche Verschiebung gegenüber Cobester, gleichzeitig aber die chromophorgebundenen Methylgruppen die geringste Verschiebung in der ganzen Reihe. Die Methylgruppe an C-5 weist nur im Amid I eine signifikante Verschiebung gegenüber Cobester auf, während das Amid IV die grösste Verschiebung für die Methylgruppe an C-15 zeigt.

Zuordnung: Aus der Abschätzung der sterischen Hinderung und den NMR-Spektren in C_6D_6 kann die folgende Zuordnung getroffen werden:

Amid I: b-Amid
Amid II: d-Amid
Amid IV: e-Amid

Kommentar zur Trennbarkeit der C-13-Epimere mit LLC:

Anfänglich war angenommen worden (vgl. oben), dass sich das e-Amid am leichtesten in die C-13-Epimere auftrennen lassen sollte. Anscheinend ist dies nicht der Fall. Erstens besitzt das Amid IV so grosse Retentionszeiten im LLC, dass normalerweise keine symmetrischen Peaks mehr erhalten werden, d.h. die chromatographischen Verhältnisse nicht mehr ideal sind. Zweitens zeigt das Amid IV gegenüber allen andern, in C-13-Epimere trennbare, Komplexe ein anderes Verhalten. Normalerweise (beim f-Amid (10), f-Nitril (9), Amid II (20), 5,15-bis-nor-Cobester-f-nitril-c-lacton (6), 5,15-bis-nor-Cobester-c-dimethylamid-f-nitril (4)) weist das C-13- β -Isomere eine grössere Retentionszeit auf als das C-13- α -Isomere. Beim Amid IV (dem e-Amid der obigen Zuordnung) ist dies gerade umgekehrt. Der vordere Abschnitt dieser Zone besitzt ein UV-Spektrum, das eine grosse Ähnlichkeit mit demjenigen des neo-Cobesters besitzt.

Während die Nichttrennbarkeit (d.h. gleiches Verhalten wie Cobester) für das b-Amid (nach Zuordnung Amid I) erwartet worden war, war die Separierbarkeit des d-Amids (Amid II) eher überraschend.

Zur Zuordnung konnte deshalb nur die verschiedene Bildungsgeschwindigkeit (sterische Hinderung) und die NMR-Spektren in C_6D_6 herangezogen werden. Dies ist für eine eindeutige Zuordnung ungenügend. Am ehesten scheint die Möglichkeit zu bestehen, durch eine C^{13} -NMR-Studie die Zuordnungen zu sichern, z.B. durch Aufnahme von Cobester, neo-Cobester, Amid IV und Nitril aus Amid IV.

Anmerkung:

Erstaunlich ist die sehr gute Uebereinstimmung der beschriebenen Ammonolyse von Cobester mit der milden sauren Hydrolyse des Cobyramids (Heptaamid des Cobesters), die von W. Friedrich beschrieben worden ist [78]: Cobyramid wurde an P-Cellulose hydrolysiert, wobei nach 8 Tagen neben 25% Edukt, 45% Monosäuren, 25% Di-säuren und ca. 5% Trisäuren erhalten wurden. Bei der anschliessenden Papierchromatographie der Monosäuren mit einem sauren Entwickler wurde zuerst die Säure S (Bezeichnung von W. Friedrich) mit einem Anteil von 40% erhalten, dann folgte die Säure M (Anteil 20%), die nur noch schlecht vom nachfolgenden Gemisch der Säure L (15%) und der Cobyrsäure (25%) abgetrennt wurde. Die Säure L und die Cobyrsäure mussten auf einer CM-Cellulose-Säule voneinander getrennt werden. K. Bernhauer [79] konnte die verschiedenen isomeren Säulen tentativ zuordnen.

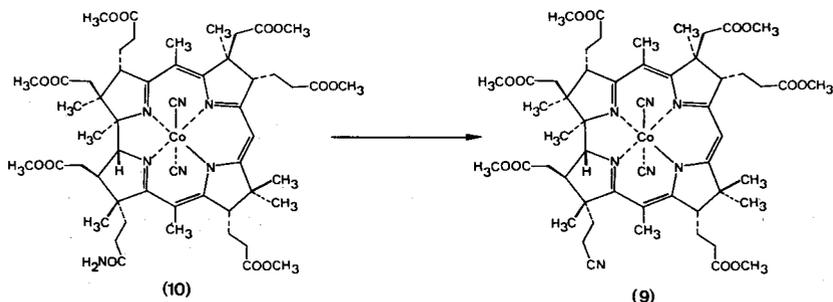
Interessant ist nun, dass er dabei zu den gleichen Zuordnungen gelangt, was die Anteile und die chromatographischen Eigenschaften betrifft, wie in dieser Arbeit bei den Amiden des Cobesters:

Säure S : "e-Säure" : Anteil: 40% , chromatographisch leicht abtrennbar.
Säure M: "b-Säure" : Anteil: 20% , " gerade abtrennbar.
Säure L : "d-Säure" : Anteil: 15% , nur schwer von Cobyrssäure abtrennbar.
Cobyrssäure (f-Säure): Anteil: 25%

IV 4. MONONITRILE DES COBESTERS

Cobester-f-nitril (9)

Versuch ausgeführt von Prof N. Obata



15,5 mg kristallines f-Amid (14,4 μMol) wurden in 2 ml Pyridin *97 gelöst und die Lsg. durch dreimaliges Ausfrieren (fl. N_2), zweimaliges Evakuieren am HV und wieder Auftauen entgast. Unter Argon wurden 0,15 ml $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$ *98 zugegeben und die Lsg. unter Argon während 5 h bei RT gerührt. Die Reaktionslg. wurde in 40 ml Benzol/Hexan (3:1) aufgenommen und zehnmal mit 20 ml gesättigter $\text{KCl}/0,1\%$ KCN -Lsg. gewaschen. Die wässrigen Auszüge wurden jeweils zweimal mit Benzol/Hexan (3:1) extrahiert. Die organischen Phasen wurden durch Watte filtriert und das violette Filtrat am Rotovap vollständig eingengt.

Rohausbeute: 13,75 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/596) = 12'000$) 96%

Das Rohprodukt wurde auf Dünnschichtplatten chromatographiert, wobei im wesentlichen nur eine violette Zone erhalten wurde. Durch Extraktion des Silicagels mit $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1:9) konnten 12,3 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/596) = 12'000$) 86% f-Nitril-Fraktion isoliert werden.

Nach dem Trocknen am HV wurde das ölige f-Nitril zur Kristallisation in 1 ml Aceton *99 gelöst und die Lsg. mit 2 ml Hexan versetzt. Sechsmal wurde nach je 12 h 0,8 ml Hexan zugegeben und 12 h nach der letzten Zugabe wurde die Mutterlauge abpipettiert; 0,60 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/596) = 12'000$). Die dunkelvioletten Nadeln wurden in 1 ml Aceton gelöst und durch analoge Zugabe von Hexan (total 7,2 ml) umkristallisiert (Mutterlauge 2: 0,192 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/596) = 12'000$)).

*97) Pyridin, Fluka purum, frisch destilliert über BaO unter Argon

*98) Methansulfonylchlorid, Fluka puriss, frisch destilliert bei 13 Torr (46°C)

*99) Aceton, Merck p.a., destilliert über P_2O_5

Nach dem Trocknen am HV wurden 13,2 mg kristallines f-Nitril (87%) isoliert. Dieses Material wurde nochmals umkristallisiert und anschliessend charakterisiert (UV (vgl. unten), NMR (vgl. unten), IR, CD). Darauf wurde wieder kristallisiert. 5,0 mg dieser Probe wurden zusammen mit 2,7 mg einmal kristallisiertem Material aus einem Nachschubansatz aus Methylacetat/Hexan umkristallisiert und dienten dann zur Identifikation auf S.187.

Die spektroskopischen Daten des f-Nitrils befinden sich deshalb auf der S.187 zusätzlich wird hier noch das UV-Spektrum in Methanol und das NMR mit Integration der dreimal kristallisierten Probe angegeben:

Cobester-f-nitril

$C_{53}H_{70}N_7O_{12}Co$

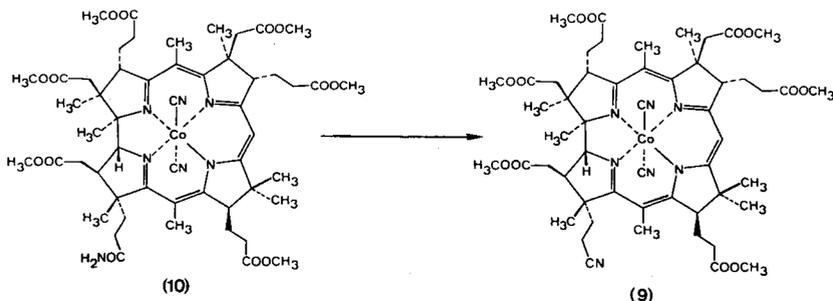
MG 1055

UV (CH₃OH/
0,02% HCN) 0,720 mg in 25 ml
585(11'700 max), 562(8'400 min), 546(9'500 max), 513(5'900 sh),
445(1'800 min), 420(2'900 max), 413(2'500 min), 369(32'700max),
355(15'400 sh), 332(5'100 min), 309(10'100 max), 288(6'400 min),
277(11'700 max), 260(5'900 min), (215(55'000 max)).

NMR (C₆D₆) 8 mg in ca. 120 µl

	Bereich	Integral T	E	E'
A: H-C-10: 5,70		1	0,8	0,9
B:Ester: 3,47/3,41/ 3,39(2)/3,29(2)	4,1-3,1 ppm	22	18,7	<u>22,0</u>
C:CH ₃ -C-5: 2,09 CH ₃ -C-15:2,01	3,1-1,8 ppm	29	28,4	33,4
D:Methyl: 1,48/1,37/1,17/ 1,11/0,96/0,83	1,8-0,8 ppm	18	21,9	25,6
H ₂ O: 1,55 ppm (ca. 2,5 H)				
Verunreinigung: 1,60 ppm (ca. 1H s) ?				

neo-Cobester-f-nitril



11,2 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/596) = 9'800$) neo-f-Amid wurden in 2,0 ml Pyridin *97 gelöst und die Lsg. durch viermaliges Ausfrieren (N_2 fl.), Evakuieren am HV und wieder Auftauen entgast. Unter Argon und Rühren wurden 0,15 ml $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$ *98 zugegeben und die Lsg. während 5 h bei RT unter Argon gerührt. Darauf wurde in 30 ml Benzol/Hexan (3:1) aufgenommen und die Lsg. dreimal mit 30 ml gesättigter $\text{KCl}/0,1\%$ KCN-Lsg., zweimal mit 30 ml 0,1 N H_2SO_4 /halb gesättigte KCl -Lsg. und noch fünfmal mit 30 ml gesättigter $\text{KCl}/0,1\%$ KCN-Lsg. gewaschen. Die wässrigen Auszüge wurden jeweils noch zweimal mit Benzol/Hexan extrahiert und die organischen Phasen am Schluss durch Watte filtriert. Das violette Filtrat wurde am Rotovap vollständig eingengt.

Rohausbeute: 9,80 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/595) = 9'800$) 87%

Das Rohprodukt wurde auf einer Dickschichtplatte chromatographiert, das Silicagel der violetten Hauptzone wurde mit $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1:9) extrahiert und das Filtrat am Rotovap bis zur Trockene eingedampft.

neo-f-Nitril: 9,65 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/598) = 9'800$) 86%

Dieses Material konnte zu 96% aus Methylacetat/Hexan kristallisiert werden.

Infolge LLC-apparativen Schwierigkeiten war zuerst nicht bemerkt worden, dass das Material nach LLC nicht einheitlich war, sondern einen gerade noch sichtbaren Nebenpeak bei kürzerer Retentionszeit (Anteil $\leq 10\%$) aufwies. Nach zweimaligem Umkristallisieren (das NMR in Abb. 82 stammt von dieser Probe, vgl. Anmerkung 80) wurden im UV geringe Unterschiede gegenüber dem synthetischen neo-f-Nitril beobachtet, worauf die Reinheit nach LLC nochmals überprüft wurde.

Darauf wurden 8,52 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/598) = 9'800$) dieses neo-f-Nitrils mit LLC nochmals gereinigt unter grosszügiger Abtrennung des Nebenproduktes (der effektive Anteil an Nebenprodukt dürfte unter 10% liegen) :

(S I, Kol. A, 90 ml/h)

Nebenprodukt enthaltende Fraktion:

	$R_t = 12,8$ min	1,44 μMol	($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/617) = 9'800$)	(14,5%)
neo-f-Nitril:	$R_t = 13,9$ min	7,05 μMol	($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/597) = 9'800$)	(71,5%)

Aufgrund des bathochromen UV-Spektrums und dem Fehlen von intensiven Chromophorbanden oberhalb 1500 cm^{-1} im IR wird vermutet, dass es sich beim Nebenprodukt um das 10-Chlor-neo-f-nitril handelt.

Das so neu gereinigte neo-f-Nitril wurde nach Transferieren mit möglichst wenig Methanol *54 aus 1 ml Methylacetat *27 und 4,5 ml Hexan kristallisiert (ML 1: 0,404 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/597) = 9'800$)). Nach Umkristallisation aus Methylacetat/Hexan (ML 2: 0,794 μMol ($\epsilon(\text{C}_6\text{H}_6/597) = 9'800$)) wurden nach dem Trocknen am HV während 14 h bei RT 6,3 mg kristallines neo-f-Nitril (rostfarbene feine Nadeln) erhalten. Dieses Material diente zur Identifikation (exkl. NMR) auf S. 187, die spektroskopischen Daten sind auf S.187 angegeben. Eine Neuaufnahme des NMR-Spektrums wäre wünschbar.

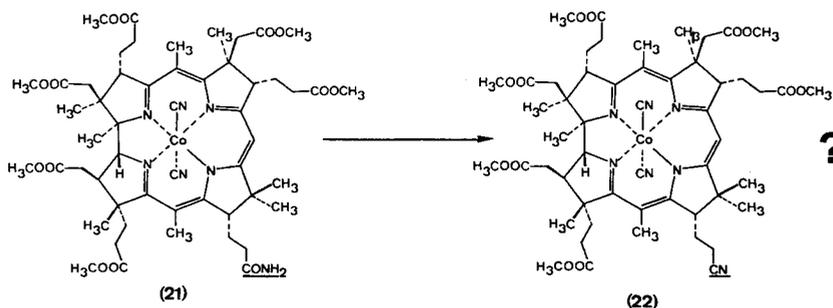
Diskussion der Reaktionsbedingungen:

An und für sich verlief die Wasserabspaltung aus dem Amid glatt; nicht bei allen Versuchen gleich wurde dabei noch ein Nebenprodukt gefunden, von dem vermutet wird, dass es sich um das 10-Chlor-derivat handelt. Der Anteil dieses Produkts schwankte zwischen ca. 0-1% und 10-15%.

Es wird angenommen, dass die durch die Ausfrierzyklen entgaste Lsg. nicht immer gleich gut von Sauerstoff befreit war und deshalb wechselnde Anteile dieses Nebenprodukts gefunden wurden, das sich mit DC nur sehr schlecht abtrennen liess. Beim *f*-Nitril lässt es sich durch Kristallisation leicht noch vollständig abtrennen, aber beim *neo-f*-Nitril, dem am leichtesten kristallisierenden Corrin dieser Arbeit, kristallisiert es zusammen mit dem Hauptprodukt und muss mit LLC abgetrennt werden. Vermutlich hätte diese Schwierigkeit durch Verwendung von Methansulfonsäureanhydrid umgangen werden können.

Mononitril (22) aus dem Amid IV

Versuch ausgeführt von Prof. N. Obata



Reaktionsbedingungen analog denjenigen des *f*-Nitrils S. 253

20,8 μMol ($\mathcal{E}(\text{C}_6\text{H}_6/591) = 12'000$) Amid IV wurden in 3 ml Pyridin *97 und 0,2 ml $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$ *98 während 5 h bei RT umgesetzt.
Ausbeute nach DC: 17,3 μMol ($\mathcal{E}(\text{C}_6\text{H}_6/590) = 12'000$) 83%

Dieses Material wurde zusammen mit Material aus einem Voransatz kristallisiert:
17,50 μMol ($\mathcal{E}(\text{C}_6\text{H}_6/591) = 12'000$) wurden in 1 ml Aceton *99 gelöst, und langsam wurden zur Lsg. 2 ml Hexan zugegeben. Innerhalb von 4 Tagen wurde sechsmal 0,4 ml Hexan zugefügt, 12 h nach der letzten Zugabe wurde die Mutterlauge abpipettiert (ML 1: 2,08 μMol ($\mathcal{E}(\text{C}_6\text{H}_6/594) = 12'000$)) und die Kristalle analog aus Aceton/Hexan umkristallisiert (ML 2: 0,604 μMol ($\mathcal{E}(\text{C}_6\text{H}_6/594) = 12'000$)). Nach dem Trocknen am HV wurden 11,9 mg (11,3 μMol) 65% kristallines Nitril isoliert.

$C_{53}H_{70}N_7O_{12}Co$

MG 1055

UV ($CH_3OH/$
0,02% HCN) 0,730 mg gelöst in 25 ml
585(11'000 max), 562(8'000 min), 547(8'900 max), 513(5'600 sh),
445(1'800 min), 420(2'500 max), 412(2'300 min), 370(31'600max),
355(14'600 sh), 332(4'800 min), 309(9'400 max), 289(6'200 min),
278(11'000 max), 260(5'800 min), (215(53'000 max)).

IR ($CHCl_3$) 2250 w (CN), 2123 w (CoCN), 1730 s ($COOCH_3$), 1580 m/
1498 s (Chromophor), 1437 m, 1400 m, 1352 m, 1150 m,
1104 m, 1005 m.

NMR (C_6D_6) 10 mg in 0,4 ml

	Bereich	Integral		
		T	E	E'
A: H-C-10: 5,69		1	0,7	0,8
B:Ester: 3,42(2)/3,40(2)/ 3,35/3,31	4,1-3,1 ppm	22	19,0	<u>22,0</u>
C: CH_3-C- 5: 2,21 CH_3-C-15 : 2,06	3,1-1,65ppm	29	29,2	33,9
D:Methyl:1,45(2)/1,10/1,04/ 0,99/0,96	1,65-0,8ppm	18	20,9	24,2

CD ($CH_3OH/$
0,02% HCN) $c = 4,26 \times 10^{-5}$ Mol/lit ($\epsilon(CH_3OH/585) = 11'000$)
583(-4,2), 561(-1,8), 540(-2,0), 519(-0,9), 506(-1,1), 467[0.0],
424(+12,8), 417(+12,2), 396(+22,1), 375[0.0], 368(-9,5),
360(-6,7), 349(-11,4), 330(-6,5), 327(-6,8), 320(-3,6), 310(-10,0),
297(-3,3 sh), 291[0.0], 279(+2,2), 268[0.0], 253(-12,1).

DC $R_f = 0,32$ (0,73)

f-Nitril: $R_f = 0,37$ (0,85)

V ANHANG

Tentative Zuordnung von Signalen in den C_6D_6 -NMR-Spektren von Derivaten des Cobesters

Schema 12

Die Positionen der eindeutig erkennbaren Signale der C_6D_6 -NMR-Spektren der verschiedenen Derivate sind im Schema 12 immer als Vergleich zu jenen des Cobesters (7) aufgezeichnet. Dabei wurde festgestellt, dass immer nur ein Teil der Signale eine veränderte Position im Spektrum zeigt. Die grössten Verschiebungen wurden nun jenen Gruppen zugeordnet, die am nächsten zur gegenüber Cobester geänderten Funktion stehen; analog bei Konformationsänderungen am nächsten zum Epimerisierungszentrum. Die gefundenen Verschiebungen und die entsprechenden hypothetischen Zuordnungen sind anschliessend nach Gruppen diskutiert. Die in der obersten Linie für Cobester bei den Signalen gezeichneten schraffierten Flächen geben die infolge verschiedener Aufnahmebedingungen verschiedenen Positionen der jeweiligen Signale an (nicht berücksichtigt sind dabei die beiden Spektren des Cobesters und des neo-Cobesters, die von der Harvard-Gruppe aufgenommen worden waren; vgl. die grosse Differenz gegenüber den 'ETH-Spektren' bei den Signalen der Methylestergruppen). Dabei ist sofort ersichtlich, dass z. B. zwischen den beiden Signalen für anguläre Methylgruppen bei 1,0 ppm nicht unterschieden werden kann.

Anguläre Methylgruppen:

Zwischen Cobester (7) und dem f-Nitril (9) tritt nur für ein Signal bei 0,98 ppm eine Verschiebung auf, dieses Signal wird jenem der Methylgruppe an C-17 zugeordnet. Diese veränderte Position bleibt, wenn man zum Spektrum des neo-f-Nitrils geht. Die bei diesem Schritt auftretenden Verschiebungen von zwei Methylgruppen werden denjenigen an C-12 zugeschrieben. Analoge Verhältnisse werden zwischen Cobester und neo-Cobester gefunden. Gegenüber den parallelen Verschiebungslinien hat die alternative Möglichkeit mit gekreuzten Linien die gleiche Berechtigung. Der grössten Verschiebung zwischen Cobester und dem Cobester-c-lacton (13) wird der Methylgruppe an C-7 zugeschrieben, wohin das Signal dieser Gruppe von der Position bei ca. 1,35 ppm verschoben wird, kann nicht gesagt werden. Die eingezeichnete Linie stellt eine Möglichkeit dar. Aus den Spektren der vier Amide (I - IV) erfolgen im wesentlichen Bestätigungen der obigen primären Zuordnungen; beim Amid IV ('e-Amid') wird die grösste Verschiebung für die α -Methylgruppe an C-12 erwartet.

Aus der Summe aller Verschiebungen ergibt sich die in der untersten Linie angegebene Signalzuordnung für die angulären Methylgruppen des Cobesters. Aus den durch die verschiedenen Aufnahmebedingungen resultierenden Unsicherheiten in den Positionen bei den sehr nahe zusammen liegenden Signalpaaren bei 1,15 und 0,98 ppm kann keine detaillierte Zuordnung getroffen werden.

Methylgruppen an C-5 und C-15:

Aus den vier Paarungen des Cobesters mit dem f-Nitril, neo-f-Nitril, neo-Cobester und dem Cobester-c-lacton kann man zu zwei alternativen Zuordnungen beim Cobester gelangen, dem im Schema 11 eingezeichneten Fall, sowie dem inversen, d.h. die Verschiebungslinien zwischen Cobester und dem f-Nitril würden sich kreuzen. Diese inverse Zuordnung, die zwischen den ersten vier Paaren sehr vernünftig wäre, würde bei den Amidinen zu grossen Widersprüchen führen, indem das Amid IV (grösster Bildungsanteil) dem b-Amid zugeordnet werden müsste (grösste Verschiebung für CH_3 -an C-5!). Dies wird aus sterischen Gründen als sehr unwahrscheinlich angesehen (vgl. S. 249). Wie dieses Beispiel zeigt, sind die getroffenen Zuordnungen recht unsicher (und dementsprechend auch gefährlich), und nur eine eingehendere Untersuchung mit mehr Verbindungen (bei möglichst gleichen Aufnahmebedingungen) könnte hier weiterhelfen.

Methylestergruppen: Infolge der sehr geringen Differenzen in den chemischen Verschiebungen für die Signale der Methylestergruppen ist eine relativ gesicherte Zuordnung nicht möglich. Einzig aus den Spektren der vier Monoamide I-IV wird vermutet, dass die Methylestergruppen der Seitenketten b, d und f zu den Signalen der Dreiergruppe bei ca. 3,4 ppm Anlass geben.

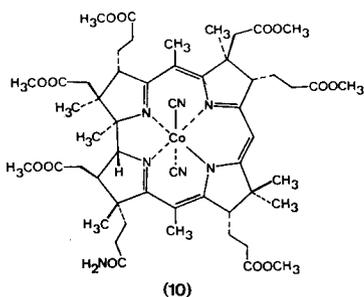
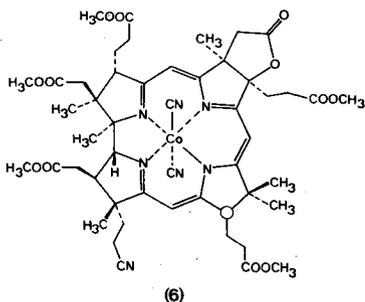
H-C-10: Die Position des Signals für das Proton an C-10 wurde einzig für die Zuordnung des Amids II (d-Amid) benutzt.

ZUSAMMENFASSUNG

Aus den rund 12-jährigen Arbeiten an der Totalsynthese von Vitamin B₁₂ sind in der vorliegenden Arbeit die Endstufen beschrieben.

Ausgehend vom 5,15-bis-nor-Cobyrinsäure-pentamethylester-c-lacton-f-nitril (6) wurden die beiden Methylgruppen an C-5 und C-15 in zwei Stufen eingeführt:

- Alkylierung des 5,15-bis-nor-Cobyrinsäure-pentamethylester-c-lacton-f-nitrils (6) mit Chlormethylbenzyläther in Gegenwart von Lithiumchlorid in Acetonitril und Aufarbeitung mit Thiophenol liefert das 5,15-Di-phenylthiomethyl-cobyrinsäure-pentamethylester-c-lacton-f-nitril (14).
- Durch Reduktion mit Zinkamalgam in Essigsäure werden die beiden Methylgruppen an C-5 und C-15 aus den Phenylthiomethylgruppen erhalten unter gleichzeitiger reduktiver Öffnung des c-Lactonringes. Die direkt anschließende Veresterung mit Diazomethan der Cobyrinsäure-pentamethylester-f-nitril-c-säure ergibt das Cobyrinsäure-hexamethylester-f-nitril (9).



Durch Behandlung mit konz. Schwefelsäure gelangt man vom Cobyrinsäure-hexamethylester-f-nitril (9) zum Cobyrinsäure-hexamethylester-f-amid (10) (C-13-Epimerengemisch). Nach LLC-Auftrennung und Kristallisation der beiden C-13-Epimere des f-Amids (10) wurden diese beiden totalsynthetischen Proben mit aus Vitamin B₁₂ erhaltenem Vergleichsmaterial identifiziert.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] G.R. Minot und W.P. Murphy, J. Amer. Med. Assoc. 87, 410 (1926)
- [2] E.L. Rickes, N.G. Brink, F.R. Koniuszy, T.R. Wood und K. Folkers, Science 107, 396 (1948)
- [3] E.L. Smith, Nature, 162, 144 (1948)
- [4] D.C. Hodgkin, J. Kamper, J. Lindsey, M. MacKay, J. Pickworth, J.H. Robertson, C. Brink-Shoemaker, J.G. White, R.J. Prosen und K.N. Trueblood, Proc. Roy. Soc. 242A, 228 (1957)
- [5] T.H. Finlay, J. Valinsky, K. Sato und R.H. Abeles, J. Biol. Chem. 247 4197 (1972)
- [6] A.I. Scott, C.A. Townsend, K. Okada, M. Kajiwara, P.J. Whitham und R.J. Cushley, J. Amer. chem. Soc. 94, 8267 (1972)
A.I. Scott, C.A. Townsend, K. Okada, M. Kajiwara und R.J. Cushley, J. Amer. chem. Soc. 94, 8269 (1972)
C.E. Brown, J.J. Katz und D. Shemin, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 69, 2585 (1972)
- [7] A.R. Battersby, M. Ihara, E. McDonald, J.R. Stephenson und B.T. Golding, J.C.S. Chem. Comm. 404 (1973)
A.R. Battersby, E. Hunt und E. McDonald, J.C.S. Chem. Comm. 442 (1973)
- [8] A.H. Jackson und K.M. Smith in J. ApSimon "The Total Synthesis of Natural Products", Wiley 1973
- [9] H.A. Barker, R.D. Smyth, H. Weissbach, J.I. Toohey, J.N. Ladd und B.E. Volcani, J. Biol. Chem. 235, 480 (1960)
- [10] P.G. Lenhert und D.C. Hodgkin, Nature 192, 937 (1961)
P.G. Lenhert, Proc. Roy. Soc. 303A, 45 (1968)
- [11] E.L. Smith, L. Mervyn, A.W. Johnson und N. Shaw, Nature 194, 1175 (1962)
K. Bernhauer, O. Müller und G. Müller, Biochem. Z. 336, 102 (1962)
- [12] K. Bernhauer, H. Dellweg, W. Friedrich, G. Gross, F. Wagner und P. Zeller, Helv. chim. Acta, 43, 693 (1960)
- [13] W. Friedrich, G. Gross, K. Bernhauer und P. Zeller, Helv. chim. Acta, 43, 704 (1960)
- [14] K. Venkatesan, D. Dale, D.C. Hodgkin, C.E. Nockolds, F.H. Moore und B.H. O'Connor, Proc. Roy. Soc. 323A, 455 (1971)
- [15] Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 348, 274 (1967)
- [16] L. Werthemann, Diss. ETH 1968
- [17] R. Bonnett, J.M. Godfrey und V.B. Math, J. chem. Soc (C) 3736 (1971)

- [18] P. Schneider, Diss. ETH 1972
- [19] E. Bertele, H. Boos, J.D. Dunitz, F. Elsinger, A. Eschenmoser, I. Felner, H.P. Gribi, H. Gschwend, E.F. Meyer, M. Pesaro und R. Scheffold, *Angew. Chem.* 76, 393 (1964)
- [20] R.B. Woodward, *Pure and Appl Chem.* 17, 519 (1968)
- [21] J. Wild, Diss. ETH 1964
- [22] U. Locher, Diss. ETH 1964
- [23] A. Wick, Diss. ETH 1964
- [24] R. Wiederkehr, Diss. ETH 1968
- [25] P. Löliger, Diss. ETH 1968
- [26] P. Dubs, Diss. ETH 1969
- [27] M. Roth, P. Dubs, E. Götschi und A. Eschenmoser, *Helv. chim. Acta*, 54, 710 (1971)
- [28] W. Huber, Diss. ETH 1969
- [29] E. Götschi, Diss. ETH 1973
E. Götschi, W. Hunkeler, H. Wild, P. Schneider, W. Fuhrer, J. Gleason und A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* im Druck
- [30] D. Jauering, Diss. Uni Stuttgart 1968
D. Jauering, P. Rapp und G. Ruoff, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 354, 957 (1973)
- [31] P. Rapp und G. Ruoff, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 354, 967 (1973)
- [32] R.B. Woodward, *Pure and Appl. Chem.* 25, 283 (1971)
- [33] A. Eschenmoser, *Quart. Rev.* 24, 366 (1970)
- [34] R.B. Woodward, *Pure and Appl. Chem.* 33, 145 (1973)
- [35] W. Fuhrer, Diss. ETH 1973
- [36] R.B. Woodward, *Chem. Soc. Special Publ. No. 21*, 217 (1967)
- [37] Y. Yamada, D. Miljkovic, P. Wehrli, B. Golding, P. Löliger, R. Keese, K. Müller und A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* 81, 301 (1969)
- [38] W. Schilling, Diss. ETH in Vorbereitung
- [39] A. Eschenmoser, XXIII rd. IUPAC-Congress, *Vol. 2*, 69 (1971)
- [40] J. Schreiber, *Chimia*, 25, 405 (1971)
- [41] P. Rapp und U. Oltersdorf, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 354, 32 (1973)
- [42] R. Bonnett, J.M. Godfrey, V.B. Math, E. Edmond, H. Evans und O.J.R. Hodder, *Nature* 229, 473 (1971)
- [43] H. Stöckli-Evans, E. Edmond und D.C. Hodgkin, *J.C.S. Perkin II*, 605 (1972)
- [44] Mitteilung der Harvard-Gruppe Herbst 1972

- [45] W. Fuhrer, P. Schneider, W. Schilling, H. Wild, J. Schreiber und A. Eschenmoser, *Chimia* 26, 320 (1972)
H. Maag, N. Obata, A. Holmes, P. Schneider, W. Schilling, J. Schreiber und A. Eschenmoser, *Chimia* 26, 320 (1972)
- [46] N. Obata, *Arbeitsbericht ETH* 1972
- [47] P. Gygax, T.K. Das Gupta und A. Eschenmoser, *Helv. Helv. chim. Acta* 55, 2205 (1972)
- [48] K. Lindner, *Diss. ETH in Vorbereitung*
- [49] R. Bonnett, J.R. Cannon, V.M. Clark, A.W. Johnson, L.F.J. Parker, E.L. Smith und A. Todd, *J. chem. Soc.* 1158 (1957)
- [50] A.B. Holmes, *Arbeitsbericht ETH* (1972)
- [51] E.L. Winnacker, *Diss. ETH* 1968
- [52] A. Hamilton und A.W. Johnson, *J. chem. Soc. (C)*, 3879 (1971)
- [53] H. Gross und E. Höft, *Angew. Chem.* 79, 358 (1967)
- [54] R. Keese, *Tetrahedron Letters*, 149 (1969)
- [55] N. Hashimoto, *Arbeitsbericht ETH* 1971
- [56] R.L. Shriner, H.C. Struck und W.J. Jorison, *J. Amer. chem. Soc.* 52, 2060 (1930)
- [57] T.J. Curphey, *Org. Syntheses*, 51, 142 (1971)
- [58] P. Stütz und P.A. Stadler, *Helv. chim. Acta*, 55, 75 (1972)
- [59] J. Schreiber, H. Maag, N. Hashimoto und A. Eschenmoser *Angew. Chem.* 83, 355 (1971)
- [60] K. Blatt, *Arbeitsbericht ETH* 1971
- [61] E. Kühle, *Synthesis* 561 (1970), 563, 617 (1971)
- [62] A. Senning, *Acta chem. Scand.* 17, 2570 (1963)
- [63] H. Brintzinger, H. Koddebusch, K.E. Kling und G. Jung, *Chem. Ber.* 85, 455 (1952)
- [64] A. McKillop, J.D. Hunt, M.J. Zelesko, J.S. Fowler, E.C. Taylor, G. McGillivray und F. Kienzle, *J. Amer. chem. Soc.* 93, 4841 (1971)
E.C. Taylor und A. McKillop, *Accounts chem. Res.* 3, 338 (1970)
- [65] R. Scheffold und U. Michel, *Angew. Chem.* 84, 160 (1972)
- [66] P.G. Gassman, D.K. Dygos und J.E. Trent, *J. Amer. chem. Soc.* 92, 2084 (1970)
- [67] B. Zagalak, *Acta Biochim. Pol.* 10, 387 (1963)
- [68] W. Friedrich, H. Ohlms, W. Sandeck und R. Bieganowski *Z. Naturforsch.* 22b, 839 (1967)
- [69] D.C. Hodgkin (nicht publiziert), *Privatmitteilung an Prof. A. Eschenmoser*
- [70] R.A. Firth, H.A.O. Hill, J.M. Pratt, R.J.P. Williams und W.R. Jackson, *Biochemistry*, 6, 2178 (1967)

- [71] P. Day, *Theoret. chim. Acta*, 7, 328 (1967)
P.O'D. Offenhartz, B.H. Offenhartz und M.M. Fung,
J. Amer. chem. Soc. 92, 2966 (1970)
A.J. Thomson, *J. Amer. chem. Soc.* 91, 2780 (1969)
- [72] R. Bonnett, J.M. Godfrey, V.B. Math, P.M. Scopes und R.H. Thomas,
J.C.S. Perkin I, 252 (1973)
- [73] J. Seibl, *Organic Mass Spectrometry*, 1, 215 (1968)
- [74] H. Vogelmann, *Diss. TH Stuttgart* 1967
- [75] P.D. Caesar, *Org. Synth. Coll. Vol. IV*, 695 (1963)
- [76] K. Bernhauer, H. Vogelmann und F. Wagner, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 349, 1281 (1968)
- [77] D.C. Hodgkin, J. Pickworth, J.H. Robertson, R.J. Prosen,
R.A. Sparks und K.N. Trueblood, *Proc. Roy. Soc.* 251 A, 306(1959)
- [78] W. Friedrich, *Biochem. Z.* 342, 143 (1965)
- [79] K. Bernhauer, F. Wagner, H. Beisbarth, P. Rietz und H. Vogelmann, *Biochem. Z.* 344, 289 (1966)
K. Bernhauer, H. Vogelmann und F. Wagner, *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.* 349, 1271 (1968)

LEBENS LAUF

Am 24. Mai 1945 wurde ich in Eglisau geboren. Dort besuchte ich die Primar- und Sekundarschule. 1960 trat ich in die Oberrealschule in Winterthur ein, die ich nach bestandener Maturitätsprüfung (Typus C) im Herbst 1964 wieder verliess. Darauf begann ich das Chemiestudium an der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich, welches ich Ende 1969 mit dem Diplom als Chemiker abschloss. Anschliessend arbeitete ich am Organisch-chemischen Laboratorium der ETH unter der Leitung von Prof. Dr. A. Eschenmoser an der vorliegenden Promotionsarbeit.

Zürich, Oktober 1973

Hans Maag