

Nimmt man an, daß sich für jede Dosis ein „Gleichgewicht“ zwischen Desaktivierung und Persulfonsäurebildung einstellt, so könnte dies die Dosislinearität der Reaktion erklären.

Herrn Prof. Dr. G. SCHMID danken wir für die Bereitstellung von Institutsmitteln. Das BUNDESMINISTERIUM FÜR WISSENSCHAFTLICHE FORSCHUNG unterstützte uns mit Sachmitteln und einem Stipendium, die FARBENFABRIKEN BAYER AG stellten Chemikalien zur Verfügung; beiden sind wir zu Dank verpflichtet.

## SYNTHESE VON [1-<sup>14</sup>C]-MARKIERTEN *all-cis*-POLYENFETTSÄUREN

VON WILHELM STOFFEL

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Köln

Eingegangen am 18. April 1963

Substituierte Propargylbromide können mit den GRIGNARD-Verbindungen von  $\omega$ -Chlor-alkinen-(1) zu 1-Chlor-polyinen kondensiert werden. Halbhydrierung mit LINDLAR-Katalysator führt zu den entsprechenden *all-cis*-1-Chlor-polyenen. Diese liefern mit Na<sup>14</sup>CN in trockenem Dimethylsulfoxyd in fast quantitativer Ausbeute *all-cis*-Polyensäurenitrile, die schonend durch saure Verseifung in die [1-<sup>14</sup>C]-markierten Polyenfettsäuren übergeführt werden können. Nach dieser allgemein anwendbaren Methode wurden in der Carboxylgruppe markierte Linolsäure,  $\gamma$ -Linolensäure, 8.11.14-Eicosatriensäure (Homo- $\gamma$ -linolensäure) und 5.8.11.14-Eicosatetraensäure (Arachidonsäure) synthetisiert.

Die hochungesättigten Fettsäuren, die weitverbreitet als Acylkomponenten von tierischen Organ-Phospholipoiden und in den Triglyceriden des Fischöls vorkommen, besitzen folgende charakteristische Struktureigenschaften: 1) Die olefinischen Doppelbindungen sind im Polyallyl-Rhythmus angeordnet, 2) sie haben *all-cis*-Konfiguration, 3) alle Säuren können auf Grund der zwischen der terminalen Doppelbindung und der endständigen Methylgruppe befindlichen Kohlenstoffkette in solche vom Linolsäure-, Linolensäure-, Ölsäure- und Palmitoleinsäure-Typus geordnet werden<sup>1)</sup>.

Unsere Untersuchungen über den Mechanismus der Biosynthese und den Stoffwechsel der Polyensäuren<sup>2)</sup> machten eine übersichtliche Synthesemethode für jede beliebige Polyensäure mit markiertem Carboxylende wünschenswert.

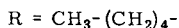
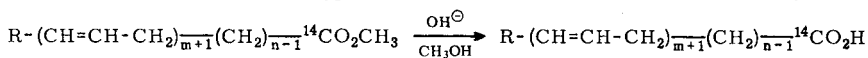
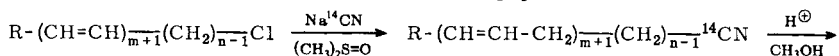
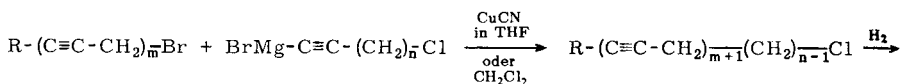
<sup>1)</sup> Zusammenfassung: E. KLENK, *Experientia* [Basel] **17**, 199 (1961).

<sup>2)</sup> W. STOFFEL, *Biochem. biophysic. Res. Commun.* **6**, 270 (1961); *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* **333**, 71 (1963).

Die heute noch allgemein angewandte Methode zur Darstellung von [1-<sup>14</sup>C]-Linol- und [1-<sup>14</sup>C]- $\gamma$ -Linolensäure<sup>3,4)</sup> hat wesentliche Nachteile: 1) Sie führt zu einem durch *trans*-Isomere sowie Konjugene stark verunreinigten Produkt, 2) die Carboxylierung verläuft mit sehr geringer Ausbeute, 3) sie ist auf wenige, natürlich vorkommende Ausgangssäuren beschränkt.

Die übrigen erfolgreichen Synthesewege für Linolsäure<sup>5)</sup> und Linolensäure<sup>6)</sup> sowie die Methode der Kondensation substituierter Propargylbromide mit  $\omega$ -Acetylen-carbonsäure<sup>7,8)</sup> entfallen wegen der teils geringen Ausbeute oder der für eine radioaktive Synthese zu großen Stufenzahl. Nach der letztgenannten Methode gelangen jedoch die Synthesen von [14-<sup>14</sup>C]-Linolensäure und [17-<sup>14</sup>C]-Linolensäure<sup>9,10)</sup>. Auch [4-<sup>3</sup>H]-17.18-Linolsäure und  $\gamma$ -Linolensäure von sehr hoher spezifischer Aktivität wurden nach dem obengenannten Prinzip synthetisiert<sup>2)</sup>.

Diejenige mehrstufige Synthese einer markierten Verbindung erweist sich als Methode der Wahl, in deren Verlauf der Marker in einem der letzten Syntheseschritte und dazu in hoher Ausbeute eingeführt wird. Das nachstehende Schema<sup>11)</sup> für die Synthese [1-<sup>14</sup>C]-markierter Polyensäuren erfüllt diese Bedingungen und erwies sich als anwendbar für alle gewünschten *all-cis*-Polyenfettsäuren mit Polyallyl-Struktur:



m = 1;	n = 7	<i>all-cis</i> -9.12-Octadecadiensäure (Linolsäure)
2	4	<i>all-cis</i> -6.9.12-Octadecatriensäure ( $\gamma$ -Linolensäure)
2	6	<i>all-cis</i> -8.11.14-Eicosatriensäure (Homo- $\gamma$ -Linolensäure)
3	3	<i>all-cis</i> -5.8.11.14-Eicosatetraensäure (Arachidonsäure)

In glatter Reaktion erhält man durch Cu(I)-katalysierte Kondensation von substituierten Propargylbromiden [1-Brom-octin-(2), 1-Brom-undeca-diin-(2.5), Undeca-diin-(2.5), 1-Brom-tetradeca-triin-(2.5.8)] mit den GRIGNARD-Verbindungen von 1-Chlor- $\omega$ -alkinen [1-Chlor-nonin-(8), 1-Chlor-octin-(7), 1-Chlor-hexin-(5) und 1-Chlor-pentin-

<sup>3)</sup> D. R. HOWTON, R. H. DAVIS und J. C. NEVENZEL, J. Amer. chem. Soc. **74**, 1109 (1952).

<sup>4)</sup> J. C. NEVENZEL und D. R. HOWTON, J. org. Chemistry **23**, 933 (1958).

<sup>5)</sup> R. A. RAPHAEL und F. SONDHEIMER, J. chem. Soc. [London] **1950**, 2100; H. M. WALBORSKY, R. H. DAVIS und D. R. HOWTON, J. Amer. chem. Soc. **73**, 2590 (1951); W. J. GENSLER und G. R. THOMAS, ebenda **73**, 4601 (1951).

<sup>6)</sup> S. S. NIGAM und B. C. L. WEEDON, J. chem. Soc. [London] **1956**, 4049.

<sup>7)</sup> J. M. OSBOND und J. C. WICKENS, Chem. and Ind. **1959**, 1288.

<sup>8)</sup> J. M. OSBOND, P. G. PHILPOTT und J. C. WICKENS, J. chem. Soc. [London] **1961**, 2779.

<sup>9)</sup> E. KLENK und G. KREMER, unveröffentlichte Versuche.

<sup>10)</sup> E. KLENK, H. IXFELD und H. MÜLLER, unveröffentlichte Versuche.

<sup>11)</sup> W. STOFFEL und E. BIERWIRTH, Angew. Chem. **74**, 905 (1962).

(4)] 1-Chlor-polyine (Polyinylchloride), die äußerst empfindlich gegen Luftsauerstoff und Lichteinwirkung sind. Sie können durch Kurzwegdestillation<sup>12)</sup> oder Kristallisation bei tiefen Temperaturen als fast farblose Flüssigkeiten bzw. kristallisiert erhalten werden. Die Chlor-polyine sind, wie die IR-spektroskopische Untersuchung zeigt, frei von Allenen. Das IR-Spektrum des 1-Chlor-nonadeca-tetraens-(4.7.10.13) ist in Abbildung 1 als Beispiel wiedergegeben.

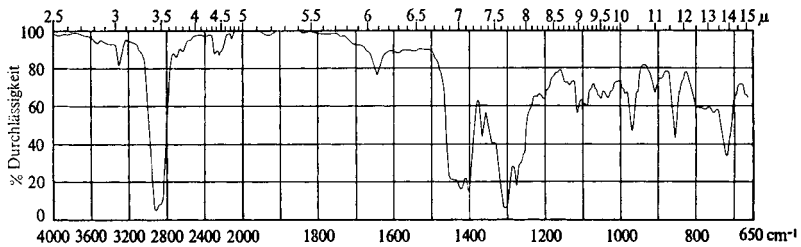


Abbildung 1. IR-Spektrum von 1-Chlor-nonadeca-tetraen-(4.7.10.13)

Die 1-Chlor-polyine werden sofort mit LINDLAR-Katalysator<sup>13)</sup> zu den entsprechenden *all-cis*-1-Chlor-polyenen halbhydriert. Voraussetzung für das Gelingen der Halbhydrierung ist ein reines Chlor-polyin. Katalysatorgifte können durch Behandlung der alkoholischen Polyinylchlorid-Lösung mit Aktivkohle oder mit GIRDLER-Katalysator G-49A in einer Stickstoffatmosphäre entfernt werden. Während die 1-Chlor-polyine äußerst empfindlich gegen Autoxydation und Lichteinwirkung sind und innerhalb weniger Stunden polymerisieren, stellen die *all-cis*-1-Chlor-polyene wesentlich unempfindlichere, farblose Flüssigkeiten dar, die bei  $-20^{\circ}$  unter Lichtausschluß monatelang unverändert aufbewahrt werden können.

Die synthetisierten *all-cis*-1-Chlor-polyene sind rein oder enthalten nur Spuren von *trans*-Isomeren, wie im IR-Spektrum aus einer schwach angedeuteten Absorption bei  $10.4 \mu$  ersichtlich ist (Abb. 2).

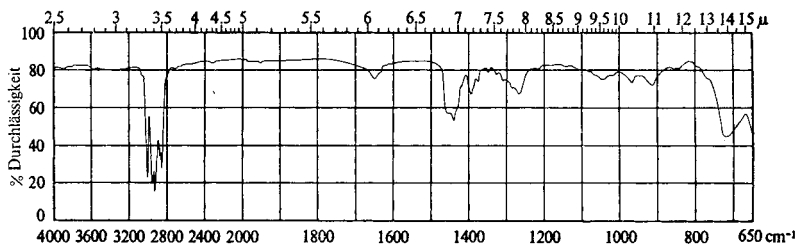


Abbildung 2. IR-Spektrum von 1-Chlor-nonadeca-tetraen-(4.7.10.13)

12) E. KLENK und H. MOHRHAUER, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **320**, 218 (1960).

13) H. LINDLAR, Helv. chim. Acta **35**, 446 (1952).

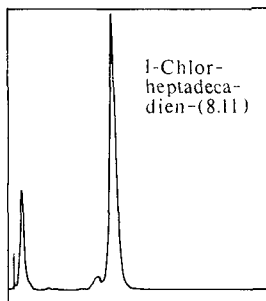


Abb. 3

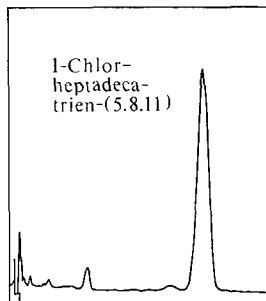


Abb. 4

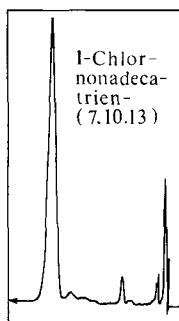


Abb. 5

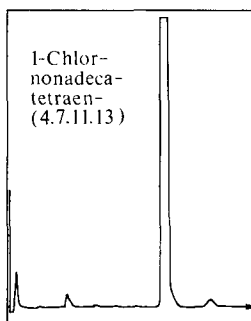


Abb. 6

Abbildung 3. Gaschromatogramm von 1-Chlor-heptadeca-dien-(8.11)

Abbildung 4. Gaschromatogramm von 1-Chlor-heptadeca-trien-(5.8.11)

Abbildung 5. Gaschromatogramm von 1-Chlor-nonadeca-trien-(7.10.13)

Abbildung 6. Gaschromatogramm von 1-Chlor-nonadeca-tetraen-(4.7.10.13)

Stationäre Phase: Äthylenglykol-Bernsteinsäurepolyester (20%) auf Kieselgur (0.1–0.2 mm).  
Trägergas: Argon. Ionisationsdetektor, *Barber-Colman*-Modell 10. Isotherm bei 185°.  
Gasdurchfluß: 60 ccm/Min.

Die Gaschromatogramme sind in den Abbildungen 3–6 wiedergegeben.

Die 1-Chlor-polyene wurden mit radioaktivem Natriumcyanid-[<sup>14</sup>C] in trockenem Dimethylsulfoxid (ein Lösungsmittel, das sich für die Nitrilsynthese mit kurzketigen Alkylchloriden als sehr geeignet erwies<sup>14)</sup>) umgesetzt. Das Chlor-polyen wurde in 20-proz. Überschuß über das Na<sup>14</sup>CN eingesetzt. So konnte eine fast quantitative Umsetzung zu den [1-<sup>14</sup>C]-Polyensäurenitrilen erzielt werden. Die Nitrilverseifung führte bei Raumtemperatur unter Zusatz einer äquivalenten Menge Wasser in methanolischer Salzsäure zum entsprechenden Methylester. Durch milde alkalische Verseifung des Methylesters wurde nach Abtrennung des Unverseifbaren (überschüssiges Chlor-polyen) die freie *all-cis*-Polyensäure erhalten.

<sup>14)</sup> R. A. SMILEY und C. ARNOLD, *J. org. Chemistry* **25**, 257 (1960).

In den meisten Fällen wurde der Methylester der Polyensäure durch Kurzwegdestillation gereinigt und als farblose Flüssigkeit erhalten. Auch die präparative Gaschromatographie erwies sich als sehr geeignet. Im Falle der  $[1-^{14}\text{C}]$ -5.8.11.14-Eicosatetraensäure und der  $\gamma$ -Linolensäure führte die Halbhydrierung zu einer Spur Trien- bzw. Diensäure. Diese Verunreinigungen wurden durch Gegenstromverteilung über 1500 bzw. 1250 Stufen in der CRAIG-Apparatur im Lösungsmittelsystem Heptan/Acetonitril/Methanol/Eisessig (3:1:1:1) abgetrennt<sup>15</sup>. In den Abbildungen 7 und 8 sind die Diagramme der Gegenstromverteilungen, in den Abbildungen 9–12 die der Gaschromatogramme der synthetisierten  $[1-^{14}\text{C}]$ -Polyenfettsäuren wiedergegeben. Die Ester erwiesen sich sowohl chemisch als auch radiochemisch rein.

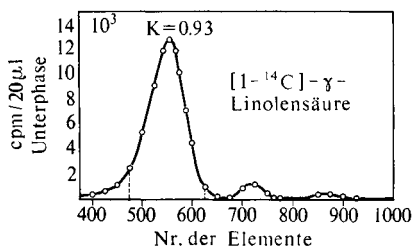


Abb. 7

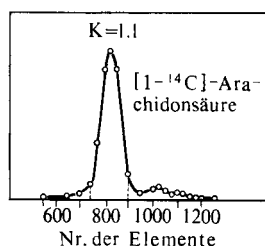


Abb. 8

Abbildung 7. Gegenstromverteilung von  $[1-^{14}\text{C}]$ - $\gamma$ -Linolensäure nach 1250 Stufen  
Abbildung 8. Gegenstromverteilung von  $[1-^{14}\text{C}]$ -Arachidonsäure nach 1500 Stufen  
System: Heptan/Methanol/Acetonitril/Eisessig (3:1:1:1)

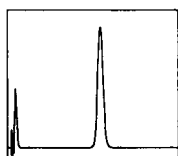


Abb. 9

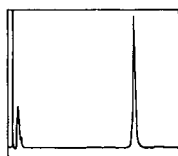


Abb. 10

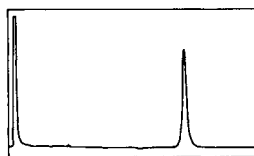


Abb. 11

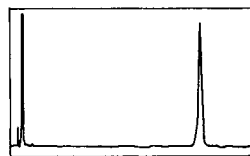


Abb. 12

Abbildung 9. Gaschromatogramm von  $[1-^{14}\text{C}]$ -Linolensäure  
Abbildung 10. Gaschromatogramm von  $[1-^{14}\text{C}]$ - $\gamma$ -Linolensäure  
Abbildung 11. Gaschromatogramm von  $[1-^{14}\text{C}]$ -8.11.14-Eicosatriensäure  
Abbildung 12. Gaschromatogramm von  $[1-^{14}\text{C}]$ -Arachidonsäuremethylester  
Bedingungen siehe Abbildungen 3–6

Die weitere Charakterisierung und der Strukturbeweis erfolgte 1) durch Bestimmung der Wasserstoffzahl in der Mikrohydrierapparatur nach CLAUSON-KAAS und LIMBORG<sup>16</sup>, 2) durch Co-chromatographie von authentischen und synthetisierten

<sup>15</sup> E. H. AHRENS JR. und L. C. CRAIG, J. biol. Chemistry **195**, 299 (1952).

<sup>16</sup> N. CLAUSON-KAAS und F. LIMBORG, Acta chem. scand. **1**, 884 (1952).

bzw. hydrierten Methylestern, 3) durch IR- und UV-spektroskopische Untersuchung der alkaliisomerisierten und der nicht isomerisierten Säuren, 4) durch gaschromatographische Identifizierung der bei der oxydativen Ozonolyse<sup>17)</sup> anfallenden Dicarbonsäuren (Abb. 15–18) sowie 5) durch Schmelz- und Mischschmelzpunktsbestimmung der vollständig hydrierten Säuren mit authentischen Säuren.

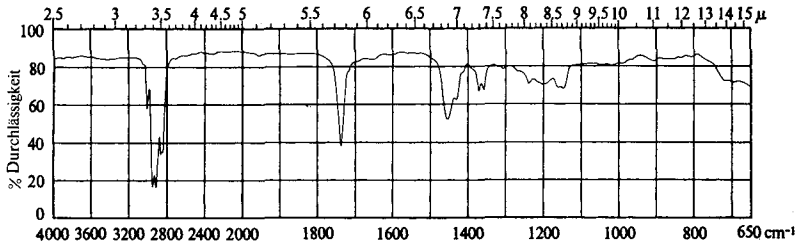


Abbildung 13. IR-Spektrum des synthet. [1-<sup>14</sup>C]-Arachidonsäuremethylesters

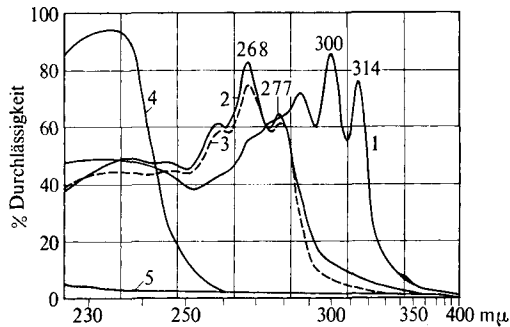
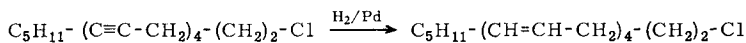
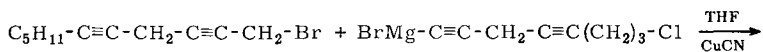
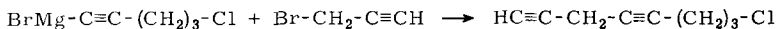


Abbildung 14. UV-Spektren nach Alkaliisomerisation (mit 21% KOH in Glykol, 8 Min. bei 180°) des [1-<sup>14</sup>C]-Arachidonsäuremethylesters (Kurve 1), [1-<sup>14</sup>C]-8.11.14-Eicosatriensäuremethylesters (Kurve 2), [1-<sup>14</sup>C]- $\gamma$ -Linolensäuremethylesters (Kurve 3), des [1-<sup>14</sup>C]-Linolensäuremethylesters (Kurve 4) und der nicht isomerisierten Proben (Kurve 5)

1-Chlor-nonadeca-tetraen-(4.7.10.13) wurde auch nach folgendem Reaktionsschema synthetisiert:



<sup>17)</sup> E. KLENK und W. BONGARD, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **290**, 181 (1952).

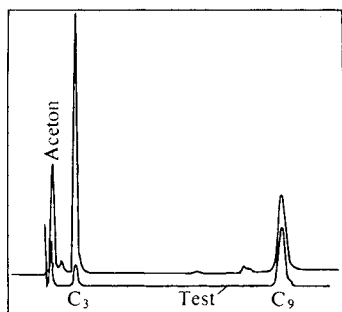


Abb. 15

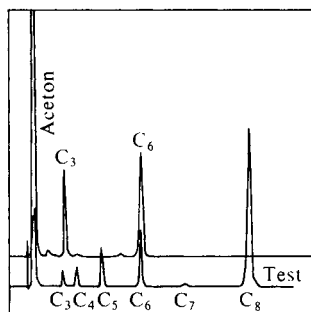


Abb. 16

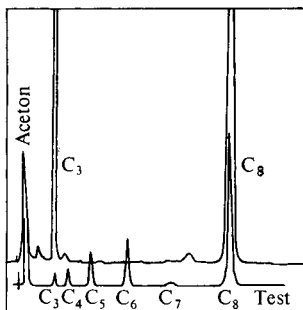


Abb. 17

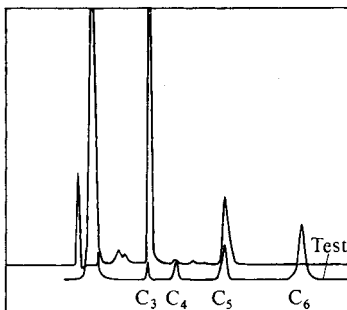


Abb. 18

Gaschromatogramme der Abbau-Dicarbonsäuredimethylester (in Verbindung mit Testgemischen)

Abbildung 15. von carboxyl-markierter Linolsäure

Abbildung 16. von carboxyl-markierter  $\gamma$ -Linolensäure

Abbildung 17. von carboxyl-markierter 8.11.14-Eicosatriensäure

Abbildung 18. von carboxyl-markierter Arachidonsäure

Isotherm bei 145°. Die übrigen Bedingungen siehe Abb. 3–6

1-Chlor-octa-diin-(4.7) wurde durch Kondensation von Propargylbromid mit der GRIGNARD-Verbindung des 1-Chlor-pentins-(4) in 60-proz. Ausbeute erhalten. Die Verbindung polymerisiert rasch und wurde deshalb sofort nach der Destillation in die Kupplungsreaktion eingesetzt.

## BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Die *Schmelzpunkte* und *Siedepunkte* sind unkorrigiert. — Die *IR-Spektren* wurden als Film mit dem Infracord oder dem Gitterspektrographen (Modell 125) der Firma PERKIN-ELMER, die *UV-Spektren* mit dem BECKMAN-UV-Spektrographen DK2 aufgenommen. — Die *gaschromatographischen Analysen* aller Zwischen- und Endprodukte wurden mit dem BARBER-COLMAN-Gaschromatographen Modell 10 an einer Säule (200 × 0.4 cm) mit 20% Reoplex 400 oder Äthylenglykolbernsteinsäure-Polyester auf Kieselgur (0.1–0.2 mm) bei einer Detektorspannung von 1250 V aufgenommen. Trägergas: Argon. — Die *präparative Gaschromatographie* wurde mit dem Gaschromatographen der Firma RUBARTH an einer Säule (180 × 1.2 cm) mit Apiezon L (20%) auf Kieselgur (0.2–0.4 mm) bei 220° durchgeführt. Trägergas: Wasserstoff. — Die *Radioaktivitätsbestimmungen* wurden im Flüssigkeitsszintillationszähler der Firma PACKARD, La Grange, Illinois/USA durchgeführt. Eingestellte Zähl- ausbeute: 50%.

Alle Reaktionen wurden in Stickstoffatmosphäre und weitgehend unter Ausschluß des diffusen Tageslichtes vorgenommen.

*1-Chlor-polyene*. — 0.11 g-Atom *Magnesiumspäne* wurden mit 50 ccm trockenem (über LiAlH<sub>4</sub> destilliertem) Tetrahydrofuran (THF) überschichtet. Dazu ließ man etwa 1/3 einer Lösung von 0.11 Mol *Äthylbromid* in 50 ccm THF unter Rühren und unter Ausschluß der Luftfeuchtigkeit zufließen. Nachdem die Reaktion in Gang gekommen war, wurde die restliche Äthylbromid-Lösung im Verlauf einer Stunde unter Eiswasserkühlung zugetropft und dann eine weitere Stunde bei Raumtemperatur gerührt. 0.1 Mol *ω-Chlor-alkin-(1)* [1-Chlor-nonin-(8), 1-Chlor-octin-(7), 1-Chlor-hexin-(5), 1-Chlor-pentin-(4)] in 75 ccm THF wurde im Laufe von 60 Min. bei 0° zugetropft und weitere 4 Stdn. bei Raumtemperatur nachgerührt, dann 2 g *Kupfer(1)-cyanid* zugefügt. Nach 15 Min. wurden 0.10 Mol *substituiertes Propargylbromid* [1-Brom-octin-(2), 1-Brom-undeca-diin-(2.5), 1-Brom-tetradeca-triin-(2.5.8)] in 75 ccm THF bei Raumtemperatur im Laufe von 30 Min. eingetropt und dann in einer Stickstoffatmosphäre 12 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Das Reaktionsprodukt wurde auf 2*n* Schwefelsäure-Eiswasser gegossen und das Polyin mit peroxydfreiem Äther aufgenommen, zweimal mit 2*n* Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und Wasser gewaschen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach dem Einengen der ätherischen Lösung wurden niedrig siedende Komponenten bei 60° Badtemperatur und 0.2 Torr abdestilliert, der Rückstand wurde der Kurzwegdestillation unterworfen. Alle Chlor-diene und -triene stellen farblose Flüssigkeiten dar. 1-Chlor-nonadeca-tetraen-(4.7.10.13) kristallisiert bei 18–20°. Sie polymerisieren leicht unter Einwirkung von Licht und Sauerstoff unter Farbvertiefung.

*1-Chlor-polyene*. — 0.1 Mol *1-Chlor-polyin* wurde in 150–200 ccm dest. Methanol oder Heptan gelöst, 0.1 ccm *Chinolin* und 4–8 g frisch präparierter *Lindlar-Katalysator* zugefügt und halbhhydriert. Die Wasserstoffaufnahme kam bei 100–105% d. Th. zum Stehen; die Hauptmenge wurde in 30–45 Min. aufgenommen. Im Falle des 1-Chlor-heptadeca-triins-(5.8.11) verlief die Halbhhydrierung exotherm; deshalb wurde mehrmals unterbrochen und gekühlt. War das Chlor-polyin durch Autoxydation schon leicht gelb gefärbt, so wurden Katalysatorgifte durch Schütteln mit GIRDLER-Katalysator G 49A in einer N<sub>2</sub>-Atmosphäre entfernt und die Halbhhydrierung sofort nach Absaugen des Nickels angeschlossen. Wurde Alkohol als Lösungsmittel verwandt, so wurde dieser abgedampft, der Rückstand in Petroläther aufgenommen und



das Chinolin mit  $2n$  HCl ausgewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, das Lösungsmittel i. Vak. abgedampft und der Rückstand durch Kurzwegdestillation oder präparative Gaschromatographie (GLC) gereinigt. Die 1-Chlor-polyene stellen farblose Flüssigkeiten dar. Sie sind wesentlich stabiler als die 1-Chlor-polyene.

Alle 1-Chlor-polyene erwiesen sich in der gaschromatographischen Analyse zu über 95% als rein. Nur das 1-Chlor-nonadeca-tetraen-(4.7.10.13) zeigte im IR-Spektrum eine ange deutete Absorption im Bereich der *trans*-Bande (10.4  $\mu$ ).

*Nitrilsynthese mit  $\text{Na}^{14}\text{CN}$  und Verseifung des Nitrils:* 300 mg (6 mMol, 1mC) [ $^{14}\text{C}$ ]-Natriumcyanid wurden in 10 ccm über Calciumhydrid getrocknetem Dimethylsulfoxyd gelöst und zusammen mit 8 mMol 1-Chlor-polyen unter Rühren und unter Stickstoff 3 Stdn. auf 120° erhitzt. Das tiefbraune Reaktionsgemisch wurde dann auf Eiswasser gegossen, das Nitril in Petroläther (30–60°) aufgenommen, die petrolätherische Lösung mehrmals mit Wasser gewaschen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach dem Einengen wurde der schwachgelbe Rückstand in 50 ccm 25-proz. methanol. HCl unter Zusatz einer äquivalenten Menge Wasser zunächst 2 Stdn. bei 0° und dann 12 Stdn. bei Raumtemperatur unter Stickstoff gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Eis gegossen, der Ester in Petroläther aufgenommen, neutral gewaschen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels i. Vak. wurde der Ester mit dem 30fachen Volumen 2-proz. methanol. KOH durch 1–2stdg. Erhitzen unter Rückfluß verseift und das Unverseifbare mit Petroläther extrahiert (überschüssiges 1-Chlor-polyen; dieses wurde je nach der darin noch vorhandenen Aktivität nochmals wie oben mit HCl behandelt). Die alkalische Lösung wurde unter Eiskühlung angesäuert und die freie Polyensäure in Petroläther aufgenommen. Nach dem Trocknen und Verdampfen der petrolätherischen Lösung wurde die Säure sofort wieder mit 2-proz. methanol. HCl verestert.

Die Reinigung des Esters erfolgte entweder durch Kurzwegdestillation, präparative Gaschromatographie oder durch Chromatographie an Kieselsäure (Säule: 10 × 1 cm) mit Äther/Petroläther (1:3) als Elutionsmittel.  $\gamma$ -Linolen- und Arachidonsäure wurden durch Gegenstromverteilung im System Heptan/Methanol/Acetonitril/Eisessig über 1250 bzw. 1500 Stufen gereinigt.

Die Ausbeuten betragen mehr als 80%, bezogen auf die eingesetzte Radioaktivität. Die Verbindungen waren gaschromatographisch und auf Grund der übrigen Analysendaten sowohl chemisch als auch radiochemisch rein. Alle Synthesen wurden in Ansätzen von 6 mMol vorgenommen. Die spezifische Aktivität der einzelnen Polyenfettsäuren lagen zwischen 0.15 und 0.17 mC/mMol.

[ $^{14}\text{C}$ ]-Linolsäure<sup>18)</sup>. — Durch Umsetzung von Amylbromid mit dem Natriumsalz des Tetrahydro-2-prop-2'-inyloxyppyran in flüssigem Ammoniak und anschließende Spaltung des Acetals mit Schwefelsäure oder *p*-Toluolsulfonsäure wurde Octin-(2)-ol-(1)<sup>19)</sup> in 75-proz. Ausbeute erhalten; Sdp.<sub>10</sub> 88–90°;  $n_D^{20} = 1.4561$ . Die Bromierung mit Phosphortribromid in Äther ergab 1-Brom-octin-(2)<sup>20)</sup> in 70% Ausbeute; Sdp.<sub>12</sub> 90–91°;  $n_D^{20} = 1.4862$ .

1-Chlor-nonin-(8) wurde über die Stufen Pimelinsäuredimethylester → Heptandiol-(1.7) → Heptan-chlorhydrin-(1.7) (Sdp.<sub>13</sub> 120–121°,  $n_D^{20} = 1.4553$ ) → 1-Brom-7-chlor-heptan (Sdp.<sub>13</sub> 116–118°) → 1-Chlor-nonin-(8) (Sdp.<sub>13</sub> 94°;  $n_D^{20} = 1.4549$ ) synthetisiert. 1-Chlor-hepta-

<sup>18)</sup> E. BIERWIRTH, Dissertation Univ. Köln 1964.

<sup>19)</sup> J.-M. CONIA, Bull. Soc. chim. France 1955, 1449.

<sup>20)</sup> T.-Y. LAI, Bull. Soc. chim. France 53, 1533 (1937).

*deca-diin*-(8.11) wurde nach der allgemeinen Vorschrift in 85-proz. Ausbeute erhalten. Anschließend Kurzwegdestillation (100–120°/10<sup>-4</sup> Torr) gab ein farbloses Produkt. Die Halbhydrierung führte zu dem gaschromatographisch reinen *all-cis-1-Chlor-heptadeca-dien*-(8.11), das nach Kurzwegdestillation bei einer Badtemperatur von 80°/10<sup>-4</sup> Torr als farblose Flüssigkeit erhalten wurde;  $n_D^{20} = 1.4702$ . — Das Nitril wurde in einem 6m-Mol-Ansatz (1 mC) nach der allgemeinen Vorschrift in fast quantitativer Ausbeute erhalten. Verseift wurde das Rohprodukt der Nitrilsynthese. Der *Linolsäuremethylester* wurde in 90-proz. Ausbeute nach der alkalischen Verseifung und Abtrennung des Unverseifbaren als gaschromatographisch reines Produkt erhalten. E<sub>236</sub> = 26000. Wasserstoffzahl: Einwaage 18.5 mg; ber. 3.96 ccm, gef. 3.94 ccm H<sub>2</sub>. Spezif. Aktivität der Linolsäure: 0.160 mC/mMol.

Schmp. der hydrierten Säure 69°; Mischschmelzpunkt mit Stearinsäure 69°. Als Abbaudicarbonsäuren wurden Malonsäure (0.60 Mol) und Azelainsäure (1 Mol) isoliert (Abb. 16).

[1-<sup>14</sup>C]-6.9.12-Octadecatriensäure ( $\gamma$ -Linolensäure). — *1-Brom-undeca-diin*-(2.5)<sup>8)</sup> (Sdp.<sub>0.6</sub> 86°;  $n_D^{20} = 1.5155$ ) und *1-Chlor-hexin*-(5) (Sdp. 144°;  $n_D^{20} = 1.4482$ ) wurden in der oben beschriebenen Weise gekuppelt. Das *1-Chlor-heptadeca-triin*-(5.8.11) wurde in 85-proz. Ausbeute erhalten. Die Reinigung erfolgte durch Kurzwegdestillation bei einer Badtemperatur zwischen 100 und 120°/10<sup>-4</sup> Torr;  $n_D^{20} = 1.4985$ . Halbhydrierung lieferte ein farbloses *all-cis-1-Chlor-heptadeca-trien*-(5.8.11),  $n_D^{20} = 1.4778$ , das gaschromatographisch etwa 3–5% 1-Chlor-dien enthielt. Die Nitrilsynthese und anschließende Verseifung verlief mit 90% Ausbeute. Gaschromatographisch reine  $\gamma$ -Linolensäure wurde durch Gegenstromverteilung mit der CRAIG-POST-Apparatur mit 500 Elementen (10 ccm Ober- und 10 ccm Unterphase) über 1250 Stufen erhalten (Abb. 9). Ausbeute: 1.35 g (4.8 mMol), spezif. Aktivität: 0.148 mC/mMol. E<sub>268</sub> = 23000, E<sub>277</sub> = 19300. Die Hydrierzahl war nahezu theoretisch (Einwaage 17.6 mg; ber. 4.25 ccm, gef. 4.27 ccm H<sub>2</sub>). Schmp. der hydrierten Säure 69°, Mischschmelzpunkt mit Stearinsäure 69°. Als Abbaudicarbonsäuren wurden Malonsäure (1.2 Mol) und Adipinsäure (1 Mol) (Abb. 17) gefunden.

[1-<sup>14</sup>C]-8.11.14-Eicosatriensäure (*Homo- $\gamma$ -linolensäure*). — *1-Chlor-octin*-(7) wurde über die Stufen *Hexamethylenchlorhydrin* (Sdp.<sub>12</sub> 112°;  $n_D^{20} = 1.4550$ ) → *1-Brom-6-chlor-hexan* (Sdp.<sub>11</sub> 97°;  $n_D^{20} = 1.4814$ ) → *1-Chlor-octin*-(7) synthetisiert (Sdp.<sub>12</sub> 80°;  $n_D^{20} = 1.4527$ ). Umsetzung mit *1-Brom-undeca-diin*-(2.5) gab *1-Chlor-nonadeca-triin*-(7.10.13) in 85% Ausbeute. Kurzwegdestillation bei einer Badtemperatur von 120–135°/10<sup>-4</sup> Torr gab ein farbloses Produkt, das bei –15° kristallisierte. Halbhydrierung und anschließende Kurzwegdestillation (Bad: 80–100°/10<sup>-4</sup> Torr) führte zu einem *trans*-freien, farblosen *all-cis-1-Chlor-nonadeca-trien*-(7.10.13),  $n_D^{20} = 1.4797$ . Nitrilsynthese, Nitrilverseifung, Verseifung des Esters und Abtrennung des Unverseifbaren führte zu 1.71 g (5.7 mMol) *8.11.14-Eicosatriensäure*. Spezif. Aktivität 0.165 mC/mMol. UV-Absorption nach der Alkaliisomerisation: E<sub>268</sub> = 27000, E<sub>277</sub> = 21000. Die Wasserstoffaufnahme entsprach der theoretisch berechneten Menge (Einwaage 9.5 mg; ber. 2.08 ccm, gef. 2.08 ccm H<sub>2</sub>). Schmp. der hydrierten Säure 76°, Mischschmelzpunkt mit Arachinsäure 76°. Als Abbaudicarbonsäuren wurden erhalten: Malonsäure (1.16 Mol) und Korksäure (1 Mol) (Abb. 18).

[1-<sup>14</sup>C]-5.8.11.14-Eicosatetraensäure (*Arachidonsäure*). — *1-Brom-tetradeca-triin*-(2.5.8)<sup>8)</sup> und *1-Chlor-pentin*-(4) wurden nach der allgemeinen Vorschrift in 75-proz. Ausbeute kondensiert. Das *1-Chlor-nonadeca-tetrain*-(4.7.10.13) wurde bei einer Badtemperatur von 120–140°/

$10^{-4}$  Torr durch Kurzwegdestillation gereinigt und aus Petroläther (30–60°) umkristallisiert. Schmp. 18–20°, weiße Nadeln. Die Halbhydrierung des reinen 1-Chlor-tetraens lieferte das farblose *all-cis-1-Chlor-nonadeca-tetraen*-(4.7.10.13), das nach der Kurzwegdestillation oder präparativen Gaschromatographie als farblose Flüssigkeit anfiel,  $n_D^{20} = 1.4890$ . Im IR-Spektrum war eine sehr schwache Absorption bei 10.4  $\mu$  (*trans*-Bande) angedeutet. Nach der Nitrilsynthese, Verseifung des Nitrils und des Esters, sowie der Abtrennung des Unverseifbaren erhielt man *Arachidonsäure*, die laut gaschromatographischer Analyse durch ca. 5% Trien- und 3% Diensäure verunreinigt war. Gaschromatographisch reine [ $^{14}\text{C}$ ]-Arachidonsäure wurde nach der Gegenstromverteilung über 1500 Stufen im oben angegebenen System erhalten (Abb. 10). Im UV-Bereich keine Absorption, nach Alkaliisomerisierung  $E_{300} = 23000$ ,  $E_{314} = 20400$ . Ausbeute 1.46 g (4.85 mMol), 81% d. Th., spezif. Akt. 0.175 mC/mMol. Bei der oxydativen Ozonolyse entstanden Malonsäure (1.6 mMol) und Glutarsäure (1 Mol) als Abbau-Dicarbonsäuren (Abb. 19). — Wasserstoffzahl: Einwaage 11.08 mg; ber. 3.29 ccm, gef. 3.25 ccm  $\text{H}_2$ . Schmp. der hydrierten Säure 76°, Mischschmelzpunkt mit Arachinsäure 76°.

## DARSTELLUNG UND STERISCHE ZUORDNUNG DER DIASTEREOMEREN DES 1-METHOXY-2-AMINO- 1.2-DIPHENYL-ÄTHANS

von FRIEDRICH FISCHER und DIETRICH STRAUSS

Aus dem Institut für Pflanzenchemie und Holzforschung der Technischen Universität Dresden,  
Tharandt

Eingegangen am 8. Juli 1963

Die Diastereomeren des 1-Methoxy-2-amino-1.2-diphenyl-äthans werden durch Reduktion der  $\alpha$ - und  $\beta$ -1-Methoxy-2-nitro-1.2-diphenyl-äthane dargestellt. Die sterische Zuordnung der Aminoäther erfolgt durch Vergleich ihrer *N*-Acetyl-Derivate mit denen, die durch *N*-Acetylierung und *O*-Methylierung der *threo*- und *erythro*-1.2-Diphenyl-aminoäthanoole gewonnen werden. Der Reaktionsablauf bei der Hydrierung und bei der Umlagerung der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Nitro-Verbindungen wird erörtert und die Nitro-Verbindungen werden sterisch zugeordnet.

Vor einiger Zeit haben wir die Phthalamidsäure- und Phthalimido-Derivate der Diastereomeren des 1-Methoxy-2-amino-1.2-diphenyl-äthans beschrieben, ohne auf die Synthese und die sterische Zuordnung des zugrundeliegenden Aminoäthers einzugehen<sup>1)</sup>.

Sowohl DORNOW und BOBERG<sup>2)</sup> als auch QUELET und FRAINNET<sup>3)</sup> haben ein 1-Methoxy-2-amino-1.2-diphenyl-äthan (I) dargestellt, allerdings wurden von den Autoren keine Angaben über dessen Konfiguration gemacht.

1) F. FISCHER, G. PREISSER und D. STRAUSS, Liebigs Ann. Chem. **643**, 110 (1961).

2) A. DORNOW und F. BOBERG, Chem. Ber. **83**, 261 (1950).

3) R. QUELET und E. FRAINNET, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. **236**, 492 (1953).