

Über die Vitamine K₁ und K₂

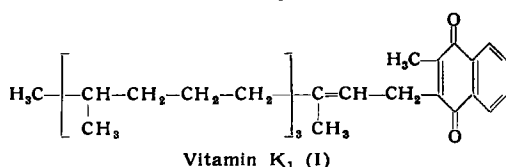
Von Dr. O. ISLER

Chemische Forschungsabteilung der Fa. Hoffmann-LaRoche & Co. A. G., Basel*)

Die K-Vitamine beeinflussen die Biosynthese des Prothrombins und weiterer Blutgerinnungsfaktoren. Vitamin-K-Mangel führt zu Störungen des Blutgerinnungsvermögens. Das synthetisch leicht auf mehreren Wegen zugängliche Vitamin K₁ ist am besten zur Herstellung pharmazeutischer Gebrauchsformen und als Standardpräparat geeignet. Das bei 54°C schmelzende Vitamin K₂ (Doisy), C₄₆H₈₄O₂, besitzt in der Seitenkette sieben Isopren-Reste. Neben dieser Verbindung produzieren Bakterien ein isoprenologes Vitamin K₂ mit sechs Isopren-Resten. Diese beiden Vitamine werden K₂₍₃₅₎ bzw. K₂₍₃₆₎ genannt.

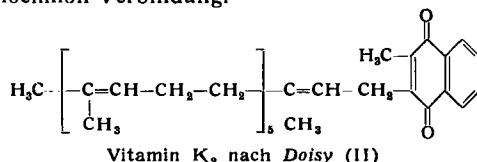
I. Einleitung

Die grundlegenden Erkenntnisse über Vitamin K₁, das Koagulationsvitamin, verdanken wir den Arbeiten von Dam¹⁾, Doisy²⁾ und Karrer^{3, 4)}, denen es 1939 nach jahrelangen Bemühungen gelang, zwei Verbindungen mit Vitamin-K-Wirkung in reiner Form aus natürlichen Ausgangsmaterialien zu isolieren, nämlich Vitamin K₁ aus Alfalfa und Vitamin K₂ aus faulendem Fischmehl. Doisy bewies die Konstitution des Vitamin K₁ sowohl durch oxydativen Abbau, als auch durch Synthese.



Vitamin K₁ stellt das 2-Methyl-3-phytyl-1,4-naphthochinon (I) dar und weist somit eine Seitenkette von vier Isopren-Resten, d. h. 4 mal 5 = 20 C-Atomen auf.

Vitamin K₂ erwies sich ebenfalls als eine 2-Methyl-1,4-naphthochinon-Verbindung.

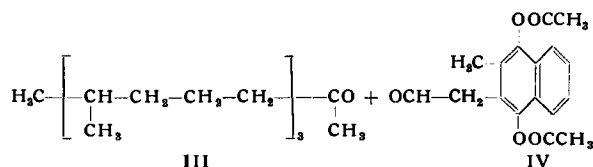


Die Abbauprobe von Doisy zeigten, daß es in der 3-Stellung eine längere und gleichzeitig ungesättigtere Seitenkette besitzt als Vitamin K₁. Der Konstitutionsbeweis durch Synthese stand für Doisy's Formulierung II aber aus.

Vitamin K₁

Vitamin K₁ ist in den grünen Pflanzenteilen enthalten. Es ist bei Zimmertemperatur ein viscoses gelbes Öl mit $n_D^{20} = 1,5263$ und $[\alpha]_D^{20} = -0,71 \pm 0,02^\circ$. Zur Reindarstellung extrahierten die Schulen von Karrer und von Doisy Alfalfa (d. h. Luzernenmehl) mit Petroläther. Karrer trennte zuerst Chlorophyll und andere Nebenprodukte ab, und reinigte darauf den Extrakt durch Molekulardestillation. Nach der Abtrennung von Sterinen wurde — immer unter Lichtausschluß — 7 bis 8 mal an Magnesium- und Zinkcarbonatsäulen chromatographiert. Doisy chromatographierte den Petrolätherextrakt an Decalso, Permutit und Darco, worauf das Produkt bei -70°C kristallisierte. Beim

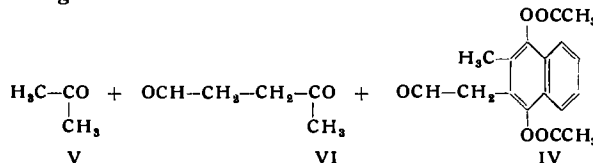
oxydativen Abbau des Vitamin K₁ erhielt Doisy neben Phthalsäure 2-Methyl-1,4-naphthochinon-3-essigsäure.



Die Ozonisierung vom Dihydrovitamin-K₁-diacetat (Fp 61–62°C) ergab neben der Ringverbindung IV, die durch Synthese identifiziert wurde, das gleiche C₁₆-Keton III, das auch beim Abbau von Phytol erhalten wird.

Vitamin K₂

Vitamin K₂, das bei 54°C schmilzt, wird von Bakterien erzeugt. Seine Reindarstellung gelang Doisy⁵⁾ aus faulendem Fischmehl durch Extraktion mit Petroläther, Chromatographie an Decalso und Permutit, Kristallisation bei -5°C, und 10maliges Umkristallisieren aus verschiedenen Lösungsmitteln.



Dihydrovitamin-K₂-diacetat (Fp 57°C) ergab bei der Ozonisierung die bekannte Ringverbindung IV; daneben Aceton (V) und eine sehr hohe Ausbeute an Lävulinaldehyd (VI). Doisy's Folgerung, daß Vitamin K₂ eine ungesättigte

Absorptionsspektren der K-Vitamine in Petroläther Vitamin K₁ Vitamin K₂

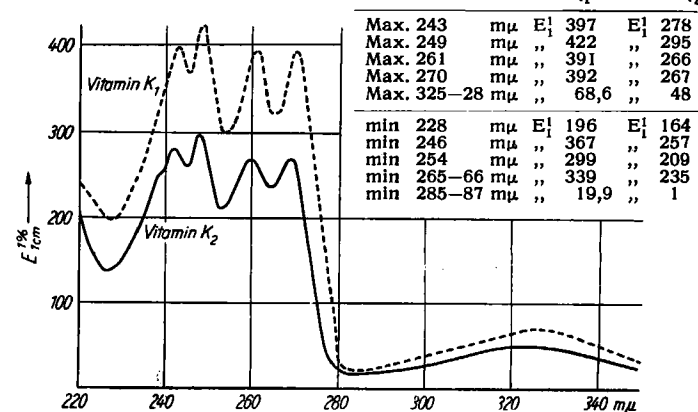


Abb. 1. Absorptionsspektren der K-Vitamine

*) Nach einem Vortrag vor der Chem. Gesellschaft in Heidelberg am 28. Januar 1958.

¹⁾ H. Dam, diese Ztschr. 50, 618, 807 [1937].

²⁾ E. A. Doisy, S. B. Binkley u. S. A. Thayer, Chem. Reviews 28, 477 [1941].

³⁾ H. Dam, A. Geiger, J. Glavind, P. Karrer, W. Karrer, E. Roth-schild u. H. Salomon, Helv. chim. Acta 22, 310 [1939].

⁴⁾ P. Karrer, A. Geiger, R. Legler, A. Rütger u. H. Salomon, ebenda 22, 1464, 1513 [1939].

⁵⁾ R. W. McKee, S. B. Binkley, S. A. Thayer, D. W. MacCor-quodale u. E. A. Doisy, J. biol. Chemistry 137, 327 [1939]; siehe auch M. Tishler u. W. L. Sampson, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 68, 136 [1948].

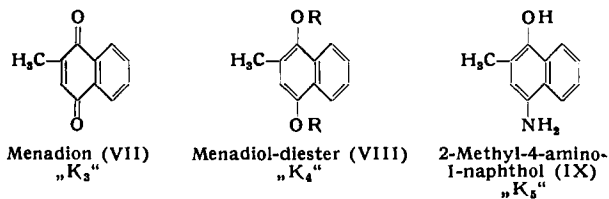
Seitenkette von 6 Isopren-Resten, d. h. 6 mal 5 = 30 C-Atome besitzt, schien mit den analytischen Befunden, wie CH-Bestimmung, Hydrierung, Bromierung und Molekulargewichtsbestimmung in Einklang zu stehen.

Die Bestimmung der K-Vitamine gelingt am sichersten durch Messung des Ultraviolett-Absorptionsspektrums, das für das Naphthochinon-Ringsystem charakteristisch ist.

Vitamin K₂ weist dementsprechend die gleichen Maxima und Minima wie Vitamin K₁ und alle isoprenologen Verbindungen auf. Infolge des größeren Molekulargewichtes ist die Extinktion beim Vitamin K₂ niedriger als beim Vitamin K₁. Im Verlaufe unserer Arbeiten brachte der Vergleich der Extinktionskoeffizienten des K₂ mit den Extinktionskoeffizienten ähnlicher Verbindungen mit bekannten Seitenketten verschiedener Länge wichtige Anhaltspunkte für die richtige Anzahl C-Atome der Vitamin-K₂-Seitenkette.

II. Biologische Grundlagen

Ansbacher und Fernholz⁶⁾ stellten 1939 fest, daß die Vitamin-K-Wirkung nicht an die Seitenkette gebunden ist; das unsubstituierte 2-Methyl-1.4-naphthochinon (VII) — das wir im folgenden Menadion nennen — besitzt ebenfalls K-Wirkung. Im gleichen Jahre entdeckte Doisy⁷⁾ die Aktivität des 2-Methyl-4-amino-naphthols IX, das oft als Vitamin K₃ angesprochen wird. In den folgenden Jahren wurde eine Reihe von Diestern des 2-Methyl-1.4-naphthohydrochinons oder Menadiols, wie z. B. das wasserlösliche Natriumdiphosphat (VIII; R = PO(ONa)₂), zur Behebung von K-Mangelzuständen in die Therapie eingeführt. Damit war die Vitamin-K-Forschung zu einem gewissen Abschluß gelangt.



Erst etwa 10 Jahre später setzte eine Neubearbeitung des ganzen Gebietes ein, dies dank der Erkenntnis, daß die Menadion-Derivate das Vitamin K₁ nicht in allen Fällen von K-Mangel zu ersetzen vermögen: eine durch Dicumarol bewirkte Verzögerung der Blutgerinnung läßt sich durch Vitamin K₁ beheben, nicht aber durch Menadion oder dessen Abkömmlinge ohne Seitenkette in der 3-Stellung. Diese Feststellung gab sowohl der klinischen als auch der chemischen Erforschung der natürlichen K-Vitamine einen starken Impuls.

Die K-Vitamine spielen bei der Biosynthese des Prothrombins sowie weiterer Gerinnungsfaktoren (Faktor VII, IX und Stuart-Faktor) eine entscheidend wichtige Rolle: Vitamin-K-Mangel wirkt sich sehr rasch in einer Senkung des sog. Prothrombin-Komplexes aus und führt damit zu schweren Störungen in der Blutgerinnung. Auffallende Mangelsymptome sind Sicker-, Gelenk-, Retina- und Nabelblutungen.

Die Einführung der K-Vitamine in die Therapie erlaubte es, die schwere Blutungsgefahr bei Operationen an der Gallenblase (Gallengangverschluß) auf ein Minimum herabzusetzen. Als lebensrettend erwies sich Vitamin K oft bei der hämorrhagischen Diathese des Neugeborenen. In den letzten Jahren hat Vitamin K₁ eine besondere Bedeutung bei der Behandlung von Blutungen infolge von Überdosierungen von Präparaten mit Dicumarol-Wirkung erlangt.

⁶⁾ S. Ansbacher u. E. Fernholz, J. Amer. chem. Soc. 61, 1924 [1939].
⁷⁾ E. A. Doisy, D. W. MacCorquodale, S. A. Thayer, S. B. Binkley u. R. W. McKee, Science [New York] 90, 407 [1939].

Tierexperimentell kann die Vitamin-K-Wirkung nach folgenden Methoden erfaßt werden:

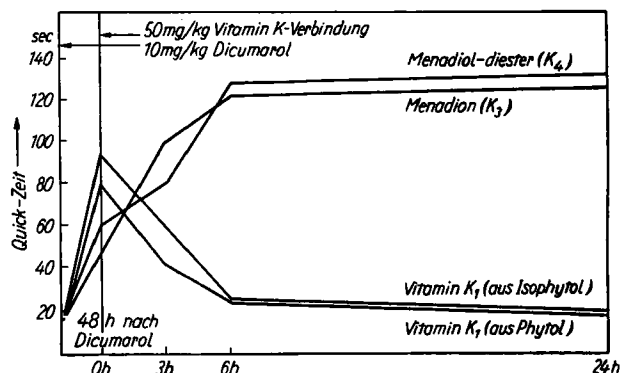
a) Im Küken-Test nach Dam wird die Normalisierung der Gerinnungszeit — im folgenden Quickzeit genannt — bestimmt.

Ein Kaninchen- und ein Rattentest sind durch Jürgens und Studer⁸⁾ in unseren Laboratorien entwickelt worden zur Messung des Antagonismus: Vitamin-K-Verbindung — Präparate vom Wirkungstypus des Dicumarols.

b) Im Kaninchen-Test wird die Normalisierung der durch Dicumarol verlängerten Quickzeit mittels Vitamin-K-Präparaten gemessen.

c) Im Ratten-Test wird die Überlebensquote einer Gruppe von 12 Ratten nach gleichzeitiger Verabreichung von Vitamin-K-Verbindungen und einer für Ratten sehr toxischen Verbindung mit Dicumarol-Wirkung bestimmt.

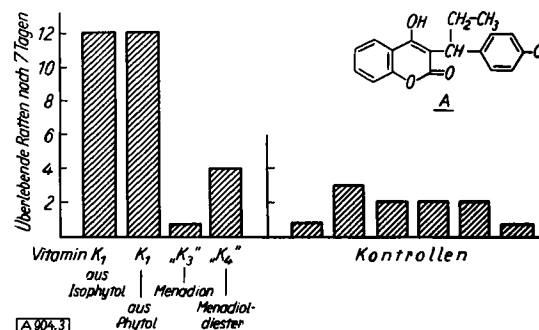
Die folgenden Abb. zeigen die verschiedene Wirkung von Vitamin K₁ in diesen Testen im Vergleich zu Menadion und Menadiol-diestern:



[A 904.2]

Abb. 2. Koagulations-Test an Kaninchen. (Ergebnisse von R. Jürgens; Einfluß auf die Quickzeit)

Im Koagulations-Test an Kaninchen (Abb. 2) verabreicht man den Tieren 10 mg/kg Dicumarol, wobei die Quickzeit am zweiten Tage stark ansteigt. Gibt man den Tieren 48 h später 50 mg/kg Vitamin K₁, so normalisiert sich die Quickzeit im Verlaufe von 6 h auf 20 bis 40 sec. Menadion und seine Derivate sind, wie schon erwähnt, nicht imstande, die Quickzeit auf die Norm zurückzuführen. Erstere steigt weiter an und hält sich über 24 h bei über 100 sec. Dieselbe Differenz zwischen K₁ einerseits und Menadion-Derivaten andererseits beobachtet man auch im Überlebenstest mit 12 Ratten (Abb. 3).



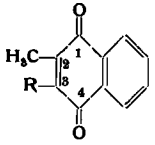
[A 904.3]

Abb. 3. Überlebenstest mit 12 Ratten. (Resultate von A. Studer. Tägliche Fütterung von 10 mg/kg Vitamin-K-Verbindungen und 5 mg/kg der Cumarin-Verbindung A)

Bei täglicher Fütterung von 5 mg/kg des sehr toxischen Dicumarol-Analogen A zusammen mit 10 mg/kg Vitamin K₁ überleben alle Tiere nach 7 Tagen. Bei täglicher Fütterung von 5 mg/kg der Cumarin-Verbindung A zusammen mit 10 mg/kg Menadion und Menadion-Derivaten sterben die meisten Tiere. Die gleiche kleine Überlebensquote wurde auch in den Kontrollgruppen beobachtet, die lediglich 5 mg/kg der Verbindung A erhielten.

Neben der unterschiedlichen Wirkung von Vitamin K₁ und Menadion im Kaninchen- und Rattentest waren für unsere Arbeiten die in Tabelle 1 resümierten Zusammenhänge von Struktur und Wirksamkeit bei Vitamin-K-Man-

⁸⁾ O. Isler, R. Rüegg, A. Studer u. R. Jürgens, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 295, 290 [1953].

		Normalisierg. v. Vitamin- K-Mangel	Normalisierg. des Effektes v. Dicumarol-ähn- l. Verbb.
Seitenkette in 3-Stellung C-Atome	R	Küken-Test b)	Ratten- und Kaninchen-Test
C ₂₀	Phytyl	1	+
C ₂₀	Dihydrophytyl	8 *)	+
C ₁₅	Farnesyl	5 *)	
C ₁₀	Geranyl	25 *)	+
C ₉	Cinnamyl	25 *)	
C ₉	Dihydrocinnamyl	300 *)	—
C ₈	Trimethylallyl	100	—
C ₁	Methyl	50 *)	—
—	H	0,5 *)	—

*) Resultate von L. F. Fieser, M. Tischler u. L. Sampson, J. biol. Chemistry 137, 659, 662 [1941].

b) Wirksame Dosis (Standard Vitamin K₁).

Tabelle 1. Strukturspezifität

gel im Kükentest wegleitend. Die Strukturspezifität hängt von folgenden Faktoren ab:

1. Der aromatische Ring muß unsubstituiert sein.
2. Die p-Chinon-Gruppierung bzw. eine entsprechende potentielle Vorstufe sind erforderlich.
3. Die Methyl-Gruppe in 2-Stellung ist wesentlich.
4. Die Struktur der Seitenkette in 3-Stellung hat einen deutlichen Einfluß:

- a) Terpen-Ketten mit 20 C-Atomen sind optimal.
- b) Seitenketten mit weniger als 8 C-Atomen reichen nicht aus.
- c) Die Methyl-Verzweigungen der Seitenketten und die Doppelbindung in β,γ -Stellung tragen zur Aktivität bei, ohne unbedingt erforderlich zu sein. Die Dihydro-Verbindungen sind beispielsweise etwa 8mal weniger wirksam als die entsprechenden Produkte mit Doppelbindung in β,γ -Stellung.

5. Die Wirksamkeit von Menadion, bei dem die Seitenkette fehlt, erscheint uns als Spezialfall, bei dem die Einfügung der Seitenkette nachträglich in vivo erfolgt. Die Unwirksamkeit von Menadion zur Bekämpfung des Einflusses von Dicumarol ist dabei durch Hemmung dieser in vivo-Synthese erklärbar.

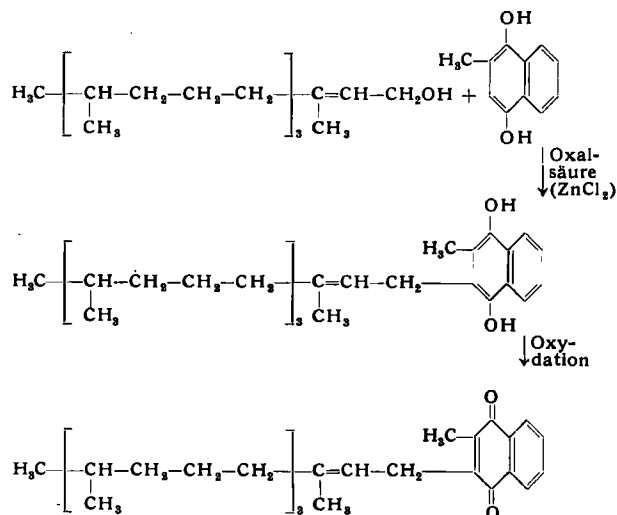
Gemäß neuen Arbeiten von Martius⁹⁾ ist anzunehmen, daß Vitamin K₁ eine wichtige Rolle bei oxydativen Phosphorylierungen in der Atmungskette spielt, wobei es sich am Wirkungsort nicht durch Menadion und Menadiol-ester ersetzen läßt. Überdies können Menadion und seine Derivate in gewissen Fällen gefährliche Nebenreaktionen erzeugen. Unser erstes Arbeitsziel war deshalb die Entwicklung eines wirtschaftlichen Verfahrens zur Synthese des Vitamin K₁; zweites Ziel die weitere Aufklärung der Strukturspezifität in der Vitamin K₁- und K₂-Reihe, wobei wir unter dem Begriff „Reihe“ die Folge der isoprenologen Verbindungen verstehen, die bei der Biosynthese zusammen mit Vitamin K₁ und K₂ entstehen könnten. Dabei haben wir die Struktur des Vitamin K₂ durch Totalsynthese festgestellt.

III. Die Synthesen von Vitamin K₁

Es ist bemerkenswert, daß drei verschiedene Arbeitsgruppen drei unabhängige Synthesen gleichzeitig im Septemberheft 1939 des „Journal of the American Chemical Society“ veröffentlicht haben. Die erste Synthese von

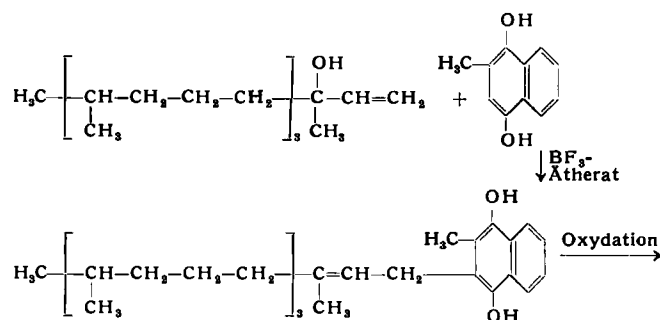
⁹⁾ C. Martius, Proc. of the third Int. Congr. for Biochemistry, Brussels 1955, (Herausgeber C. Liébecq), Academic Press, New York 1956, S. 1; Klin. Wschr. 35, 223 [1957].

Doisy¹⁰⁾ verwendete Phytylbromid und das Mononatriumsalz des Menadiols als Ausgangsmaterialien, die Synthese von Almquist und Klose¹¹⁾ Phytylbromid und Menadion. Bei der Synthese von Fieser¹²⁾ wurde Phytol in Dioxan in Gegenwart wasserfreier Oxalsäure mit Menadiol



kondensiert. Das entstandene Dihydrovitamin K₁ wurde auf Grund seiner Unlöslichkeit in Lauge und Petroläther gereinigt und dann mit Silberoxyd zum Vitamin K₁ oxydiert. In ähnlichen Synthesen wurde Zinkchlorid als Kondensationsmittel gewählt, nämlich in der 2. Synthese von Doisy¹³⁾, in der Phytol, und in der älteren Synthese von Isler¹⁴⁾, in der Phetylacetat als Seitenkettenkomponente angewandt wurde. Die Synthese von Fieser blieb während 14 Jahren das bevorzugte Verfahren.

Bei der erneuten Bearbeitung der Synthese fanden wir¹⁵⁾,



daß Bortrifluoridätherat ein viel wirksamerer Katalysator für die Kondensationsreaktion ist. Zusätzlich fanden wir, daß Ester und Äther des Phytols, sowie Isophytol und seine Derivate als Seitenkettenkomponenten gebraucht werden können¹⁵⁾.

Die leistungsfähigste Synthese, die gegenwärtig bekannt ist, geht aus von Menadiol-1-mono-acetat oder -benzoat. Die Kondensationsprodukte mit einer Phetyl-Verbindung, die Dihydrovitamin-K₁-mono-ester, können aus Petrolätherlösung mit Claisenlauge extrahiert werden, wobei die Estergruppierung verseift wird. Diese Synthese wurde zuerst von Hirschmann, Miller und Wendler¹⁶⁾ veröffentlicht.

¹⁰⁾ S. B. Binkley, L. C. Cheney, W. F. Holcomb, R. W. McKee, S. A. Thayer, D. W. MacCorquodale u. E. A. Doisy, J. Amer. chem. Soc. 61, 2558 [1939].

¹¹⁾ H. J. Almquist u. A. A. Klose, ebenda 61, 2557 [1939].

¹²⁾ L. F. Fieser, ebenda 61, 2559, 2561, 3467 [1939]; L. F. Fieser, M. Tischler u. N. L. Wendler, ebenda 62, 2861 [1940].

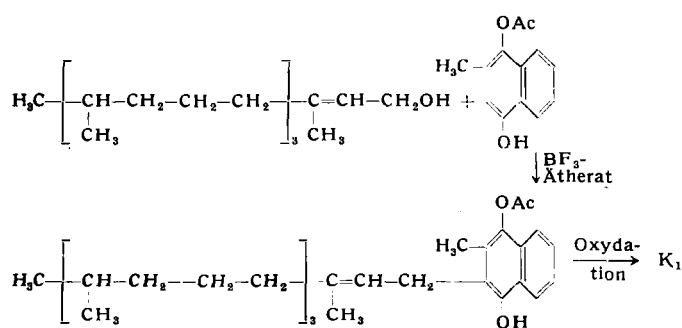
¹³⁾ D. W. MacCorquodale, L. C. Cheney, S. B. Binkley, W. F. Holcomb, R. W. McKee, S. A. Thayer u. E. A. Doisy, J. biol. Chemistry 131, 357 [1939].

¹⁴⁾ O. Isler, AP. 2325681 vom 30. 8. 1939.

¹⁵⁾ O. Isler u. K. Doebel, Helv. chim. Acta 37, 225 [1954].

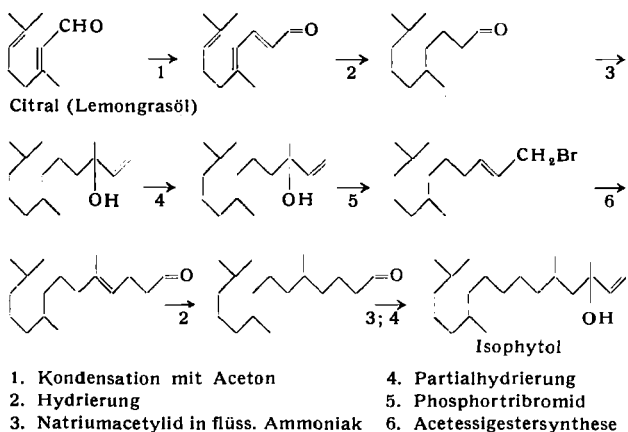
¹⁶⁾ R. Hirschmann, R. Miller u. N. L. Wendler, J. Amer. chem. Soc. 76, 4592 [1954].

Sie wurde vorgängig von *Lindlar*¹⁷⁾ in unseren Laboratorien realisiert. Unsere bevorzugten Komponenten sind



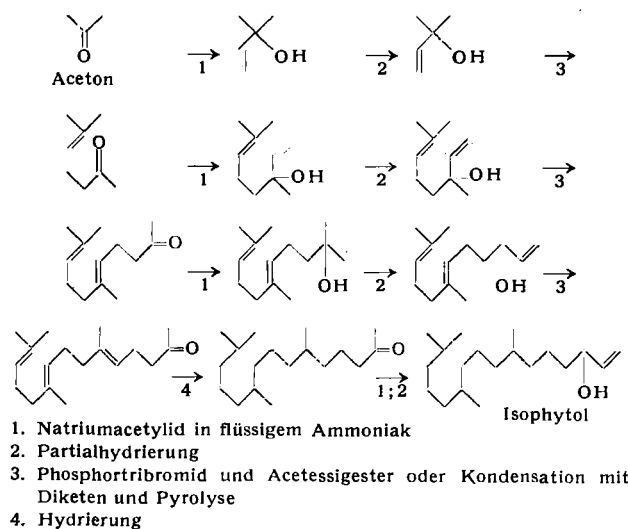
Menadiol-1-mono-benzoat und Isophytol, wobei als Zwischenprodukt das leicht kristallisierende Dihydrovitamin-K₁-mono-benzoat entsteht.

Isophytol wird entweder aus Citral oder totalsynthetisch aus Aceton aufgebaut. Bei der Synthese aus Citral, dem Hauptbestandteil des Lemongrassöls, wird Citral mit Aceton zum Pseudojonon kondensiert und dieses zum Hexahydro-pseudojonon hydriert. Die Verlängerung der Kette um einen Isopren-Rest gelingt



durch Kondensation mit Natriumacetylid in flüssigem Ammoniak, anschließende Partialhydrierung der Dreifachbindung mittels Lindlar-Katalysator, Umformung zum primären Allylbromid und folgende Acetessigestersynthese. Das erhaltene ungesättigte C₁₈-Keton wird nun an der Doppelbindung hydriert. Acetylen-Anlagerung und folgende Partialhydrierung der Dreifachbindung führt zum Isophytol.

Bei der Totalsynthese des Isophytols aus Aceton wird die gleiche Reaktionsfolge dreimal hintereinander angewandt zur

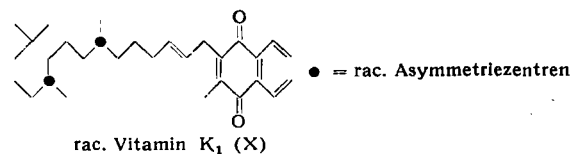


¹⁷⁾ H. Lindlar, Schw. P. 320582 vom 12. 8. 1953.

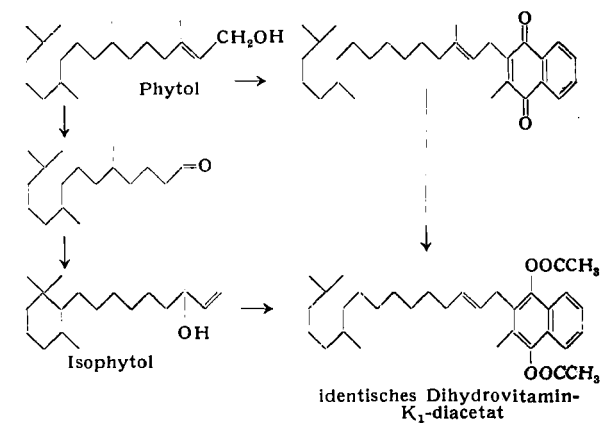
Verlängerung der Seitenkette um drei Isopren-Reste über Methylheptenon, Geranylacetone zum Farnesylacetone. Die Hydrierung der Doppelbindungen ergibt das gesättigte C₁₈-Keton. Acetylen-Anlagerung und Partialhydrierung führt zum Isophytol.

Eine modifizierte Isophytol-Synthese unter Anwendung von Diketen wurde von *Kimel* und *Ofner*¹⁸⁾ in der amerikanischen Hoffmann-La Roche in Nutley zum wirtschaftlichen Verfahren entwickelt. Aceton wird durch Kondensation mit Natriumacetylid und folgende Partialhydrierung in Methylbutenol übergeführt. Kondensation mit Diketen gibt das Acetoacetat des Methylbutenols, aus dem bei der Pyrolyse unter CO₂-Abspaltung in sehr guter Ausbeute Methylheptenon gebildet wird. Wir nennen diese exotherme Pyrolyse *Kimel-Cope-Reaktion*. Man erhitzt zweckmäßig in einem inerten Lösungsmittel auf 150 bis 180 °C. Diketen-Anlagerung und Pyrolyse werden im Isophytol-Verfahren dreimal angewandt.

Das aus Isophytol und Menadiol gewonnene totalsynthetische Vitamin K₁ (X) mit racemischer Seitenkette unterscheidet sich geringfügig vom Naturprodukt durch das Fehlen der kaum erkennbaren Linksdrehung und durch schlechtes Kristallisationsvermögen des daraus hergestellten Dihydrovitamin-K₁-diacetates¹⁵⁾. Wir konnten keine Unterschiede in der biologischen Auswertung und in den Absorptionsspektren der beiden Verbindungen, sowie in den Kristallisationseigenschaften ihrer Dihydro-dibenzoate und -disuccinate erkennen.



Zur Abklärung, ob rac. Vitamin K₁ die gleiche cis-trans-Konfiguration an der aliphatischen Doppelbindung besitze wie das Naturprodukt, wurde natürliches, optisch einheitliches Phytol, das bekanntlich keine meßbare Drehung besitzt¹⁹⁾, durch Ozonisation zum C₁₈-Keton abgebaut und daraus durch Acetylen-Anlagerung und Partialhydrierung optisch einheitliches Isophytol hergestellt¹⁵⁾.



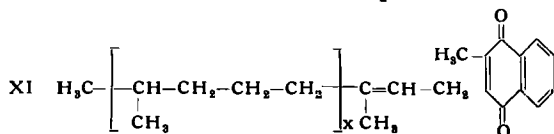
Die Kondensation dieses Isophytols mit Menadiol führte sofort zum leicht kristallisierenden Dihydrovitamin-K₁-diacetat, das bei der direkten Kondensation von Phytol mit Menadiol erhalten wird. Wir folgerten daraus, daß die geringfügige Differenz zwischen rac. Vitamin K₁ und dem Naturprodukt nur durch die racemische Seitenkette verursacht wird. Die β,γ-ständige Doppelbindung, im folgenden DB¹ genannt, dürfte bei allen Vitamin-K-Verbindungen gleiche Konfiguration — wahrscheinlich trans-Konfiguration — besitzen.

¹⁸⁾ W. Kimel, N. W. Sax, S. Kaiser, G. G. Eichmann, G. O. Chase u. A. Ofner, J. org. Chemistry 23, 153 [1958].

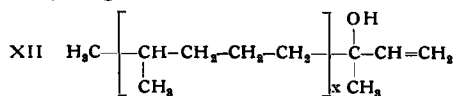
¹⁹⁾ P. Karrer, A. Geiger, H. Rentschler, E. Zbinden u. A. Kugler, Helv. chim. Acta 26, 1741 [1943]; P. Karrer, H. Simon u. E. Zbinden, ebenda 27, 317 [1944].

IV. Aufbau der Vitamin-K₁-Reihe^{a)}

Für die Synthese der Verbindungen XI ($x = 0$ bis 5), deren Gesamtheit wir als Vitamin-K₁-Reihe bezeichnen,



haben wir aus Aceton in Analogie zur schon beschriebenen Isophytol-Synthese die Seitenkettenkomponenten XII ($x = 0$ bis 5) dargestellt.



x	C-Atome	Bezeichnung als Terpen-Verbindung
0	C ₅	Methylbutenol
1	C ₁₀	Dihydro-linalool
2	C ₁₅	Tetrahydro-nerolidol
3	C ₂₀	Isophytol
4	C ₂₅	Octahydro-farnesyl-linalool
5	C ₃₀	Decahydro-farnesyl-nerolidol

Die Verbindungen XII wurden mit Menadiol mittels Bortrifluoridätherat kondensiert, die entstandenen festen Hydrochinon-Verbindungen gereinigt und durch Oxydation in die Chinone der Vitamin-K₁-Reihe verwandelt. Die physikalischen Daten sind in Tabelle 2 zusammengestellt:

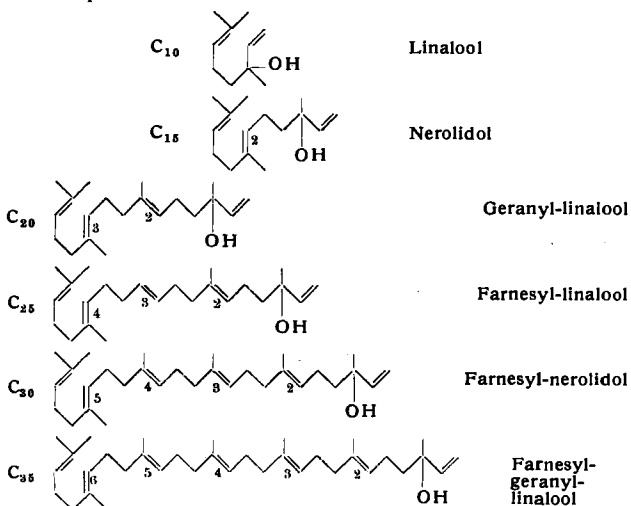
x	Seitenkette in 3-Stellung		n _D	Absorption bei 248,5 mμ	
	C-Atome	Name		E ₁ ¹ % cm	ε
0	C ₅	Dimethylallyl	1,5840/20°	760	18200
1	C ₁₀	Dihydro-geranyl	1,5509/20°	597	18500
2	C ₁₅	Tetrahydro-farnesyl	1,5354/20°	482	18300
3	C ₂₀	Phytol	1,5263/20°	420	18900
4	C ₂₅	Octahydro-farnesyl-geranyl	1,5164/27°	350	18150
5	C ₃₀	Decahydro-farnesyl-farnesyl	1,5111/27°	306	18000

Tabelle 2. Verbindungen der Vitamin-K₁-Reihe XI

Die molaren Extinktionskoeffizienten aller Verbindungen sind erwartungsgemäß praktisch gleich groß. Über die Ergebnisse der biologischen Prüfung berichten wir in einem späteren Abschnitt.

V. Aufbau der Vitamin-K₂-Reihe²⁰⁾

Für die Synthesen der Verbindungen der Vitamin-K₂-Reihe wurden die folgenden Terpen-Verbindungen als Seitenkomponenten verwendet:

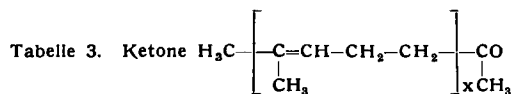


²⁰⁾ O. Isler, R. Rüegg, L. H. Chopard-dit-Jean, A. Winterstein u. O. Wiss, Helv. chim. Acta 41, 786 [1958].

Die Doppelbindungen der Terpenalkohole bzw. der Seitenketten der K₂-Reihe, die cis- oder trans-Konfiguration besitzen können, sind numeriert. Sie werden im folgenden als DB¹, DB², ... bezeichnet. In der Ketonvorstufe der Terpen-alkohole kommt den gleichen Doppelbindungen die nächst niedere Numerierung DB¹, DB², ... zu.

Es war schon 1953 unsere Absicht, Doisy's Strukturformel II durch Kondensation von Menadiol mit Farnesyl-nerolidol zu bestätigen. Wie erhielten damals zunächst ein öliges Gemisch verschiedener cis-trans-Isomere von 2-Methyl-3-farnesyl-farnesyl-1.4-naphthochinon. Es gelang hieraus kurz vor dem Chemietreffen 1953 in Innsbruck eines der Isomeren in kristallisierter Form, Fp 50°C, zu fassen²¹⁾. Das IR-Spektrum war praktisch nicht zu unterscheiden von demjenigen eines natürlichen Vitamin-K₂-Präparates, das uns Doisy in freundlicher Weise zusandte. Die Mischung der beiden Verbindungen, ebenso wie diejenige der Dihydro-diacetate ergab jedoch eine Fp-Depression.

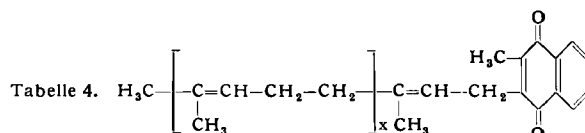
Wir nahmen zunächst an, daß der Unterschied der beiden Präparate auf cis-trans-Isomerie an einer Doppelbindung der Seitenkette beruhe. Es war zumindest von theoretischem Interesse festzustellen, in welchem Grade eine einzelne cis-Doppelbindung die physikalischen Eigenschaften und die biologische Aktivität der Verbindungen zu ändern vermag. Wir wiederholten deshalb die Synthese ausgehend von je 3 kg reinem trans- und cis-Geranylacetone. Der Aufbau der isoprenologen Ketone geschah über die entsprechenden Allylbromide durch Acetessigester-Synthese. Dabei entstehen die Verbindungen mit trans-Konfiguration in besserer Ausbeute (nämlich etwa 90% trans- und 10% cis-Formen, während bei der Pyrolyse der Diketen-Addukte etwa 2/3 trans- und 1/3 cis-Formen anfallen). Die Ketone wurden in Form ihrer Semicarbazone durch Chromatographieren und Umkristallisieren in die beiden isomeren Verbindungen aufgetrennt. Für diese Chromatogramme benötigten wir im ganzen ungefähr 350 kg Aluminiumoxyd. Die physikalischen Daten dieser Ketone und ihrer Semicarbazone sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Es konnten die vier möglichen Farnesylacetone, die all-trans-Formen und je zwei mono-cis-Formen des Geranyl-geranyl-acetons und des Farnesyl-geranyl-acetons, sowie die all-trans-Form des Farnesyl-farnesyl-acetons hergestellt werden.



x	C-Atome	Name	Konfiguration	n _D ²⁰	d ₄ ²⁰	Fp Semicarbazone
2	C ₁₃	Geranyl-aceton	[DB ¹]-trans	1,4674	0,8693	92–93°
			[DB ¹]-cis	1,4669	0,8678	90–91°
3	C ₁₈	Farnesyl-aceton	all-trans	1,4816	0,8777	81–82°
			[DB ¹]-mono-cis	1,4811	0,8765	78–79°
			[DB ²]-mono-cis	1,4805	0,8777	76–77°
			all-cis	—	—	43°
4	C ₂₃	Geranyl-geranyl-aceton	all-trans	1,4881	0,8813	70–71°
			[DB ¹]-mono-cis	1,4891	0,8805	71–72°
			[DB ²]-mono-cis	1,4880	0,8813	59–60°
5	C ₂₈	Farnesyl-geranyl-aceton	all-trans	1,4938	0,8866	58–59°
			[DB ¹]-mono-cis	1,4941	0,8851	64–65°
			[DB ₂]-mono-cis	1,4940	0,8850	54–56°
6	C ₃₃	Farnesyl-farnesyl-aceton	all-trans	1,4982	0,8880	48–50°

Die reinen all-trans-Formen dieser Ketone, sowie die beiden mono-cis-Formen des Farnesylacetons und des Farnesyl-geranyl-acetons wurden durch Kondensation mit Acetylen in flüssigem Ammoniak und Partialhydrierung

²¹⁾ S. diese Ztschr. 65, 264 [1953].



x	Seitenkette in 3-Stellung		Konfiguration	Fp °C	n _D ²⁰	R _F -Wert	Absorption bei 248 mμ		Dihydro-diacetat		
	C-Atome	Name					E ₁ % 1 cm	ε	Fp	E ₁ % 1 cm	ε
1	C ₁₀	Geranyl	trans	53			617	19000	50 °	2190	86500
2	C ₁₅	Farnesyl	all-trans		1,5588		496	18700	42 °	1880	86900
3	C ₂₀	Geranyl-geranyl	all-trans	35		0,460	439	19500	35 °	1643	86900
			[DB*]-mono-cis	1,5550			440	19500			
			[DB*]-mono-cis	1,5548			438	19500			
4	C ₂₅	Farnesyl-geranyl	all-trans	39		0,290	363	18800	33 °	1455	87100
5	C ₃₀	Farnesyl-farnesyl	all-trans	50		0,181	320	18600	50 °	1298	86400
			[DB*]-mono-cis	1,5454		0,185	321	18600			
			[DB*]-mono-cis	1,5448		0,182	321	18600			
6	C ₃₅	Farnesyl-geranyl-geranyl	all-trans	54		0,104	292	18900	57 °	1187	87100

der Dreifachbindung zu den entsprechenden Seitenketten mit 15, 20, 25 und 30 und 35 C-Atomen verlängert, mit Menadiol kondensiert und durch Oxydation in die Verbindungen der Vitamin-K₂-Reihe verwandelt. Die physikalischen Daten der Chinone und der Dihydro-diacetate sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Mit Ausnahme des 2-Methyl-3-farnesyl-1.4-naphthochinons sind die all-trans-Verbindungen bei Zimmertemperatur fest, dagegen schmelzen die Verbindungen mit einer cis-Doppelbindung wesentlich tiefer. Die molaren Extinktionskoeffizienten aller Verbindungen sind erwartungsgemäß praktisch gleich groß. Die R_F-Werte der drei isomeren Geranyl-geranyl- und Farnesyl-farnesyl-Verbindungen unterscheiden sich praktisch nicht. Der Unterschied zwischen dem natürlichen Vitamin K₂ und dem 2-Methyl-3-farnesyl-farnesyl-1.4-naphthochinon konnte nicht auf cis-trans-Isomerie an einer Doppelbindung der Seitenkette beruhen, da der R_F-Wert und der Extinktionskoeffizient des Naturproduktes niedriger waren.

VI. Isolierung und Identifizierung von zwei Vitamin-K₂-Verbindungen²⁰⁾

Bei der Darstellung des natürlichen Vitamin K₂ aus faulem Fischmehl, das wir für einen genaueren Vergleich mit unseren synthetisch gewonnenen Präparaten der Vitamin-K₂-Reihe benötigten, stießen wir anfänglich auf erhebliche Schwierigkeiten. Winterstein gelangte zum Ziel bei Verwendung von Sardinenmehl portugiesischer Provenienz, wobei er Doisy's Isolierverfahren durch die Einführung einer partiellen Sterilisation des entfetteten Fischmehls durch 15 min langes Erhitzen auf 115 bis 120 °C modifizierte. Dabei überlebt ein sporenbildender Saprophyt, der auf dem partiell sterilisierten Fischmehl rasch wächst und dabei in guter Ausbeute Vitamin K₂ produziert. Im besten Falle erhielt Winterstein aus 6 kg Fischmehl nach 16 Tagen dauernder Fäulnis 350 mg eines kristallisierten Vitamin-K₂-Präparates, das etwa 85% Vitamin K₂ enthält. Die Reindarstellung des bei 54 °C schmelzenden Vitamin K₂ bereitete keine besonderen Schwierigkeiten mehr. Es war aber auffallend, daß der Fp von 54 °C nur durch häufige Kristallisation aus verschiedenen Lösungsmitteln erreicht werden konnte und daß aus den Mutterlaugen eine kleine Substanzmenge mit höherer Extinktion als das gereinigte Kristallinat isoliert werden konnte.

Die Papierchromatographie nach der Methode von Green und Dam²²⁾ erwies sich nun als ein wertvolles Hilfs-

mittel zur Trennung und Identifizierung unserer Produkte. Abb. 4 veranschaulicht zwei wichtige Befunde. Das Papierchromatogramm links zeigt den Vergleich der R_F-Werte

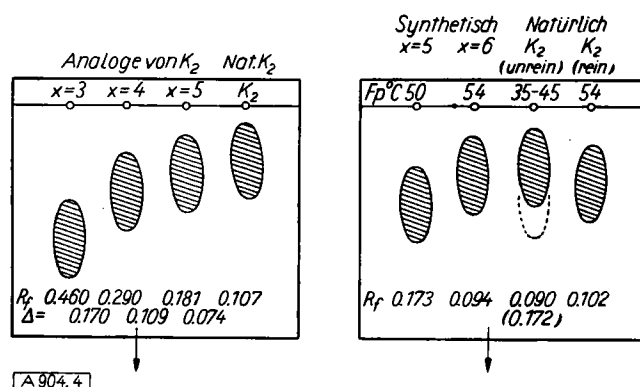
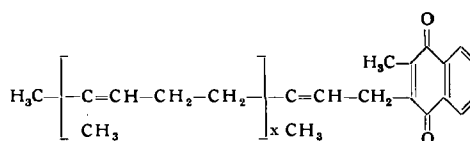


Abb. 4. Papierchromatogramme



Methode: Green und Dam, Acta chem. scand. 8, 1341 [1954].
Papier: Whatman No. 1 imprägniert mit Dow Corning Silicon No. 1107.
Laufmittel: Isopropanol, Eisessig, Wasser (600:25:375).
Zeit: 15 h
Bestimmung: UV-Licht.

der synthetischen all-trans-Formen mit Seitenketten von 20, 25 und 30 C-Atomen mit natürlichem Vitamin K₂. Die gefundenen Differenzen der R_F-Werte ließen vermuten, daß das langsamer wandernde natürliche Vitamin K₂ die nächst höhere isoprenologe Verbindung ist.

Das Papierchromatogramm rechts zeigt den Vergleich der synthetischen Verbindungen mit Seitenketten von 30 und 35 C-Atomen mit unreinem und reinem natürlichem Vitamin K₂. Es war offensichtlich, daß die langsamer laufende Vitamin-K₂-Komponente dem höheren Isoprenologen vom Fp 54 °C (x = 6) und die schneller wandernde Verunreinigung dem niederen Isoprenologen vom Fp 50 °C entsprechen dürfte.

Das synthetisch gewonnene, bei 54 °C schmelzende Vitamin-K₂-Präparat, das eine aus 35 C-Atomen bestehende Seitenkette (x = 6) aufweist, gab mit dem aus Fischmehl isolierten, ebenfalls bei 54 °C schmelzenden Produkt keine Fp-Depression, ebensowenig die entsprechenden Dihydro-diacetate. Die Daten des Naturproduktes und der syntheti-

²²⁾ J. P. Green u. H. Dam, Acta chem. scand. 8, 1341 [1954].

schen Verbindung sind in Tabelle 5 zusammengestellt (Spektren des Vitamin K₂ siehe Abb. 1, 5 und 6).

Tabelle 5. Synthetisches und natürliches Vitamin K₂
2-Methyl-3-(all-trans-farnesyl-geranyl)-1.4-naphthochinon
= K₂₍₃₅₎

$$H_3C - \left[\begin{array}{c} \text{C} = \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 \\ | \\ \text{CH}_3 \end{array} \right]_6 - \begin{array}{c} \text{C} = \text{CH} - \text{CH}_3 \\ | \\ \text{CH}_3 \end{array}$$

Unser nächstes Ziel war nun die Auftrennung der uneinheitlichen Vitamin-K₂-Präparate aus faulem Fischmehl. Zu diesem Zwecke wurden sämtliche Mutterlaugen, die bei der Herstellung des bei 54 °C schmelzenden Vitamin K₂ angefallen waren, vereinigt und durch Chromatographie sowie sorgfältiges Fraktionieren aus verschiedenen Lösungsmitteln auf ein Präparat verarbeitet, das bei ca. 25 °C unscharf schmolz und sicher nur aus Verbindungen der Vitamin-K₂-Reihe bestand. Die papierchromatographische Untersuchung zeigte, daß dieses Präparat ca. 30% des niedrigeren Isoprenologen enthielt. Die Trennung der beiden Isoprenologen gelang tatsächlich in einem 14 Tage dauernden Durchlaufchromatogramm an einer großen Säule aus imprägniertem Cellulosepulver. Aus den ersten Fraktionen isolierten wir eine neue Vitamin-K₂-Verbindung vom Fp 50 °C, während die späteren Fraktionen aus Vitamin K₂ vom Fp 54 °C bestanden. Die neue Verbindung gab wie erwartet mit Vitamin K₂, Fp 54 °C, eine Fp-Depression, nicht aber mit dem synthetisch hergestellten 2-Methyl-3-(all-trans-farnesyl-farnesyl)-1.4-naphthochinon (x = 5). Das gleiche Verhalten zeigten auch die entsprechenden Dihydro-diacetate. Die Daten des Naturproduktes und der synthetischen Verbindung sind in Tabelle 6 zusammengestellt (Spektren siehe Abb. 5 und 6).

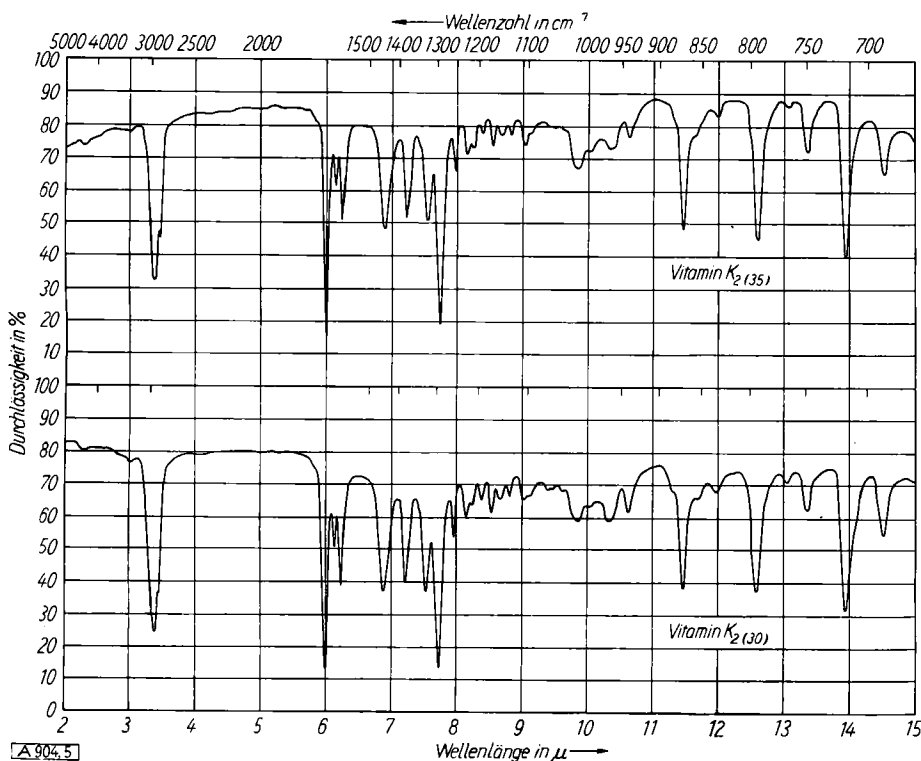
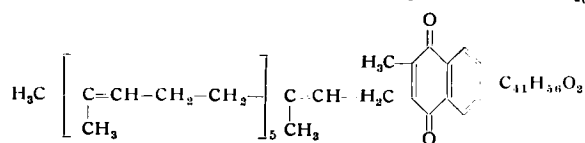


Abb. 5. IR-Spektren von Vitamin K₂₍₃₅₎ und Vitamin K₂₍₃₀₎

Tabelle 6. Niedrigeres Isoprenologes des Vitamin K₂
2-Methyl-3-(all-trans-farnesyl-farnesyl)-1.4-naphthochinon = K₂₍₃₀₎



		E ₁ 248 mμ		Dihydro-diacetat Fp	E ₁ 230 mμ	Seitenkette in 3-Stellg.
Synthetisch	50 °C	320	0,173	50 °C	1298	C ₅₀
Natürlich	50 °C	319	0,172	50 °C	1305	

Es ist bemerkenswert, daß sich die IR-Absorptionsspektren des Vitamin K₂ vom Fp 54 °C und des niedrigeren Isoprenologen (2-Methyl-3-all-trans-farnesyl-farnesyl-1.4-naphthochinon) voneinander praktisch nicht unterscheiden (Abb. 5). Dagegen sind deutliche Unterschiede im Röntgenpulverdiagramm erkennbar (Abb. 6).

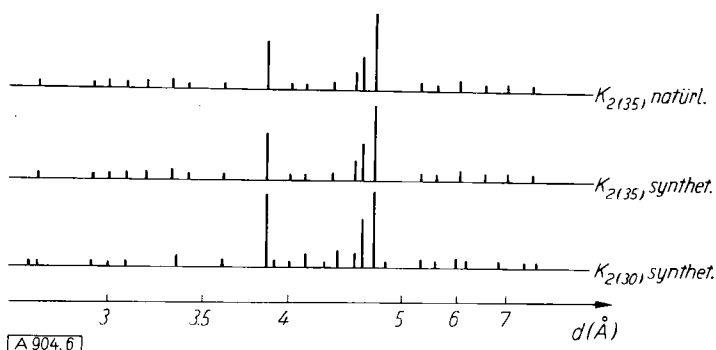


Abb. 6. Röntgenbeugungsdiagramme (aufgenommen mit der Cu-Kα-Strahlung und einem Zählrotrgoniometer)

VII. Biologische Prüfung der Vitamin K₁- und K₂-Reihe²³⁾

Die synthetisch gewonnenen Verbindungen wurden von Wiss im Kükentest nach Dam²⁴⁾, von Jürgens im Kaninchentest und von Studer im Rattentest ausgewertet. Aus

den Abb. 2 und 3 im Abschnitt II ist ersichtlich, daß sich bei der Hypoprothrombinämie des Kaninchens und im Überlebenstest an der Ratte Vitamin K₁ aus Isophytol und Vitamin K₁ aus natürlichem Phytol nicht unterscheiden. Ein genauer Vergleich ist aber nur mit dem Kükentest nach Dam möglich. Wiss bestimmte im Parallelversuch an Gruppen von je 13 Tieren die mittlere Gerinnungszeit. Sie beträgt für

Vitamin K₁ aus Isophytol: 87 ± 7,1 sec
Vitamin K₁ aus Phytol: 85 ± 7,4 sec

Das totalsynthetische Vitamin K₁ besitzt somit auch am Vitamin-K-Mangelküken die gleiche Wirksamkeit wie Vitamin K₁ aus natürlichem Phytol.

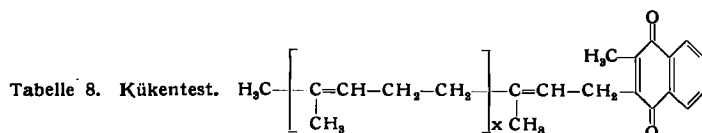
Die tierexperimentellen Auswertungen der Verbindungen der Vitamin-K₁- und -K₂-Reihe sind in

²³⁾ O. Wiss, F. Weber, R. Rüegg u. O. Isler, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem., im Druck.

²⁴⁾ H. Dam, I. Kruse u. E. Søndergaard, Acta physiol. scand. 22, 238 [1951].

Tabelle 7 zusammengestellt. Die Resultate des Kükentests sind in Prozenten der Wirksamkeit der äquimolaren Menge des Standardpräparates Vitamin K₁ ausgedrückt. Die Ergebnisse der Vitamin-K₂-Reihe beziehen sich auf die reinen all-trans-Verbindungen.

Tabelle 7.			Normalisierg. v. Vit.-K-Mangel	Normalisierg. des Effektes v. Dicumarol-ähnli. Verbb.	
Reihe	Seitenkette in 3-Stellung		Küken-Test	Kaninchen-Test	Ratten-Test
	C-Atome	R			
	C ₅	$\text{H}_3\text{C}-\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	< 5 %	—	—
K ₁ -Reihe	C ₁₀	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-$	ca. 10 %	+	(-)
	C ₁₅	$\text{H}_3\text{C}-\left[\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2\right]_2-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-$	ca. 30 %	+	+
	C ₂₀	$\text{H}_3\text{C}-\left[\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2\right]_3-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-$	100 %	+	+
	C ₂₅	$\text{H}_3\text{C}-\left[\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2\right]_4-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-$	ca. 80 %	+	+
	C ₃₀	$\text{H}_3\text{C}-\left[\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2\right]_5-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-$	ca. 50 %	(-)	—
K ₂ -Reihe	C ₁₀	$\text{H}_3\text{C}-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-$	ca. 15 %	+	+
	C ₁₅	$\text{H}_3\text{C}-\left[\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2\right]_2-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-$	ca. 40 %	+	+
	C ₂₀	$\text{H}_3\text{C}-\left[\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2\right]_3-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-$	100 %	+	+
	C ₂₅	$\text{H}_3\text{C}-\left[\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2\right]_4-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-$	ca. 120 %	+	+
	C ₃₀	$\text{H}_3\text{C}-\left[\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2\right]_5-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-$	100 %	+	+
	C ₃₅	$\text{H}_3\text{C}-\left[\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2\right]_6-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-$	ca. 70 %		



x	Seitenkette in 3-Stellg.		Gerinnungszeit sec	x	Seitenkette in 3-Stellg.		Gerinnungszeit sec
	C-Atome	Konfiguration			C-Atome	Konfiguration	
3	C ₂₀	all-trans	86 ± 5,7	5	C ₃₀	all-trans	58 ± 4,4
		[DB ⁴]-mono-cis	118 ± 10,3			[DB ⁴]-mono-cis	133 ± 6,8
		[DB ⁶]-mono-cis	85 ± 7,7			[DB ⁶]-mono-cis	52 ± 1,6
Vitamin K ₁ Standard			89 ± 5,1	Vitamin K ₁ Standard			59 ± 5,2

Die exakte Auswertung im Kükentest nach Dam zeigt, daß in der K₁-Reihe Vitamin K₁ mit C₂₀-Seitenkette optimal wirksam ist. In der K₂-Reihe ist das Optimum der Wirksamkeit etwas verschoben. Die Verbindung mit C₂₅-Seitenkette erwies sich als etwas wirksamer und die benachbarten Verbindungen mit C₂₀- und C₃₀-Seitenketten sind gleich wirksam wie Vitamin K₁.

Die Aktivität hängt in der K₂-Reihe weniger von der Länge der Seitenkette ab als in der K₁-Reihe. Für die Verbindungen der K₂-Reihe mit C₁₀- und C₁₅-Seitenketten wurde eine größere Wirksamkeit festgestellt als in früheren Untersuchungen gefunden wurde.

Beachtlich ist, daß von den beiden aus faulendem Fischmehl isolierten K₂-Verbindungen das neue Isoprenologe mit C₃₀-Seitenkette die gleiche und das Hauptprodukt mit C₃₅-Seitenkette eine deutlich geringere molare Wirkung besitzt als Vitamin K₁. In der K₁-Reihe ist schon die Verbindung mit C₃₀-Seitenkette nur halb so wirksam wie Vitamin K₁.

Bei der Prüfung am Kaninchen mit Dicumarol Hypoprothrombinämie ist die Verbindung mit C₅-Seitenkette, die man als niederstes Isoprenologes sowohl der K₁- als auch der K₂-Reihe zuordnen kann, unwirksam. Die Verbindung der K₁-Reihe mit C₃₀-Seitenkette normalisiert den Effekt von Dicumarol erst nach 24 h. Alle übrigen Verbindungen normalisieren die Gerinnungszeit innerhalb 3–6 h. Die Auswertung des Vitamin K₂ mit C₃₅-Seitenkette steht noch aus.

Die Ergebnisse im Überlebensstest an 12 Ratten zeigen ebenfalls eine stärkere Abhängigkeit der Wirkung von der Länge der Seitenkette in der K₁-Reihe als in der K₂-Reihe. In der K₁-Reihe schützt die Verbindung mit C₁₀-Seitenkette nur teilweise und die Verbindung mit C₃₀-Seitenkette gibt keinen Schutz. In der K₂-Reihe sind die Verbindungen mit C₁₀- und C₃₀-Seitenkette dagegen gut wirksam.

Zur Klärung des Einflusses einer einzelnen cis-Doppelbindung wurden in zwei Versuchsserien von den Verbindungen der K₂-Reihe mit C₂₀- und C₃₀-Seitenketten je die all-trans-Form und zwei mono-cis-Stereoisomere nebeneinander im

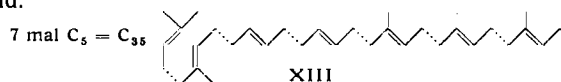
Kükentest nach *Dam* ausgewertet. Für jede Verbindung wurden ca. 15 Tiere verwendet. In beiden Serien wurde die äquimolare Menge Vitamin K_1 als Standard mitgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 in Form der mittleren Gerinungszeit zusammengestellt.

In beiden Versuchsserien wurde gefunden, daß die [DB²]-mono-cis-Verbindungen (cis-Doppelbindung in der Nähe des Naphthochinon-Ringsystems) eine signifikant geringere Wirkung besitzen als die all-trans-Formen. Dagegen entfalten die [DB³]- bzw. [DB⁵]-mono-cis-Verbindungen (cis-Doppelbindung weiter vom Naphthochinon-Ringsystem entfernt) praktisch die gleiche Wirksamkeit wie die entsprechenden all-trans-Formen und wie die äquimolare Menge des Standardpräparates Vitamin K_1 .

VIII. Besprechung der Ergebnisse

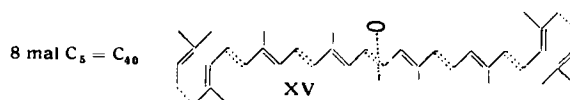
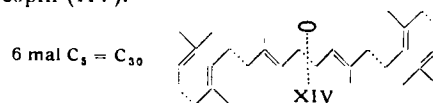
Das synthetisch sehr leicht zugängliche Vitamin K_1 eignet sich am besten für die Herstellung pharmazeutischer Gebrauchsformen und als Standardpräparat. Das von *Doisy* beschriebene, bei 54 °C schmelzende Vitamin K_2 besitzt nicht die Formel $C_{41}H_{56}O_2$, sondern die Formel $C_{46}H_{64}O_2$ und weist somit eine Seitenkette von 7 Isopren-Resten, d. h. 7 mal 5 = 35 C-Atomen auf. Bakterien produzieren neben der von *Doisy* beschriebenen Verbindung ein Isoprenologes von Vitamin K_2 vom Fp 50 °C der Formel $C_{41}H_{56}O_2$ mit einer Seitenkette aus 6 Isopren-Resten bzw. 30 C-Atomen. Einem Nomenklaturvorschlag von *Dam* folgend, dem auch *Doisy* zustimmte, sollen die beiden Verbindungen als Vitamin $K_{2(35)}$ und Vitamin $K_{2(30)}$ bezeichnet werden.

Neuartig für die gegenwärtigen Kenntnisse der Terpen-Chemie ist der Aufbau der Vitamin $K_{2(35)}$ -Seitenkette (XIII) aus einer ungeraden Zahl von 7 Isopren-Resten, die alle miteinander Schwanz zu Kopf (*tail to head*) verbunden sind.



Die bekannten höheren Terpen-Verbindungen bestanden nämlich alle aus einer geraden Zahl von 6 oder 8 Isopren-Resten, wobei die äußeren Isopren-Reste vorzugsweise

Schwanz zu Kopf (*tail to head*) und die mittleren Reste Schwanz zu Schwanz (*tail to tail*) verknüpft sind. Beispiele der großen Gruppen der Triterpene und Carotinoide sind die zentrosymmetrischen Kohlenwasserstoffe Squalen (XIV) und Lycopin (XV).



Der Nachweis der all-trans-Konfiguration der Vitamine $K_{2(35)}$ und $K_{2(30)}$ steht in gutem Einklang mit der all-trans-Konfiguration des Squalens und dem Umstand, daß die meisten Carotinoide in der lebenden Zelle als all-trans-Formen vorliegen.

Die biologische Prüfung ergab, daß die Wirksamkeit in der Vitamin- K_2 -Reihe weniger von der Länge der Seitenkette abhängt als in der K_1 -Reihe, und daß cis-Doppelbindungen in der Nähe des Naphthochinon-Ringsystems die Aktivität verringern. Um in der K_2 -Reihe optimal wirksame Präparate zu gewinnen, ist deshalb beim Aufbau der Seitenketten auf trans-Konfiguration aller Doppelbindungen zu achten. Es ist bemerkenswert, daß die all-trans-Formen der K_2 -Verbindungen mit C_{30} -Seitenkette gleiche und mit C_{35} -Seitenkette etwas höhere Wirksamkeit als Vitamin K_1 besitzen. Wir glauben, daß in der Natur bald weitere Isoprenologe der K_2 -Vitamine, sowie Verbindungen mit ähnlichen Seitenketten gefunden werden.

Unsere Befunde sind das Ergebnis einer sehr guten und ausdauernden Team-Arbeit. Die Synthesen des Vitamin K_1 wurden mit K. Doebel und H. Lindlar ausgeführt, diejenigen in der K_1 - und K_2 -Reihe mit R. Rüegg und G. Ryser. Die beiden K_2 -Vitamine wurden von A. Winterstein isoliert und von R. Rüegg synthetisiert. Die Absorptionsmessungen führte L. H. Chopard-dit-Jean aus, die tierexperimentelle Prüfung H. Pfaltz, A. Studer, R. Jürgens und O. Wiss.

Eingegangen am 25. August 1958 [A 904]

Chemische Wirkungen ionisierender Strahlen

1. Einführung: Kernstrahlen-Chemie einiger Gase und wäßriger Lösungen*)

Von Privatdozent Dr. ARNIM HENGLEIN

Institut für physikalische Chemie der Universität Köln**)

Chemische Wirkungen ionisierender Strahlen haben durch die rasche Entwicklung der Kernphysik steigend an Interesse gewonnen. „Kernstrahlen-Chemie“ ist zu einem neuen Gebiet der angewandten Radioaktivität geworden, das für die Strahlenbiologie, die präparative Chemie und die Reaktortechnik Bedeutung hat. Nach einer kurzen Einführung in die Grundlagen der Kernstrahlen-Chemie wird die Kernstrahlen-Chemie der Gase und wäßriger Lösungen behandelt und die Zersetzung des Moderator-Wassers in Reaktoren beschrieben.

Einleitung

Die Kernstrahlen-Chemie befaßt sich mit den chemischen Wirkungen von energiereichen Korpuskel- und Wellenstrahlen, die entweder durch Kernprozesse oder durch Beschleunigungsanlagen erzeugt werden. Obgleich *Becquerel* 1896 die natürliche Radioaktivität durch die chemische Wirkung der Strahlung eines Uran-Präparats (Photoplatte) entdeckt hatte, hat die Chemie energiereicher Strah-

len in den ersten Jahrzehnten danach nur wenig an Interesse gewonnen. Es hatte hauptsächlich die Aufklärung der Wirkung ionisierender Strahlen auf biologische Objekte Bedeutung. Die rasche Entwicklung der Kernphysik in den letzten 20 Jahren hat auch die Kernstrahlen-Chemie gefördert: Einmal sind durch die Herstellung immer stärkerer Strahlenquellen die Voraussetzungen gegeben, die die Anwendung ionisierender Strahlen in der präparativen Chemie und bereits bei einigen technischen Verfahren ermöglichen. Ferner ist wegen des Auftretens intensiver Strahlung bei Kernenergie-Anlagen das Bedürfnis nach

*) Nach einem Vortrag im Haus der Technik, Essen, Nov. 1957 und Vorlesungen an der Universität Köln und der Arbeitsgruppe für Radiochemie in Mainz, 1956 bis 1958.

**) Derzeit Mellon Institute, Pittsburgh, Pa. (USA).