

## 1. Isolierung von Gentisinalkohol neben Patulin aus dem Kulturfiltrat eines *Penicillium*-Stammes und über einige Derivate des Gentisinalkohols.

(1. Mitt. über antibakterielle Stoffe)

von A. Brack.

(29. X. 46.)

Die Kulturlösung eines aus der Luft eingefangenen und durch Einzell-Kultur rein gezüchteten *Penicillium*-stammes zeigte eine recht bemerkenswerte antibakterielle Wirksamkeit gegenüber *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus hämolyticus* und *Escherischia coli*. Im Lochplatten-test nach *Fleming*<sup>1)</sup> bestimmt, erhielten wir Wirksamkeiten gegenüber Staphylokokken, die pro cm<sup>3</sup> Kulturlösung im allgemeinen 10 bis 25, in einzelnen Ansätzen bis über 50 Oxford-Einheiten (OE) Penicillin entsprachen.

Bei der Isolierung des wirksamen Prinzips gelangten wir im wesentlichen zu 2 krystallisierenden Substanzen, welche fast die ganze antibakterielle Wirksamkeit der Kulturlösung repräsentierten. Die eine der beiden Substanzen konnte mit dem bereits beschriebenen<sup>2)</sup> Gentisinalkohol, 2,5-Dioxy-benzylalkohol, identifiziert werden. Bei der zweiten Substanz handelte es sich um Patulin, ein  $\gamma$ -Pyron-derivat, das zuerst aus der Kulturlösung des *Penicillium patulum* isoliert worden ist<sup>3)</sup>.

Neben diesen beiden Substanzen konnte aus den Kulturfiltraten in ganz geringer Menge die Gentisinsäure isoliert werden, welche eine etwa 10mal schwächere Wirksamkeit zeigte. Sehr wahrscheinlich handelt es sich also bei dem vorliegenden Pilzstamm um *Penicillium patulum* selbst, oder doch um eine diesem sehr nahe stehende Art.

Die Reindarstellung des von unserem Schimmelpilz gebildeten Gentisinalkohols bot im Gegensatz zum Patulin, das leicht isoliert werden kann, grössere Schwierigkeiten. Eine Fraktionierung unserer Kulturfiltrate des *Penicillium*-stammes mittels Verteilungschromatographie<sup>4)</sup>

---

<sup>1)</sup> A. Fleming, Lancet **242**, 732 (1942). Wir verwendeten Schotte-Pepton-Agar (Milchschotte, 0,2% Pepton, 2% Agar), eingestellt auf p<sub>H</sub> 7,4, beimpft mit *Staphylococcus aureus* Stamm 114, Lochdurchmesser 13 mm.

<sup>2)</sup> J. H. Birkinshaw, A. Bracken und H. Raistrick, Biochem. J. **37**, 726 (1943).

<sup>3)</sup> J. H. Birkinshaw, A. Bracken, M. Greenwood, W. E. Gye, W. A. Hopkins und H. Raistrick, Lancet **245**, 625 (1943).

<sup>4)</sup> A. J. P. Martin und R. L. M. Synge, Biochem. J. **35**, 91 und 1358 (1941); ferner Th. Wieland und H. Fremery, B. **77**, 234 (1944); G. H. Hageboom und Lyman C. Craig, J. Biol. Chem. **162**, 363 (1946); M. T. Bush, A. Goth und H. L. Dickison, J. Pharmacol. exp. Therap. **84**, 262 (1945).

erlaubte uns jedoch, den Gentisinalkohol und das Patulin in guter Ausbeute zu isolieren und praktisch quantitativ zu trennen<sup>1)</sup>.

Die antibakterielle Wirkung des Gentisinalkohols wurde in der Literatur<sup>2)</sup> als wesentlich geringer als diejenige des Patulins angegeben. Im Gegensatz dazu war nach unseren Befunden der Gentisinalkohol im Plattentest praktisch gleich wirksam gegenüber Staphylokokken wie das Patulin. Die Wirksamkeit entsprach bei beiden reinen, kristallisierten Substanzen 10 OE pro mg. Bei einer durchschnittlichen Wirksamkeit von 10 bis 25 OE pro cm<sup>3</sup> Kulturlösung sollten demnach die Ausbeuten an Gentisinalkohol und Patulin zusammen theoretisch 1 bis 2,5 g pro Liter sein. In präparativen Ansätzen wurden im allgemeinen Ausbeuten von 1 bis 1,5 g an kristallisierten Reinpräparaten aus einem Liter erreicht (s. Tabelle I weiter unten).

Am Anfang züchteten wir den Schimmelpilz auf der von den englischen Autoren für die Penicillinproduktion ursprünglich angegebenen synthetischen Nährlösung<sup>3)</sup> von folgender Zusammensetzung: NaNO<sub>3</sub> 3 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 g, KCl 0,5 g, MgSO<sub>4</sub>·7 H<sub>2</sub>O 0,5 g, Glucose 40 g, FeSO<sub>4</sub>·7 H<sub>2</sub>O 10 mg (3,6 × 10<sup>-3</sup> molar), H<sub>2</sub>O bidest. ad 1000 cm<sup>3</sup>. Auf dieser Nährlösung bildete der Pilz eine kompakte Myceldecke mit gelegentlicher, unkonstanter Sporenbildung. Trotzdem es sich mit NaNO<sub>3</sub> als einziger Stickstoffquelle um einen physiologisch alkalischen Nährboden handelte, sank das p<sub>H</sub> der Nährlösung während des Wachstums infolge der Glucoseoxydation, um erst nach Verbrauch der Glucose wieder anzusteigen. Die Menge des vom Pilz synthetisierten Gentisinalkohols und Patulins war in der sauren Phase am grössten, beim Ansteigen des p<sub>H</sub> ging der Gehalt wieder zurück, wie aus folgendem Beispiel eines Versuchsansatzes ersichtlich ist (Tab. I):

Tabelle I.

Ausbeuten an Gentisinalkohol und Patulin bei verschiedener Kulturdauer.

Alter der Kultur Tage	p <sub>H</sub>	Wirksamkeit OE/cm <sup>3</sup>	Ausbeuten an Reinsubstanzen		
			Gentisinalkohol g/Liter	Patulin g/Liter	Total g/Liter
7	4,6	20	0,3	0,6	0,9
9	4,4	25	0,5	0,9	1,4
13	5,1		0,2	0,7	0,9
16	6,5	10	0,2	0,5	0,7
19	7,4		0,02	0,05	0,07

Der Anstieg der Wirksamkeit ging immer parallel mit dem Glucoseverbrauch, was polarimetrisch verfolgt werden konnte. Im Moment

<sup>1)</sup> Chemische Bearbeitung durch Dr. J. Renz.

<sup>2)</sup> J. H. Birkinshaw, A. Bracken und H. Raistrick, Biochem. J. **37**, 726 (1943).

<sup>3)</sup> P. W. Clutterbuck, R. Lovell und H. Raistrick, Biochem. J. **26**, 1907 (1932).

des Verschwindens der Glucose war die Ausbeute an Gentisinalkohol und Patulin am grössten.

Das Verhältnis der vom Schimmelpilz gebildeten Mengen Gentisinalkohol und Patulin war nicht konstant, sondern variierte stark je nach den Ernährungsbedingungen. Insbesondere sind Schwermetallspuren imstande, die Biosynthese entweder auf die Seite des Gentisinalkohols oder auf die Seite des Patulins zu verschieben.

Wie aus der Tabelle I ersichtlich ist, wird auf der oben beschriebenen Nährlösung Gentisinalkohol und Patulin im Mengenverhältnis von ungefähr 1:2 gebildet. Bei der Verwendung von Leitungswasser an Stelle von  $H_2O$  bidest. wurde das Wachstum des Pilzes beschleunigt, er bildete in einer solchen Nährlösung fast ausschliesslich Patulin und nur in Spuren Gentisinalkohol. Auf Grund dieser Beobachtung haben wir den Einfluss verschiedener Schwermetalle auf die Bildung der antibakteriellen Stoffe durch den Pilz untersucht.

In einer Versuchsreihe haben wir den Eisengehalt der Nährlösung variiert. Die Resultate sind in der Tabelle II zusammengestellt.

Tabelle II.

Verschiebung des Mengenverhältnisses von gebildetem Gentisinalkohol zu Patulin bei abnehmendem  $Fe^{++}$ -Gehalt der Nährlösung.

$FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ mg/Liter	Gentisin- alkohol g/Liter	Patulin g/Liter	Total- ausbeute g/Liter
20	0,09	1,14	1,23
10	0,42	0,70	1,12
5	0,56	0,44	1,00
2	0,72	0,64	1,36
1	1,28	0,20	1,48
0,5	0,44	0,44	0,88
0	0,52	0,80	1,32

Bei hohem  $FeSO_4$ -Gehalt der Nährlösung (20 mg/Liter) entsteht fast nur Patulin neben Spuren von Gentisinalkohol. Bei abnehmendem  $FeSO_4$ -Gehalt verschiebt sich die Synthese immer mehr auf die Seite des Gentisinalkohols, welcher bei 1 mg  $FeSO_4$ /Liter in maximaler Menge gebildet wird.

Da neben dem Eisen kleine Mengen von Kupfer, Zink und Mangan für das Wachstum und den Stoffwechsel vieler Pilze von Bedeutung sind<sup>1)</sup>, haben wir die Wirkung von kleinen Zusätzen dieser Schwermetalle in Form ihrer Sulfate in Konzentrationen von  $10^{-5}$  bis  $10^{-7}$  molar untersucht. Wir konnten feststellen, dass diese Spurenelemente sowohl das Wachstum des Pilzes als auch die Synthese der

<sup>1)</sup> Siehe z. B. H. Bortels, Bioch. Z. **182**, 301 (1927), ferner T. Sakamura, J. Fac. Sci., Hokkaido Imp. Univ. [V] **5**, 99 (1936).

antibakteriellen Stoffe Gentisinalkohol und Patulin ganz wesentlich beeinflussen. Die Resultate sind in Tabelle III zusammengestellt.

Tabelle III.

Ausbeuten an Gentisinalkohol und Patulin bei Zusatz von  $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Zn}^{++}$ ,  $\text{Mn}^{++}$ -Ionen neben  $\text{Fe}^{++}$ -Ionen.

Nährlösung	Mittleres Mycel-Trockengewicht mg/100cm <sup>3</sup>	Sporenbildung	Ausbeuten		
			Gentisinalkohol g/Liter	Patulin g/Liter	Total g/Liter
Ohne Fe	115	keine	0,52	0,80	1,32
+ $\text{FeSO}_4$ 1 mg/L	250	spärlich	1,28	0,20	1,48
+ $\text{FeSO}_4$ 1 mg/L	349	} mässig	0,60	0,10	0,70
+ $\text{CuSO}_4$ $\left\{ \begin{array}{l} 10^{-7} \text{ mol.} \\ 10^{-6} \text{ mol.} \\ 10^{-5} \text{ mol.} \end{array} \right.$	242				
	430				
+ $\text{FeSO}_4$ 1 mg/L	293	} keine	2,00	0,05	2,05
+ $\text{ZnSO}_4$ $\left\{ \begin{array}{l} 10^{-7} \text{ mol.} \\ 10^{-6} \text{ mol.} \\ 10^{-5} \text{ mol.} \end{array} \right.$	567				
	629				
+ $\text{FeSO}_4$ 1 mg/L	234	} stark	0,02	0,80	0,82
+ $\text{MnSO}_4$ $\left\{ \begin{array}{l} 10^{-7} \text{ mol.} \\ 10^{-6} \text{ mol.} \\ 10^{-5} \text{ mol.} \end{array} \right.$	192				
	215				

Neben der Beeinflussung des Wachstums (Mycelgewichte) und der Sporenbildung ersehen wir daraus, dass  $\text{Zn}^{++}$ -Ionen die Synthese praktisch ganz auf die Seite des Gentisinalkohols, dagegen  $\text{Mn}^{++}$ -Ionen auf die Seite des Patulins verschieben.

Der Gentisinalkohol und das Patulin zeigen, wie auch andere Antibiotica, eine für jede Substanz charakteristische Abhängigkeit ihrer antibakteriellen Wirkung in vitro vom  $p_{\text{H}}$  des Wirkungsmilieus. Bei Austestung der beiden Substanzen auf Lochplatten gegenüber Staphylokokken mit verschiedenen  $p_{\text{H}}$ -Stufen des Nährbodens wurden 2 verschiedene  $p_{\text{H}}$ -Wirkungskurven erhalten, die ihrerseits wieder verschieden sind von der  $p_{\text{H}}$ -Wirkungskurve des Penicillins, welche unter gleichen Versuchsbedingungen bestimmt wurde<sup>1)</sup> (s. Fig. 1).

Ein synthetisch dargestelltes Präparat des Gentisinalkohols hatte die gleiche Wirkung in vitro gegenüber Staphylokokken wie der natürliche, vom Schimmelpilz gebildete Gentisinalkohol. Fast die gleiche Wirksamkeit zeigten auch 2 Oxydationsprodukte desselben, nämlich der bereits bekannte Gentisinaldehyd und das Oxy-methyl-p-chinon (I). Das letztere erhielten wir aus dem Gentisin-

<sup>1)</sup> Penicillin-Natriumsalz, Handelspräparat von *Ely Lilly & Co.* (1944).

alkohol durch Oxydation mit Bleitetraacetat, wobei die primäre Alkoholgruppe intakt bleibt. Seine Konstitution konnten wir durch Umsetzen mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin sicherstellen. Dabei entsteht nicht das Phenylhydrazon, sondern im Einklang mit der Chinonstruktur ein p-Oxy-azofarbstoff (II), dessen Farbe in Lösung bei  $p_H = 5,6$  scharf von orange (sauer) nach violettrot umschlägt.

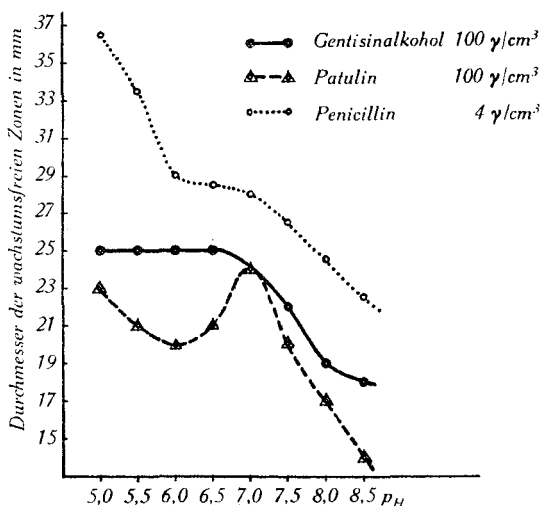
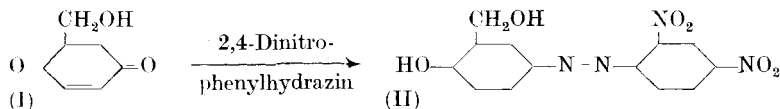


Fig. 1.

Abhängigkeit der antibakteriellen Wirkung des Gentisinalkohols, des Patulins und des Penicillins gegenüber *Staphylococcus aureus* vom  $p_H$  im Nährboden der Testplatte.



Durch partielle Acetylierung des Gentisinalkohols erhielten wir sowohl die an einem phenolischen Hydroxyl, als auch die an der primären Alkoholgruppe substituierte Acetylverbindung. Beide Verbindungen waren bakteriostatisch nur sehr wenig wirksam. Die Triacetylverbindung ist unlöslich in Wasser und konnte deswegen nicht geprüft werden.

### Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.)

#### 1. Isolierung des Patulins und des Gentisinalkohols aus der Kulturlösung.

1 Liter der vom Pilzmycel abfiltrierten hellgelben Kulturlösung, welche schwach sauer reagiert, wird im Vakuum auf 30–50 cm<sup>3</sup> eingedampft. Das sirupöse Konzentrat wird in einer passenden Säule zwischen Wasser und Äther verteilt. Der abfließende Äther wird in Fraktionen aufgefangen und diese eingedampft. Die Ausbeuten eines solchen Ansatzes sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Fraktion (je 50 cm <sup>3</sup> Äther)	g Substanz	Bemerkungen	
1	0,015	bräunlich, amorph	
2	0,04	bräunlich, z. T. kleine Krystalle	
3	0,13	} zuerst hell ölig, nach kurzer Zeit lange Krystallnadeln, die wie Eisblumen die Wandung des Kölbchens überdecken. = Patulin.	
4	0,27		
5	0,27		
6	0,19		
7	0,09		
8	0,03		
9	0,015		bräunlich, amorph
10	0,01		} zuerst hell ölig, nach kurzer Zeit bilden sich kleine Nadelbüschel, welche die ganze Wandung des Kölbchens aus- füllen.  } Mitunter verfärben sich einzelne Frak- tionen bei Luftzutritt violett bis blau- schwarz.  = Gentsinalkohol.
11	0,02		
12	0,03		
13	0,035		
14	0,07		
15	0,10		
16	0,11		
17	0,12		
18	0,08		
19	0,06		
20	0,04		
21	0,03		
22	0,02		
23	0,015		
24	0,015		
25	0,005		
26	0,005		
27	0,005		
28	0,005	bräunlich, amorph. Keine Krystalle	
29	<0,005	„ „ „ „	
30	<0,005	„ „ „ „	

Reinigung der Patulinfraktionen: Die Fraktionen 3–8 werden vereinigt und wiegen 0,98 g. Das Rohprodukt wird aus siedendem Chloroform umkrystallisiert. Das Patulin scheidet sich in farblosen, groben Prismen in einer Menge von 0,75 g ab. Das aus Chloroform und endlich aus Essigester-Hexan (1:1) umkrystallisierte Patulin schmilzt bei 109°.

3,222 mg im Vakuum bei 40° getrocknete Subst. gaben

6,490 mg CO<sub>2</sub> und 1,112 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub> (154) Ber. C 54,55 H 3,91%

Gef. „, 54,93 .. 3,86%

Reinigung der Gentsinalkoholfraktionen: Die Fraktionen 10–26 des Säulenversuches werden vereinigt (0,88 g). Das Rohprodukt wird in 4 cm<sup>3</sup> Methylalkohol gelöst und die rotbraune Lösung mit 200 cm<sup>3</sup> warmem Chloroform verdünnt. Die Lösung wird von einer entstandenen Trübung durch rasches Filtrieren durch eine dünne Talkschicht abgetrennt. In dem klaren Filtrat krystallisiert der Gentsinalkohol allmählich in Nadeln aus (0,5 g). Nicht bei allen Aufarbeitungen liegt das Rohprodukt in gleicher Reinheit vor. Falls es stärker mit braunen harzigen Beimischungen verunreinigt ist,

scheiden sich vor Beginn der Krystallisation noch bräunliche Schmierer ab, von welchen die Lösung abgegossen werden kann. Die Nadeln verfärben sich an der Luft etwas rötlich-braun. Der nochmals aus 2-proz. methanolhaltigem Chloroform umkrystallisierte Gentisinalkohol ist farblos und schmilzt bei 101°. Er gibt in wässriger Lösung mit Eisen(III)-chlorid eine rasch verschwindende Blaufärbung.

3,170 mg im Vakuum bei 40° getrocknete Subst. gaben  
 6,908 mg CO<sub>2</sub> und 1,63 mg H<sub>2</sub>O  
 C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub> (140,06) Ber. C 59,97 H 5,75%  
 Gef. „ 60,19 „ 5,84%

Die Untersuchung der Kulturlösung auf andere Wirkstoffe ergab ferner die Anwesenheit von kleinen Mengen Gentisinsäure. Dieselbe kann durch Fraktionieren des konzentrierten Kulturfiltrates in einer entsprechend bereiteten Säule durch Entwickeln mit Essigester isoliert werden. Die Säure (Smp. 201°) wird leicht durch ihre kornblumenblaue Eisen(III)-chloridreaktion erkannt.

2,5-Dioxy-benzylacetat: Das später beschriebene Acetoxymethyl-p-chinon (S. 8) wird in alkoholischer Lösung mit Platinoxid hydriert. In 10 Minuten werden 2 Mol Wasserstoff aufgenommen. Nach dem Eindampfen der vom Katalysator filtrierten Lösung krystallisiert der anfangs ölige Rückstand bald durch. Aus Chloroform-Hexan scheiden sich kleine Nadeln ab, welche bei 119–120° schmelzen. Die Monoacetylverbindung ist wasserlöslich.

3,180 mg Subst. gaben 6,912 mg CO<sub>2</sub> und 1,600 mg H<sub>2</sub>O  
 C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub> (182,1) Ber. C 59,31 H 5,54%  
 Gef. „ 59,55 „ 5,63%

Monoacetyl-gentisinalkohol: Diese Verbindung wird durch Reduktion des Monoacetyl-gentisinaldehyds<sup>1)</sup> gewonnen:

Die durch Erwärmen mit Acetanhydrid dargestellte Monoacetylverbindung des Gentisinaldehyds krystallisiert aus Methanol-Wasser (1:10) in langen, schwach gelblichen Nadeln. Die im Hochvakuum sublimierte Substanz schmilzt bei 77°.

3,243 mg Subst. gaben 7,187 mg CO<sub>2</sub> und 1,321 mg H<sub>2</sub>O  
 C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub> (180) Ber. C 60,00 H 4,48%  
 Gef. „ 60,44 „ 4,56%

In die Lösung von 0,57 g des acetylierten Aldehyds in 30 cm<sup>3</sup> 50-proz. Alkohol werden im Verlauf von 4 Stunden 12 g 2-proz. Natriumamalgam unter starkem Rühren eingetragen. Die Lösung wird durch ständigen Zusatz von Essigsäure ganz schwach sauer gehalten. Nach dem Eindampfen der vom Quecksilber abgegossenen Lösung wird das Reaktionsprodukt mit warmem Essigester herausgelöst und vom Natriumacetat abgetrennt. Nach dem Verjagen des Essigesters bleibt ein bald krystallisierendes Öl zurück (0,45 g). Das Rohprodukt wird aus Chloroform-Hexan umkrystallisiert. Die sich abscheidenden dünnen Blättchen schmelzen bei 85°. Die Acetylverbindung ist ebenfalls wasserlöslich.

3,226 mg Subst. gaben 7,047 mg CO<sub>2</sub> und 1,670 mg H<sub>2</sub>O  
 C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub> (182,1) Ber. C 59,31 H 5,54%  
 Gef. „ 59,58 „ 5,65%

Triacetyl-gentisinalkohol (2,5-Diacetoxy-benzylacetat): Der Gentisinalkohol wird in Pyridinlösung mit Acetanhydrid acetyliert. Der nach dem Abdampfen des Pyridins zurückbleibende zähflüssige Sirup wird im Hochvakuum destilliert. Bei ca. 0,001 mm destilliert zwischen 120–125° Badtemperatur ein dickflüssiges farbloses Öl.

3,216 mg Subst. gaben 6,947 mg CO<sub>2</sub> und 1,561 mg H<sub>2</sub>O  
 3,003 mg Subst. verbrauchten 3,322 cm<sup>3</sup> 0,01-n. NaOH  
 C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub> (266,1) Ber. C 58,62 H 5,30 CH<sub>3</sub>CO (3) 48,5%  
 Gef. „ 58,91 „ 5,43 „ 47,6%

<sup>1)</sup> Die wässrige Lösung des Monoacetyl-gentisinaldehyds färbt sich mit Eisen(III)-chlorid wie der Salicylaldehyd violett, während der freie Gentisinaldehyd eine blaue Färbung gibt. Bei der Acetylierung wird die Acetylgruppe offenbar am Hydroxyl, das zum Carboxyl in meta-Stellung steht, aufgenommen.

Die Triacetylverbindung ist unlöslich in Wasser.

Tribenzoyl-gentisinalkohol: Der Gentisinalkohol wird in Pyridinlösung unter Eiskühlung mit Benzoylchlorid umgesetzt. Die rotgefärbte Reaktionslösung wird nach 15 Stunden in Wasser eingegossen, wobei eine ölige Abscheidung entsteht, welche beim Waschen mit Wasser allmählich fest wird. Das Rohprodukt wird mehrmals aus siedendem Methanol umkrystallisiert. Man erhält kleine Nadeln, welche bei 122° schmelzen. Der Mischschmelzpunkt mit Benzoesäure (Smp. 121°) liegt bei 95°.

3,093 mg im Vakuum bei 50° getrocknete Subst. gaben  
 8,440 mg CO<sub>2</sub> und 1,265 mg H<sub>2</sub>O  
 C<sub>28</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub> (452,2) Ber. C 74,30 H 4,46%  
 Gef. „ 74,42 „ 4,47%

Oxydation des Gentisinalkohols mit Bleitetraacetat: In die Lösung von 1 g Gentisinalkohol in 40 cm<sup>3</sup> Eisessig werden unter Rühren 150 cm<sup>3</sup> einer 0,1-n. Lösung von Bleitetraacetat in Eisessig eingetroppt. Die Mischung färbt sich sofort gelb und wird dann bei niedriger Temperatur im Vakuum eingedampft. Der Eindampfdruckstand wird in Toluol aufgenommen und die gelbe Lösung vom Bleiacetat abfiltriert. Nach Abdampfen des Toluols bleiben 0,96 g gelbe Nadeln zurück. Diese werden aus 60 cm<sup>3</sup> Benzol-Petroläther (1:1) umkrystallisiert. Es bilden sich feine biegsame Nadeln (0,7 g), welche die ganze Lösung durchsetzen. Zur Analyse wird das Oxydationsprodukt aus Hexan umkrystallisiert. Das reine Oxymethyl-p-chinon schmilzt bei 76°.

3,171 mg im Vakuum bei 40° getrocknete Subst. gaben  
 7,110 mg CO<sub>2</sub> und 1,302 mg H<sub>2</sub>O  
 C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub> (138,05) Ber. C 60,86 H 4,38%  
 Gef. „ 61,01 „ 4,59%

Acetoxymethyl-p-chinon: Das Acetylierungsprodukt wurde durch Erwärmen des Oxymethyl-p-chinons mit Essigsäure-anhydrid erhalten. Das Rohprodukt wird aus Benzol-Petroläther und schliesslich aus heissem Wasser oder Alkohol umkrystallisiert. Das Acetat erscheint in feinen gelblichen Blättchen, welche bei 128° schmelzen.

3,103 mg im Vakuum bei 50° getrocknete Subst. gaben  
 6,862 mg CO<sub>2</sub> und 1,328 mg H<sub>2</sub>O  
 4,135 mg Subst. verbrauchten 2,517 cm<sup>3</sup> 0,01-n. NaOH  
 C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub> (180,06) Ber. C 59,98 H 4,48 CH<sub>3</sub>CO (1) 23,9%  
 Gef. „ 60,31 „ 4,79 „ 25,1%

Kondensationsprodukt des Oxymethyl-p-chinons mit Dinitrophenylhydrazin: Zur wässrigen Lösung des Oxymethyl-p-chinons (100 mg) wird die klar filtrierte Lösung von 300 mg Dinitrophenylhydrazin in 40 cm<sup>3</sup> 2-n. Salzsäure hinzugefügt. Das Gemisch trübt sich sofort, und es scheidet sich ein orangefarbenes Pulver ab. Das Rohprodukt (200 mg) wird aus heissem wässrigem Alkohol umkrystallisiert. Es bilden sich ziegelrote Nadelchen, welche sich bei 174° zersetzen.

3,215 mg im Hochvakuum bei 50° getrocknete Subst. gaben  
 5,782 mg CO<sub>2</sub> und 0,930 mg H<sub>2</sub>O  
 3,225 mg Subst. gaben 0,505 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (21°, 747 mm)  
 C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>N<sub>4</sub> (318,1) Ber. C 49,04 H 3,17 N 17,61%  
 Gef. „ 49,05 „ 3,24 „ 17,68%

Eine Lösung des Kondensationsproduktes in wässrigem Alkohol färbt sich auf Zusatz von Lauge prächtig violett; beim Ansäuern wird die Lösung wieder gelbrot. Der Farbumschlag findet scharf bei p<sub>H</sub> = 5,6 statt.

Chemisch-pharmazeutisches Laboratorium „Sandoz“  
 (Prof. Dr. A. Stoll), Basel.