

157. Welkstoffe und Antibiotika.

12. Mitteilung¹⁾.

Über die Konstitution des Patulins

von B. G. Engel, W. Brzeski und Pl. A. Plattner.

(28. III. 49.)

H. Raistrick und Mitarbeiter²⁾ haben für Patulin, ein Antibiotikum, das sie aus Kulturen von *Penicillium patulum* Bainier isolierten, die Struktur eines 3-Oxymethylen-tetrahydrocomansäure-Lactons (I) vorgeschlagen. Diese Formel wurde von späteren Bearbeitern im wesentlichen übernommen³⁾.

Eine eingehendere Betrachtung der Abbauergebnisse der verschiedenen Bearbeiter zeigt nun aber, dass die Formel I und die von *Bergel*, *Morrison*, *Moss* und *Rinderknecht*⁴⁾ in Betracht gezogenen tautomeren Formen derselben nicht die einzigen sind, welche weitgehend mit den experimentellen Resultaten in Einklang stehen, und auch die bis heute bekannt gewordenen Versuche zur Synthese⁵⁾ verstärkten unsere Zweifel an der Richtigkeit der allgemein angenommenen Patulin-Formel.

Alle Abbauprodukte des Patulins sicher bekannter Konstitution besitzen das in der Formel I enthaltene Pyron-Gerüst nicht mehr. Eine Ausnahme bildet nur die Tetrahydrocomansäure, welche von *Raistrick* und Mitarbeitern, allerdings nur in einer Ausbeute von etwa 10%, beim längeren Kochen des Patulins mit Säure erhalten wurde²⁾. Dagegen sollte eine von *Bergel* und Mitarbeitern erhaltene Ketosäure $C_7H_{10}O_4$, die bisher nicht sehr eingehend untersucht wurde, nach ihrer Herstellungsweise noch den Tetrahydropyron-Ring enthalten und auf Grund der *Raistrick*'schen Patulin-Formel die Konstitution einer Methyl-tetrahydrocomansäure (VII) besitzen. Es schien uns zur raschen Prüfung der Richtigkeit der Patulin-Formel am einfachsten, diese Ketosäure, die wir in der Folge Dihydro-desoxy-patulinsäure nennen, genauer zu untersuchen. Sie liess sich in teilweiser Abweichung von der *Bergel*'schen Vorschrift aus Patulin leicht herstellen und

¹⁾ 11. Mitt. Helv. **31**, 2203 (1948).

²⁾ *H. Raistrick, J. H. Birkinshaw, S. E. Michael* und *A. Bracken*, *Lancet* **245**, 625 (1943).

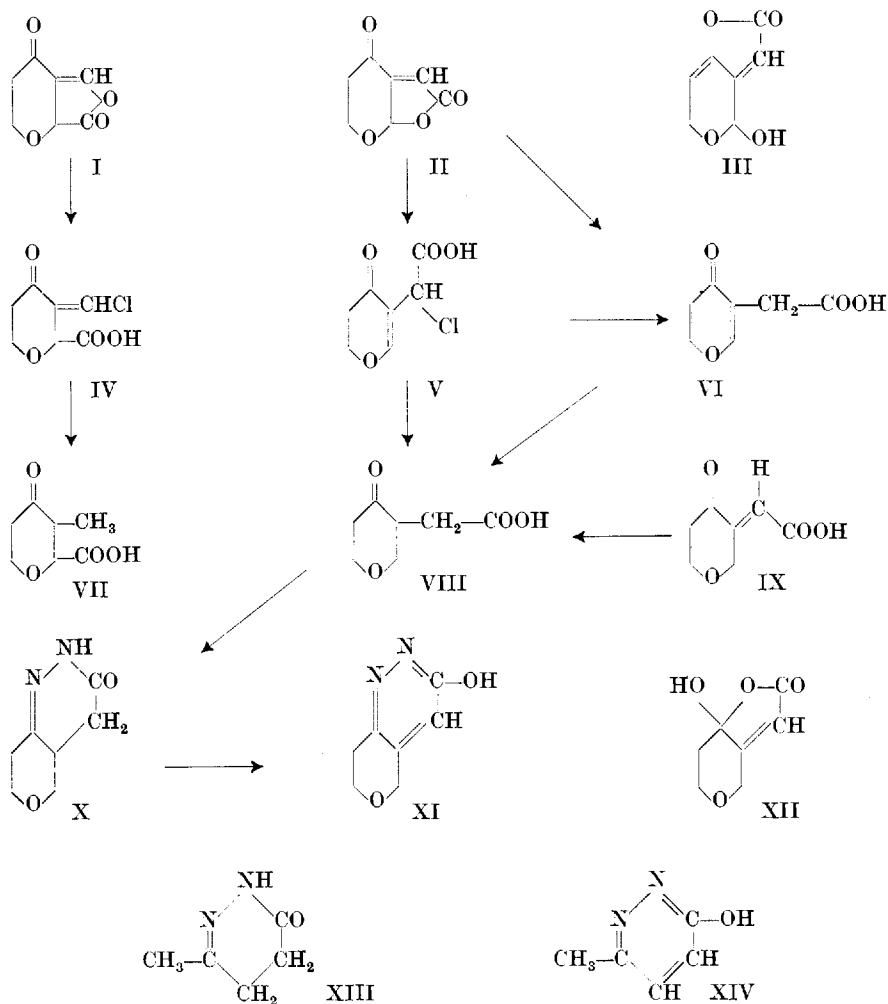
³⁾ Vgl. *Quart. Reviews Chem. Soc.* **2**, 53 (1948).

⁴⁾ *F. Bergel, A. L. Morrison, A. R. Moss* und *H. Rinderknecht*, *Soc.* **1944**, 415.

⁵⁾ *B. Puetzer, C. H. Nield* und *R. H. Barry*, *Science* **101**, 307 (1945); *Am. Soc.* **67**, 832 (1945). Vgl. auch *Z. Foldi, G. Fodor* und *I. Denjen*, *Soc.* **1948**, 1295.

konnte in Übereinstimmung mit den Angaben der Literatur durch Herstellung des Dinitrophenylhydrazons (Smp. 192—195°) und des p-Phenyl-phenacylestere (Smp. 125—265°) identifiziert werden. Zur weiteren Charakterisierung haben wir ausserdem den Methylester und dessen Dinitrophenylhydrazon (Smp. 149—150°) hergestellt.

Bei der Behandlung des Dihydro-desoxy-patulinsäure-methylesters mit Hydrazinhydrat entstand nun in sehr guter Ausbeute ein Pyridazinon-Derivat, das sich unschwer mit Brom zum entsprechenden Oxy-pyridazin dehydrieren liess. Diese Reaktionsfolge lässt sich mit der Formel VII der Ketosäure nicht vereinbaren, sondern deutet darauf hin, dass derselben die Konstitution einer Tetrahydro- γ -pyranyl-(3)-essigsäure (VIII) zukommt. Diese Vermutung konnte end-



gültig durch einen Vergleich der Ketosäure $C_7H_{10}O_4$ mit einem durch Hydrierung der Säure IX¹⁾ erhaltenen Präparat sichergestellt werden. Dem entsprechenden Pyridazinon bzw. dem Oxy-pyridazin kommen demnach die Formeln X bzw. XI zu. Ihre chemischen Eigenschaften und UV.-Spektren stimmen mit denjenigen der analogen aus Lävulin-säure erhaltenen Verbindungen XIII und XIV überein²⁾.

Auf Grund dieser Ergebnisse schien es notwendig, die Beziehungen zwischen der Ketosäure VIII und Patulin nochmals genau zu überprüfen. Die Ketosäure wurde für unsere Versuche in folgender Weise hergestellt: Eine Lösung von Patulin in feuchtem Äther wurde mit HCl-Gas behandelt; dabei erhält man in guter Ausbeute ein chlorhaltiges Produkt $C_7H_7O_4Cl$, Chlor-desoxy-patulinsäure, welches *Bergel* als IV formulierte, während wir heute V vorziehen. V kann entweder direkt oder über die Zwischenstufe der Desoxy-patulinsäure $C_7H_9O_4$ (VI) in die Ketosäure VIII umgewandelt werden. Desoxy-patulinsäure ist mit keiner der beiden von *Woodward* und *Singh*³⁾ erhaltenen ungesättigten Säuren IX bzw. XII identisch und dürfte die Konstitution VI besitzen.

Es ist nun von Interesse, dass die Desoxy-patulinsäure (VI; Smp. 110–111,5°) auch direkt durch Hydrierung von Patulin in Wasser mit Palladium als Katalysator erhalten werden kann⁴⁾. Bei dieser milden Reaktion scheint eine Öffnung des Pyron-Ringes mit nachfolgendem Ringschluss in anderer Richtung unwahrscheinlich.

Man darf demnach wohl annehmen, dass dem Patulin wirklich das Skelett der Tetrahydro- γ -pyronyl-(3)-essigsäure (VIII) zukommt. Schwieriger ist es, auf analytischem Wege die Lage der Doppelbindung und den Ort des Lacton-Ringschlusses festzulegen. Neben der von *Woodward* vorgeschlagenen Formel (III) scheint uns für Patulin auch die Formel II heute noch durchaus diskutierbar.

Für die Durchführung dieser Arbeit konnten Mittel aus den Eidg. Arbeitsbeschaffungskrediten verwendet werden.

Wir danken ebenfalls der *CIBA Aktiengesellschaft* in Basel für die Unterstützung dieser Arbeit.

¹⁾ Die Säure IX wurde uns in liebenswürdiger Weise von Prof. *R. B. Woodward* zur Verfügung gestellt, dem wir hier für diese Mithilfe und anregende Diskussionen unseren besten Dank aussprechen. Ihre Synthese ist inzwischen kurz publiziert worden. Vgl. *R. B. Woodward* und *G. Singh*, *Am. Soc.* **71**, 758 (1949).

²⁾ *Th. Curtius*, *J. pr.* [2], **50**, 522 (1894); *L. Wolff*, *A.* **394**, 98 (1912); *O. Poppenberg*, *B.* **34**, 3263 (1901).

³⁾ *Loc. cit.* Wir danken Prof. *Woodward* für die Überlassung der beiden Präparate zur Mischprobe.

⁴⁾ Eine erste entsprechende Beobachtung stammt von *P. A. Katzman* und Mitarbeitern, *J. Biol. Chem.* **154**, 475 (1944). Die Autoren haben das Produkt vom Smp. 111,5–112° als Tetrahydro-patulin bezeichnet.

Experimenteller Teil¹⁾.**Kulturbedingungen und Extraktion²⁾.**

Der Pilz, *Penicillium urticae* Bainier (Stamm ETH. 1634), wurde auf einer *Raulin-Thom*-Nährlösung gezüchtet. Die Temperatur variierte zwischen 18 und 27° je nach Versuchen. Es wurde nach 13–30 Tagen geerntet.

Wir waren nur an der Isolierung des Patulins, des Gentsisinalkohols³⁾ und später des Gentsinichinhydrons⁴⁾ interessiert, die unter den angegebenen Kulturbedingungen als Hauptprodukte auftreten. Zu diesem Zweck wurde folgende Extraktionsmethode⁵⁾ ausgearbeitet:

Das Kultur-Filtrat wurde jeweils mit Natriumchlorid gesättigt und mit dem gleichen Volumen Essigester ausgeschüttelt. Die Essigesterschicht wurde mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonat-Lösung (welcher noch Ammoniumsulfat bis zur Sättigung zugegeben worden war) und dann mit einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Durch biologische Tests wurde bei jeder Operation die Extraktion des aktiven Stoffes verfolgt.

Der Extrakt wurde schliesslich getrocknet und im Vakuum eingengt. Durch Abkühlen und eventuell Animpfen der konzentrierten Lösung wurden die einzelnen Verbindungen in kristallisierter Form erhalten. In gewissen Fällen musste man die chromatographische Reinigungsmethode anwenden.

Patulin.

Das rohe Patulin wurde mehrmals aus Benzol umkristallisiert und zur Analyse im Hochvakuum bei 90° sublimiert. Das Analysenpräparat schmolz bei 109–110,5°.

3,710 mg Subst. gaben 7,408 mg CO₂ und 1,274 mg H₂O
 7,438 mg Subst. gaben 1,079 cm³ CH₄ (0°, 760 mm) (Anisol: 80°)
 C₇H₆O₄ Ber. C 54,55 H 3,92 akt. H 0,65%
 Gef. „ 54,49 „ 3,84 „ „ 0,65%

UV.-Spektrum: λ_{\max} : 277 m μ , log ϵ = 4,3.

Das von uns isolierte Patulin stimmte in allen seinen chemischen und physikalischen Eigenschaften mit dem von *Raistrick* und Mitarbeitern⁵⁾ beschriebenen Produkt überein.

Acetat⁵⁾ Smp. 118–119° (l. c. Smp. 118°). Das Acetat wurde zur Analyse 15 Stunden bei 60° im Hochvakuum getrocknet.

3,790 mg Subst. gaben 7,630 mg CO₂ und 1,449 mg H₂O
 C₉H₈O₅ Ber. C 55,10 H 4,11% Gef. C 54,94 H 4,28%

UV.-Spektrum: λ_{\max} : 277 m μ , log ϵ = 4,3

¹⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert. Die UV.-Spektren wurden in Äthanol aufgenommen.

²⁾ Der Pilz wurde im Institut für spezielle Botanik der ETH. (Leitung Prof. Dr. E. Gümnamann) gezüchtet. Dort wurden auch die biologischen Tests nach der Verdünnungsmethode (vgl. *L. Ettlinger*, B. Schweiz. bot. Ges. **56**, 681 (1946) und *W. Schlegel*, Diss. ETH., Zürich 1948) ausgeführt. Als Testbakterium diente *Staphylococcus aureus* (Stämme ETH. 2014, 2024 und 2026). Wir möchten Herrn Dr. *L. Ettlinger*, Frau *S. Naef-Roth*, Frä. *M. Dieth*, *F. Turel*, *N. Hediger*, *N. Hemmeler*, *H. Fellenberg* und *Y. Morf* für ihre wertvolle Hilfe auch an dieser Stelle bestens danken.

³⁾ *J. H. Birkinshaw*, *A. Bracken* und *H. Raistrick*, Biochem. J. **37**, 726 (1943).

⁴⁾ *B. G. Engel* und *W. Brzeski*, Helv. **30**, 1472 (1947).

⁵⁾ *H. Raistrick*, *J. H. Birkinshaw*, *S. E. Michael* und *A. Bracken*, Lancet **245**, 625 (1943).

Chlor-desoxy-patulinsäure (V)¹⁾.

1,0 g Patulin wurde in 100 cm³ Äther²⁾ gelöst. Es wurde während 3 Stunden bei 10° ein Chlorwasserstoffstrom durch die Lösung durchgeleitet und weitere 5 Stunden stehen gelassen. Der Äther wurde im Vakuum abgedampft und der kristalline Rückstand im Exsikkator über fester Natronlauge getrocknet. Nach dem Umkrystallisieren aus Benzol wurden 800 mg Substanz vom Smp. 129—132° erhalten. Zur Analyse wurde das Produkt aus Benzol oder Äther-Petroläther umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 110° sublimiert. Smp. 131—132,5° (l. c. Smp. 129—130°).

3,882 mg Subst. gaben 6,249 mg CO₂ und 1,313 mg H₂O

4,784 mg Subst. gaben 3,612 mg AgCl

C₇H₇O₄Cl Ber. C 44,11 H 3,70 Cl 18,60%

Gef. „ 43,93 „ 3,78 „ 18,68%

UV.-Spektrum: λ_{max}: 270 mμ, log ε = 3,6; λ_{min}: 225 mμ, log ε = 2,45.

Elektrometrische Mikrotitration³⁾. 0,658 mg Substanz in 1 cm³ Wasser verbrauchten 32,0 mm³ 0,1-n. Tetramethylammonium-hydroxyd.

C₇H₇O₄Cl Äquivalentgewicht: Ber. 191, gef. 205; p_K H₂O = 4,4

Methylester: 100 mg Chlor-desoxy-patulinsäure wurden in Methanol gelöst und mit einer ätherischen Lösung von Diazomethan wie üblich verestert. Der erhaltene, ölige Methylester wurde zur Analyse im Hochvakuum dreimal destilliert. Sdp._{0,04} ca. 110°.

3,496 mg Subst. gaben 6,027 mg CO₂ und 1,379 mg H₂O

5,216 mg Subst. gaben 3,665 mg AgCl

C₈H₉O₄Cl Ber. C 46,96 H 4,43 Cl 17,33%

Gef. „ 47,06 „ 4,40 „ 17,38%

Methylester-dinitrophenylhydrazon. 60 mg Chlor-desoxy-patulinsäure-methylester (Sdp._{0,04} ca. 110°) wurden mit 70 mg Dinitrophenylhydrazin (in konzentrierter Schwefelsäure/Methanol nach *Brady*⁴⁾) versetzt. Es fiel ein orangefarbenes Dinitrophenylhydrazon aus, das aus Benzol-Methanol umkrystallisiert wurde. Der Schmelzpunkt des Derivates betrug 182—183°. Zur Analyse wurde es 24 Stunden bei 70° im Hochvakuum getrocknet.

3,962 mg Subst. gaben 6,402 mg CO₂ und 1,179 mg H₂O

2,970 mg Subst. gaben 0,393 cm³ N₂ (21°, 728 mm)

5,830 mg Subst. gaben 2,206 mg AgCl

C₁₄H₁₃O₇ClN₄ Ber. C 43,70 H 3,40 N 14,56 Cl 9,22%

Gef. „ 44,10 „ 3,33 „ 14,71 „ 9,36%

Desoxy-patulinsäure (VI)⁵⁾.

212 mg Chlor-desoxy-patulinsäure wurden in 10 cm³ Wasser gelöst und in Anwesenheit von 210 mg Palladium-Kohle⁶⁾ in Wasserstoff-Atmosphäre geschüttelt. Nach Aufnahme von 24,4 cm³ (= 1 Mol.) Wasserstoff wurde die Hydrierung unterbrochen. Die wässrige Lösung wurde mit Äther extrahiert. Nach Abdampfen des Äthers wurden 150 mg

¹⁾ *F. Bergel, A. L. Morrison, A. R. Moss und H. Rinderknecht, Soc. 1944, 415*, haben das gleiche Produkt auf anderem Wege erhalten.

²⁾ Ungetrockneter Äther; im sog. absoluten Äther erhält man keine Chlor-desoxy-patulinsäure.

³⁾ Vgl. *W. Ingold, Helv. 29, 1929 (1946)*. Die elektrometrischen Titrations verdanken wir Herrn *W. Frick*.

⁴⁾ *O. L. Brady, Soc. 1931, 756*.

⁵⁾ Vgl. *P. A. Katzman, E. E. Hays, C. K. Cain, J. J. van Wyk, F. I. Reithel, S. A. Thayer, E. A. Doisy, W. L. Gaby, C. I. Carroll, R. D. Muir, L. R. Jones und N. J. Wade, J. Biol. Chem. 154, 475 (1944)*.

⁶⁾ *O. Diels und W. Gädke, B. 58, 1231 (1925)*.

Krystalle erhalten. Sie wurden aus Benzol umkrystallisiert und bei 100° im Hochvakuum sublimiert. Das Analysenprodukt schmolz bei 110–111,5°.

3,715; 3,820 mg Subst. gaben 7,332; 7,530 mg CO₂ und 1,704; 1,765 mg H₂O

C₇H₈O₄ Ber. C 53,84 H 5,16% Gef. C 53,86; 53,79 H 5,13; 5,17%

UV.-Spektrum: λ_{max}: 268 mμ, log ε = 4,1; λ_{min}: 233 mμ, log ε = 3,05.

Elektrometrische Mikrotitration: 0,713 mg Substanz in 1,0 cm³ Wasser verbrauchten 43,7 mm³ 0,1-n. Tetramethylammonium-hydroxyd.

C₇H₈O₄ Äquivalentgewicht: Ber. 156, gef. 162; p_K H₂O = 4,3

Methylester. 100 mg Desoxy-patulinsäure wurden in Äther gelöst und mit einer ätherischen Lösung von Diazomethan wie üblich verestert. Der erhaltene, ölige Methylester wurde zur Analyse bei 60° im Hochvakuum dreimal destilliert.

3,500; 3,833 mg Subst. gaben 7,245; 7,934 mg CO₂ und 1,850; 1,946 mg H₂O

C₈H₁₀O₄ Ber. C 56,46 H 5,92% Gef. C 56,48; 56,49 H 5,91; 5,68%

UV.-Spektrum: λ_{max}: 265 mμ, log ε = 3,95; λ_{min}: 220 mμ, log ε = 2,7.

d_D²⁶ = 1,4961 n_D²⁵ = 1,2279; M_D gef. = 40,49, M_D ber. für C₈H₁₀O₄ (2 O⁻; 2 O<; |1) = 39,78; EM_D = 0,71.

Methylester-dinitrophenylhydrazon: a) 110 mg Desoxy-patulinsäure-methylester (Sdp._{0,05} ca. 85°) wurden mit einer Lösung von 120 mg Dinitrophenylhydrazin in 10 cm³ Dioxan und 3 Tropfen konzentrierter Salzsäure versetzt. Nach dem Verdünnen mit etwas Wasser fiel ein blutroter Niederschlag aus, der aus Dioxan-Wasser umkrystallisiert wurde. Das in schönen Nadeln krystallisierende Derivat schmolz bei 175–177° und wurde zur Analyse 24 Stunden bei 60° im Hochvakuum getrocknet.

3,798 mg Subst. gaben 6,659 mg CO₂ und 1,411 mg H₂O

2,518 mg Subst. gaben 0,360 cm³ N₂ (20°, 723 mm)

C₁₄H₁₄O₇N₄ Ber. C 48,00 H 4,03 N 16,00%

Gef. „ 47,85 „ 4,16 „ 15,84%

b) 60 mg Desoxy-patulinsäure wurden in Methanol aufgenommen und mit 80 mg Dinitrophenylhydrazin, gelöst in einem Gemisch von konzentrierter Schwefelsäure und Methanol (nach *Bradley*), bei ca. 40° versetzt. Beim Abkühlen fiel ein blutroter, krystalliner Niederschlag aus, der nach mehrmaligem Umlösen aus Methanol bei 175–177° schmolz. Das Produkt war gegen Lackmus neutral und löste sich weder in Natriumhydrogencarbonat noch in Natriumcarbonat. Es lag das Dinitrophenylhydrazon des Desoxypatulinsäure-methylesters vor, wie durch Analyse des Produktes und Vergleich mit dem nach a) hergestellten Präparat bewiesen wurde. Das Analysenpräparat wurde 24 Stunden bei 70° im Hochvakuum getrocknet.

3,492 mg Subst. gaben 6,138 mg CO₂ und 1,272 mg H₂O

2,376 mg Subst. gaben 0,344 cm³ N₂ (19°, 725 mm)

C₁₄H₁₄O₇N₄ Ber. C 48,00 H 4,03 N 16,00%

Gef. „ 47,97 „ 4,09 „ 16,14%

Dihydro-desoxy-patulinsäure (VIII).

a) Aus Desoxy-patulinsäure: 96 mg Desoxy-patulinsäure wurden in 10 cm³ Alkohol gelöst, mit 1 cm³ Eisessig versetzt und in Anwesenheit von 100 mg Palladium/Bariumsulfat-Katalysator (2,4-proz. an Palladium) in Wasserstoff-Atmosphäre geschüttelt. Nach 80 Minuten waren 14,0 cm³ H₂ (0°, 760 mm) aufgenommen worden (Theorie: 13,8 cm³). Die weitere Aufnahme von Wasserstoff ging sehr langsam vor sich. Die Hydrierung wurde unterbrochen und die Lösung filtriert, im Vakuum eingedampft und der Rückstand mit 0,1-n. Natronlauge auf Bromthymolblau neutralisiert. Es wurden 5,6 cm³ Lauge verbraucht. Die wässrige neutrale Lösung wurde mit Essigester extrahiert, um eventuell vorhandenes Lacton zu entfernen. Der Essigester wurde getrocknet und im Vakuum abgedampft. Der neutrale Rückstand wog 20 mg und wurde nicht näher untersucht.

Die wässrige Schicht wurde dann angesäuert und mit Essigester extrahiert. Es wurden 60 mg farbloses Öl erhalten, das im Hochvakuum nicht destilliert werden konnte.

b) Aus Chlor-desoxy-patulinsäure¹⁾: 1,0 g Chlor-desoxy-patulinsäure wurde in 30 cm³ Wasser gelöst und in Anwesenheit von 1,0 g Palladium/Bariumsulfat-Katalysator (2,4-proz. an Palladium) hydriert. Nach 100 Minuten war die theoretische Wasserstoffmenge (= 231 cm³; 0°, 760 mm) aufgenommen worden. Die Wasserstoffaufnahme ging langsam weiter. Nach Aufnahme von 250 cm³ Wasserstoff (0°, 760 mm) wurde die Hydrierung unterbrochen. Die filtrierte Lösung wurde mit 1-n. Natronlauge titriert (Indikator: Bromthymolblau). Es wurden 10,4 cm³ Lauge verbraucht. Die neutralisierte Lösung wurde kontinuierlich mit Äther extrahiert und so 30 mg neutrales Öl erhalten, das nicht weiter untersucht wurde (s. oben).

Die wässrige Lösung wurde dann angesäuert und mit Essigester extrahiert. Nach Abdampfen des Lösungsmittels wurden 550 mg farbloses Öl erhalten. Das Öl destillierte im Hochvakuum nicht.

Die Identität der zwei Präparate wurde durch Vergleich der festen Derivate bewiesen.

p-Phenyl-phenacylester¹⁾. Smp. 125—126,5° (l. c. Smp. 125—127°). Zur Analyse wurde die Substanz 24 Stunden bei 60° im Hochvakuum getrocknet.

3,750 mg Subst. gaben 9,851 mg CO₂ und 1,907 mg H₂O

C₂₁H₂₀O₅ Ber. C 71,57 H 5,72% Gef. C 71,69 H 5,69%

Dinitrophenylhydrazon¹⁾. Smp. 194—197° (l. c. Smp. 197—199°). Zur Analyse wurde die Substanz 3 Tage bei 60° im Hochvakuum getrocknet.

3,620 mg Subst. gaben 6,114 mg CO₂ und 1,336 mg H₂O

C₁₃H₁₄O₇N₄ Ber. C 46,15 H 4,17% Gef. C 46,10 H 4,13%

Methylester. 200 mg rohe Dihydro-desoxy-patulinsäure wurden in Äther gelöst und mit einer ätherischen Lösung von Diazomethan versetzt. Nach der üblichen Aufarbeitung wurden 180 mg Öl erhalten, das bei 90° im Vakuum der Wasserstrahlpumpe zweimal destilliert wurde.

2,217; 3,436; 3,842 (Präp. III) mg Subst. gaben 4,530; 7,000; 7,862 mg CO₂ und 1,416; 2,196; 2,431 mg H₂O.

C₈H₁₂O₄ Ber. C 55,80 H 7,03%

Gef. „ 55,76; 55,60; 55,84 „ 7,15; 7,15; 7,08%

Präparat III: $d_4^{20} = 1,1658$ $n_D^{20} = 1,4637$; M_D gef.: 40,733, M_D ber. für C₈H₁₂O₄ (2 O^{••}; 2 O <) = 40,252; $EM_D = 0,48$.

Methylester-dinitrophenylhydrazon. 100 mg rohe Dihydrodesoxy-patulinsäure wurden in wenig Methanol gelöst und mit einer Lösung von 150 mg Dinitrophenylhydrazin (in konzentrierter Schwefelsäure/Methanol nach *Brady*) versetzt. Es fiel ein Niederschlag aus, der aus Methanol umkristallisiert wurde. Zur Analyse wurde das Derivat 24 Stunden bei 70° im Hochvakuum getrocknet. Es schmolz bei 149—150°.

Das gleiche Produkt entstand durch Umsetzung von Dihydro-desoxy-patulinsäuremethylester mit Dinitrophenylhydrazin.

3,766; 3,808 mg Subst. gaben 6,589; 6,670 mg CO₂ und 1,570; 1,555 mg H₂O

3,599 mg Subst. gaben 0,512 cm³ N₂ (19°, 733 mm)

C₁₄H₁₆O₇N₄ Ber. C 47,73 H 4,58 N 15,90%

Gef. „ 47,75; 47,80 „ 4,66; 4,57 N 16,03%

Pyridazinon aus Dihydro-desoxy-patulinsäure (X).

42 mg Dihydro-desoxy-patulinsäuremethylester wurden in 5 cm³ Methanol gelöst und mit 22 mg (= 1,5 Mol) Hydrazinhydrat in 5 cm³ Methanol 1 Stunde am Rückfluss gekocht. Das Methanol wurde im Vakuum abgedampft und der Rückstand aus Benzol-

¹⁾ F. Bergel, A. L. Morrison, A. R. Moss und H. Rinderknecht, Soc. 1944, 415.

Petroläther umkrystallisiert. Nach mehrmaligem Umlösen schmolz das Produkt bei 156–158°. Der Test auf Hydrazide mit Natriumpentacyanoaminferroat war negativ. Zur Analyse wurde die Substanz bei 120° im Hochvakuum sublimiert.

3,590; 4,020 mg Subst. gaben 7,177; 8,018 mg CO₂ und 2,072; 2,400 mg H₂O
2,183 mg Subst. gaben 0,353 cm³ N₂ (19°, 729 mm)

C₇H₁₀O₂N₂ Ber. C 54,53 H 6,54 N 18,17%
Gef. „ 54,56; 54,42 „ 6,45; 6,68 „ 18,13%

UV.-Spektrum: λ_{max}: 250 mμ, log ε = 3,95.

Oxy-pyridazin aus Dihydro-desoxy-patulinsäure (XI).

70 mg Pyridazinon X aus Dihydro-desoxy-patulinsäure wurden mit 0,5 cm³ einer 1-m. Bromlösung in Eisessig versetzt und das Gemisch auf 100° erhitzt. Es trat sofort eine heftige Reaktion unter Bromwasserstoff-Entwicklung ein. Nach dem Abkühlen krystallisierten ca. 70 mg Oxy-pyridazin-hydrobromid vom Smp. 250–252° aus. Sie wurden in Wasser gelöst und mit 2-n. Natriumcarbonat behandelt. Um das überschüssige Brom zu entfernen, wurde noch etwas Natriumsulfit zugegeben. Durch Extraktion mit Essigester liessen sich 50 mg Oxy-pyridazin vom Smp. 226–229° isolieren. Nach mehrmaligem Umlösen aus Methanol-Benzol betrug der Smp. 230–231,5°. Die Analysenprobe wurde im Hochvakuum bei 130° sublimiert.

3,859 mg Subst. gaben 7,803 mg CO₂ und 1,806 mg H₂O

3,290 mg Subst. gaben 0,543 cm³ N₂ (20°, 730 mm)

C₇H₈O₂N₂ Ber. C 55,25 H 5,30 N 18,41%
Gef. „ 55,18 „ 5,24 „ 18,47%

UV.-Spektrum: λ_{max}: 296 mμ, log ε = 3,5; λ_{min}: 251 mμ, log ε = 2,5.

Vergleichspräparate aus Lävulinsäure.

3-Methyl-pyridazinon-(6) (XIII)^{1a) b) c)}. Das Produkt wurde nach der Vorschrift von Wolff^{1c)} hergestellt. Nach Sublimation schmolz das Pyridazinon bei 102°. Es nahm an der Luft langsam Wasser auf und schmolz dann unscharf bei 80° (l. c. Smp. 82° mit Krystallwasser; 104–105° ohne Krystallwasser). Das krystallwasserhaltige Präparat wurde analysiert.

4,020 mg Subst. gaben 6,796 mg CO₂ und 2,766 mg H₂O

2,388 mg Subst. gaben 0,462 cm³ N₂ (20°, 724 mm)

C₅H₈ON₂ · H₂O Ber. C 46,14 H 7,75 N 21,53%
Gef. „ 46,14 „ 7,70 „ 21,47%

UV.-Spektrum: λ_{max}: 245 mμ, log ε = 4,2.

3-Methyl-6-oxy-pyridazin (XIV)^{1b)}. 130 mg 3-Methyl-pyridazinon-(6) wurden mit 1 cm³ einer 1-m. Bromlösung in Eisessig versetzt und auf 100° erhitzt. Es erfolgte heftige Bromwasserstoff-Entwicklung. Nach dem Abkühlen krystallisierten 120 mg Hydrobromid vom Smp. 161–165° aus. Dieses wurde in Wasser gelöst, mit Natriumcarbonat und wenig Natriumsulfit versetzt und das freie Oxy-pyridazin mit Essigester extrahiert. Es wurde aus Benzol-Petroläther umkrystallisiert. Die reine Verbindung schmolz bei 140–142° (l. c.: Smp. 143°). Sie wurde zur Analyse im Hochvakuum bei 100° sublimiert und vor der Verbrennung noch 12 Stunden über Phosphorpentoxyd getrocknet.

3,830 mg Subst. gaben 7,632 mg CO₂ und 1,865 mg H₂O

2,879 mg Subst. gaben 0,660 cm³ N₂ (20°, 727 mm)

C₅H₈ON₂ Ber. C 54,53 H 5,49 N 25,45%
Gef. „ 54,38 „ 5,45 „ 25,56%

UV.-Spektrum: λ_{max}: 290 mμ, log ε = 3,45; λ_{min}: 248 mμ, log ε = 2,4.

¹⁾ a) *Th. Curtius*, J. pr. [2], **50**, 522 (1894); b) *O. Poppenberg*, B. **34**, 326 (1901); c) *L. Wolff*, A. **394**, 98 (1912).

Hydrierung von Patulin¹⁾.

a) Desoxy-patulinsäure. 150 mg Patulin (0,97 mMol.) wurden in Wasser gelöst und in Anwesenheit von 100 mg Palladium/Bariumsulfat-Katalysator (7-proz. an Palladium) hydriert. Nach 20 Minuten waren 1,3 mMol. Wasserstoff aufgenommen worden. Die Hydrierung wurde unterbrochen, die wässrige Lösung filtriert und mit Essigester extrahiert. Die Essigester-Schicht wurde mit Natriumhydrogencarbonat ausgeschüttelt, die alkalische Schicht angesäuert und mit Essigester ausgeo.ogen. Nach Verdampfen des Lösungsmittels erhielt man 40 mg eines gelblichen, krystallinen Rückstandes. Dieser wurde aus Chloroform-Benzol einmal umkrystallisiert und die so erhaltenen farblosen Nadeln (30 mg; Smp. 103—109°) zweimal im Hochvakuum sublimiert. Das sublimierte Produkt schmolz bei 109—111° und zeigte keine Depression bei der Mischprobe mit Desoxy-patulinsäure vom Smp. 110—111,5°. Das sublimierte Präparat wurde analysiert.

3,600 mg Subst. gaben 7,104 mg CO₂ und 1,654 mg H₂O
 C₇H₈O₄ Ber. C 53,84 H 5,16% Ber. C 53,85 H 5,14%

Die Ausbeute an roher Desoxy-patulinsäure betrug in diesem Versuche etwa 27% der Theorie.

b) Desoxy-patulinsäure und Methylester. 310 mg Patulin (2,01 mMol.) wurden in Wasser gelöst und in Gegenwart von 60 mg Palladium/Bariumsulfat-Katalysator (7-proz. an Palladium) hydriert. Nach Aufnahme von 2 mMol. Wasserstoff wurde die Hydrierung unterbrochen und die Lösung filtriert. Das Filtrat wurde mit Wasser auf 25 cm³ gebracht. Es zeigte eine starke weinrote Färbung auf Zusatz von Eisen(III)-chlorid.

8 cm³ des Filtrates wurden mit 0,1-n. Natronlauge titriert. Sie verbrauchten 4,6 cm³ Alkali. Das heisst, dass bei der Hydrierung aus 1 mMol. Patulin 0,72 mMol. Säuren entstehen²⁾.

Der titrierte Anteil wurde angesäuert und zusammen mit dem restlichen Filtrat mit Essigester extrahiert. Wir erhielten so 70 mg eines krystallinen Produktes; nach Behandlung seiner Lösung in Äther mit etwas Tierkohle und Sublimation im Hochvakuum schmolz es bei 109—110° und gab keine Schmelzpunkterniedrigung in der Mischprobe mit Desoxy-patulinsäure (Smp. 110—111,5°). Die Ausbeute an krystallisierter Desoxy-patulinsäure betrug 22% der Theorie, bezogen auf Patulin.

Die extrahierte wässrige Lösung wurde noch mit Natriumchlorid gesättigt und mit Essigester wiederum extrahiert. Das so erhaltene Hydrierungsprodukt (60 mg) wurde mit Diazomethan methyliert. Wir erhielten 70 mg eines neutralen Öles, das bei 80° und 0,02 mm destilliert wurde. Es destillierten 50 mg farblose Flüssigkeit, die auf Grund einer spektroskopischen Bestimmung (*Beckman's* Spektrophotometer, 265 m μ) 89% an Desoxy-patulinsäure-methylester enthielt (Ausbeute 13% der Theorie, bezogen auf Patulin).

Die Gesamt-Ausbeute an Desoxy-patulinsäure betrug also in diesem Hydrierungsversuche 35% der Theorie.

c) Desoxy-patulinsäure-methylester und Dinitrophenylhydrazon. 310 mg Patulin (2,01 mMol.) wurden in Anwesenheit von 50 mg Palladium/Bariumsulfat in Wasser hydriert. Nach einer Stunde waren 2 mMol. Wasserstoff aufgenommen worden und die Hydrierung wurde unterbrochen. Die Lösung wurde nach Abfiltrieren des Katalysators mit Natriumchlorid gesättigt und mit Essigester extrahiert. Der Essigester wurde getrocknet und abgedampft. Der Rückstand war ein gelbes Öl und wog 300 mg. Es wurde in zwei Hälften geteilt.

¹⁾ Mitbearbeitet von Fr. J. V. Holop.

²⁾ Bei einem Blindversuch, in welchem 460 mg Patulin (2,99 mMol.) in 10 cm³ Wasser unter Stickstoff während einer Stunde geschüttelt wurden, zeigte die Lösung keine Färbung mit Eisen(III)-chlorid und war nur schwach sauer. Sie wurde auf 25 cm³ gebracht und 8 cm³ davon mit 0,1-n. Natronlauge titriert. Der Verbrauch an Lauge betrug 0,3 cm³. Unter diesen Bedingungen waren also nur Spuren von Säuren (ca. 0,03 mMol. pro mMol. Patulin) freigesetzt worden.

Die eine Hälfte setzten wir mit Dinitrophenylhydrazin in Methanol-Schwefelsäure direkt um, erhielten aber uneinheitliche Produkte.

Die zweite Hälfte wurde zuerst mit Diazomethan methyliert. Das methylierte Produkt wurde wie üblich neutral gewaschen und bei ca. 70° und 0,02 mm destilliert. Man erhielt 60 mg eines farblosen Öles, das ein zweites Mal destilliert wurde. Das Produkt enthielt auf Grund der spektrophotometrischen Messung 74% Desoxy-patulinsäure-methylester. Die Ausbeute betrug also 26% der Theorie, bezogen auf Patulin.

Zur Kontrolle wurde das Destillat mit Dinitrophenylhydrazin umgesetzt. Man erhielt als einziges Produkt ein blutrotes Dinitrophenylhydrazon, das nach einmaligem Umkrystallisieren aus Methanol konstant bei 177–178° schmolz. Bei der Mischprobe mit dem gleichschmelzenden Dinitrophenylhydrazon aus Desoxy-patulinsäure-methylester zeigte das Derivat keine Schmelzpunktniedrigung. Es wurde zur Analyse 40 Stunden bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

3,866 mg Subst. gaben 6,798 mg CO₂ und 1,409 mg H₂O
 C₁₄H₁₄O₇N₄ Ber. C 48,00 H 4,03% Gef. C 47,99 H 4,08%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Herrn *W. Manser* ausgeführt.

Zusammenfassung.

Das Patulin besitzt nicht die allgemein angenommene Struktur eines Oxymethylen-tetrahydrocomansäure-Lactons I, sein Skelett muss vielmehr demjenigen der Tetrahydro- γ -pyronyl-(3)-essigsäure (VIII) entsprechen, so dass die Formeln II oder (nach *Woodward*) III wahrscheinlich erscheinen.

Organisch-chemisches Laboratorium
 der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

158. Komplexe XV.

Neue Derivate der Imino-diessigsäure und ihre Erdalkalikomplexe. Beziehungen zwischen Acidität und Komplexbildung

von *G. Schwarzenbach, H. Ackermann* und *P. Ruckstuhl*.

(30. III. 49.)

Um weitem Aufschluss über die Beziehungen zwischen Komplexbildungstendenz, Acidität und Struktur zu erhalten, wurden die folgenden Derivate der Imino-diessigsäure untersucht: Methylimino-diessigsäure (I), Nitrilo-triessigsäure (II), β -Alanin-N-diessigsäure (III), Taurin-N-diessigsäure (IV), Aminomethylphosphonsäure-N-diessigsäure (V) und β -Aminoäthylphosphonsäure-N-diessigsäure (VI). In den Formeln dieses Artikels sind die Anionen dieser Säuren bezeichnet mit: Im (I), Cim α (II), Cim β (III), Sim β (IV), Pim α (V) und Pim β (VI).