

Zusammenfassung.

Es wird die Darstellung eines *d*- γ -Irons, eines *d*- α -Irons, eines *l*- α -Irons und eines *d*- β -Irons beschrieben.

Das Dihydroderivat des *d*- α -Irons gibt neben tieferschmelzenden Anteilen ein Semicarbazon vom Smp. 171—172°. Das Semicarbazon der Dihydroverbindung aus *l*- α -Iron schmilzt bei 143,5—144,5°. Das schon länger bekannte *d*- β -Iron gibt ein Dihydroprodukt, dessen Semicarbazon den Smp. 161—162° zeigt.

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

231. Welkstoffe und Antibiotica.

13. Mitteilung¹⁾.

Über die Konstitution des Patulins und der Desoxy-patulinsäure

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

(20. VI. 49.)

In einer kürzlich erschienenen Arbeit²⁾ über die Konstitution des Patulins haben wir auf die Schwierigkeit hingewiesen, zwischen den Formeln I³⁾ und II zu entscheiden, ohne dort unsere Versuche zur Abklärung dieser Frage zu beschreiben. Wir möchten diese nun, zusammen mit einer kurzen Besprechung der chemischen Eigenschaften der Desoxy-patulinsäure (III)²⁾, veröffentlichen.

Das Merkmal der Formel I von *Woodward* und *Singh*³⁾ ist die freie Oxy-Gruppe, welche als Halbacetal-Hydroxyl sehr reaktionsfähig sein sollte. Wir haben versucht, diese hypothetische Gruppe durch chemische Reaktionen zu fassen, und zwar:

1. durch milde Oxydation mit Chromsäure,
2. durch Verätherung mit methylalkoholischer Schwefelsäure.

In beiden Fällen wurde das Patulin grösstenteils unverändert zurückgehalten.

Ferner haben wir die Einwirkung von Cyanwasserstoff in alkoholischer Lösung in Anwesenheit von Tripropylamin als Katalysator nach *Lapworth* und *Manske*⁴⁾ untersucht, um festzustellen, ob nach Formel II die Keto-Gruppe oder nach Formel I die potentielle Aldehyd-Gruppe eine Reaktion eingehen würde. Es trat zwar Reaktion

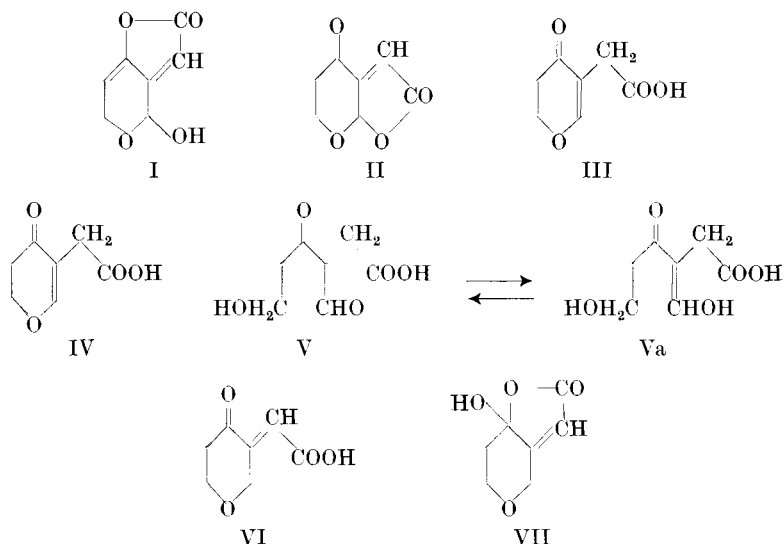
¹⁾ 12. Mitt., Helv. **32**, 1166 (1949).

²⁾ B. G. Engel, W. Brzeski und Pl. A. Plattner, Helv. **32**, 1166 (1949).

³⁾ R. B. Woodward und G. Singh, Am. Soc. **71**, 758 (1949).

⁴⁾ A. Lapworth und R. H. F. Manske, Soc. **1923**, 2533; **1930**, 1976.

ein, wie an der Farbänderung und am Sinken des p_H der Lösung ersichtlich war, es konnte aber kein Verbrauch von Cyanwasserstoff mercurimetrisch¹⁾ festgestellt werden. Bei einer Wiederholung des



Versuches in wässriger Lösung, mit Kaliumcyanid an Stelle von Cyanwasserstoff und Tripropylamin, wurde die Reaktion elektrometrisch verfolgt (siehe Fig. 1). Die vorhin nur qualitativ beobachtete p_H -Abnahme wurde bestätigt, aber ein Verbrauch von CN^- -Ion konnte auch in diesem Falle mercurimetrisch¹⁾ nicht nachgewiesen werden. Das Sinken des p_H dürfte demnach lediglich auf die Verseifung des Patulins durch das stark alkalisch reagierende Kaliumcyanid zurückzuführen sein.

Auf eine weitere Untersuchung des Patulins auf analytischem Wege wurde verzichtet.

Wir möchten noch einige chemische Eigenschaften der Desoxy-patulinsäure nachführen, die in unserer ersten Mitteilung über das Patulin²⁾ ebenfalls nicht erwähnt wurden.

Die Desoxy-patulinsäure (III; Smp. 110—111,5⁰) lässt sich mit 0,1-n. Natronlauge unter Verbrauch eines Äquivalents Alkali titrieren. Sie ist aber gegen überschüssiges Alkali unbeständig und wird bei Zimmertemperatur in etwa 10 Minuten von überschüssiger 0,1-n. Natronlauge hydrolysiert. Der Verbrauch an Natronlauge beträgt in diesem Falle 2 Äquivalente³⁾. Die angesäuerte Lösung zeigt die gleiche

¹⁾ Vgl. *I. M. Kolthoff und V. A. Stenger*, Volumetric Analysis, 2. Aufl., New York 1947, Vol. 2, 339.

²⁾ *B. G. Engel, W. Brzeski und Pl. A. Plattner*, l. c.

³⁾ Die isomeren synthetischen Säuren VI und VII von *R. B. Woodward und G. Singh*, l. c., verbrauchen nur 1 Äquivalent Alkali bei ähnlicher Behandlung (*R. B. Woodward*, private Mitteilung).

Eisen(III)-chlorid-Reaktion wie sie beim Patulin nach ähnlicher Behandlung beobachtet wurde¹⁾. Die Desoxy-patulinsäure kann aus dieser Hydrolysenlösung nicht regeneriert werden. Nach längerem Stehen erhält man vielmehr in schlechter Ausbeute eine neue Säure

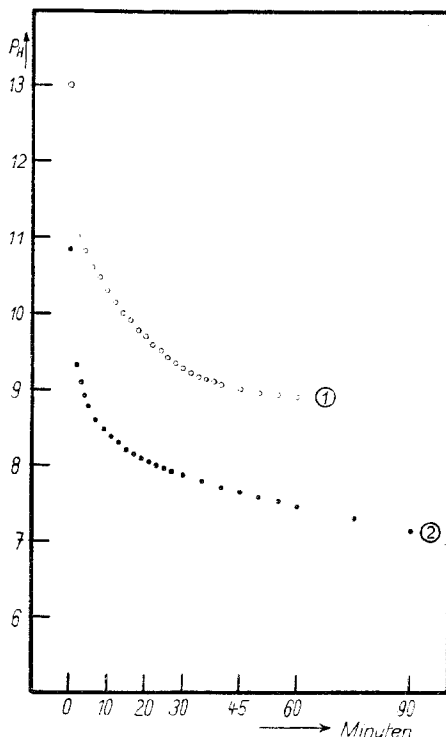


Fig. 1.

Kurve 1: 0,5 mMol Patulin in 1 cm³ „Methylcellosolve“ + 5 cm³ Wasser + 0,5 mMol KOH in 5 cm³ Wasser; Temperatur 20⁰; Messkette: Glaselektrode | Lösung | gesättigte Kalomelektrode.

Kurve 2: 0,5 mMol Patulin in 1 cm³ „Methylcellosolve“ + 5 cm³ Wasser + 0,5 mMol KCN in 5 cm³ Wasser; Temperatur 20⁰; Messkette wie Kurve 1.

vom Smp. 165—167⁰. Die gleiche Säure kann in etwas besserer Ausbeute durch zweistündiges Erhitzen der Desoxy-patulinsäure auf 100⁰ in 2-n. Salzsäure erhalten werden. Auf Grund der Analysenwerte und der Äquivalentgewichts-Bestimmung, welche beide auf die Bruttoformel C₇H₆O₄ gut stimmen, sowie des UV.-Spektrums (λ_{\max} : 250 m μ , $\log \epsilon = 3,95$)²⁾ vermuten wir, dass es sich bei dieser neuen Säure um die in der Literatur nicht beschriebene γ -Pyronyl-(3)-essigsäure (IV) handelt.

¹⁾ H. Raistrick, J. H. Birkinshaw, S. E. Michael und A. Bracken, *Lancet* **245**, 625 (1943).

²⁾ Vgl. die UV.-Spektren des γ -Pyrons (λ_{\max} : 245 m μ , $\log \epsilon = 4,12$) und des 2,6-Dimethyl- γ -pyrons (λ_{\max} : 247 m μ , $\log \epsilon = 4,12$); R. C. Gibbs, J. R. Johnson und E. C. Hughes, *Am. Soc.* **52**, 4895 (1930).

Die Desoxy-patulinsäure wird ferner durch sechsständiges Kochen in 2-n. Schwefelsäure hydrolysiert: sie liefert dann ca. 1 Mol. Ameisensäure, aber kein Kohlendioxyd. Ungefähr 1 Mol. Ameisensäure entsteht ebenfalls bei der kalten alkalischen Hydrolyse, gefolgt von Kochen in 2-n. Schwefelsäure.

Diese Resultate lassen sich mit der Formel III ohne weiteres erklären und sind offenbar auf die Aufspaltung des Dihydropyron-Ringes, unter Bildung des β -Keto-Aldehyds V bzw. Va, zurückzuführen.

Da die hier angeführten Resultate keine Entscheidung zwischen den zwei Formulierungen I und II ermöglichen, haben wir sie in unserer ersten Mitteilung über das Patulin nicht erwähnt.

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.

Experimenteller Teil¹⁾.

Oxydation von Patulin mit Chromsäure²⁾.

460 mg Patulin (ca. 3 mMol) wurden in 3 cm³ Wasser gelöst und mit 2,5 cm³ einer 2,46-n. Chromsäure-Lösung in Eisessig (3,08 mAtom Sauerstoff) versetzt. Nach 24 Stunden wurde die überschüssige Chromsäure durch Zugabe von 2 cm³ Methanol zerstört und ca. 15 cm³ Wasser hinzugegeben. Das Gemisch wurde mit Essigester extrahiert, der Extrakt mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (280 mg) war krystallin und schmolz bei 107–108°. Das Produkt zeigte keine Depression in der Mischprobe mit Patulin (Smp. 109–110,5°). Es wurden also 61% des Ausgangsmaterials zurückgewonnen.

In einem ganz analog, aber ohne Zugabe von Chromsäure, durchgeführten Blindversuch liessen sich 87% des umgesetzten Patulins zurückgewinnen.

Umsetzung von Patulin mit methylalkoholischer Schwefelsäure.

310 mg Patulin (ca. 2 mMol) wurden in 10 cm³ Methanol gelöst und mit 2 Tropfen konz. Schwefelsäure versetzt. Nach 24 Stunden wurde die Lösung mit wasserfreiem Kaliumhydrogencarbonat versetzt, nach einigem Umschwenken abdekantiert und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in Essigester gelöst und mit Natriumhydrogencarbonat und Wasser neutral gewaschen. Nach dem Trocknen und Eindampfen erhielt man 270 mg Krystalle (87% des eingesetzten Patulins), welche zwischen 104 und 107° schmolzen und in der Mischprobe mit Patulin keine Depression zeigten.

Einwirkung von Cyanwasserstoff und Kaliumcyanid auf Patulin.

Ca. 1 mMol Patulin wurde in 10 cm³ Alkohol gelöst, mit einer ca. 0,4-m. alkoholischen Lösung von Cyanwasserstoff versetzt (Menge siehe Tabelle) und, nach Zugabe von 2 Tropfen Tripropylamin als Katalysator, mit Alkohol auf 50 cm³ gebracht³⁾. Die Lösungen färbten sich jeweils sofort goldgelb. Eine Kontrolle mit Universal-Indikatorpapier zeigte, dass das p_H von etwa 8 auf etwa 6 gefallen war. Neben jeder Bestimmung wurde ein Kontrollversuch mit Lävulinsäure-äthylester und ein Blindversuch mit der gleichen Menge Cyanwasserstoff, Alkohol und Tripropylamin ausgeführt. Nach bestimmten Zeitabständen wurden je 10 cm³ den Kolben entnommen und der freie Cyanwasserstoff mercurimetrisch⁴⁾ bestimmt.

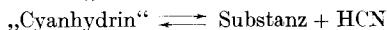
¹⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

²⁾ Mitbearbeitet von Frl. I. V. Hotop.

³⁾ Vgl. A. Lapworth und R. H. F. Manske, Soc. **1928**, 2533; **1930**, 1976.

⁴⁾ Vgl. I. M. Kolthoff und V. A. Stenger, Volumetric Analysis, 2. Aufl., New York 1947, Vol. 2, 339.

Die Gleichgewichtskonstante „K“ der Reaktion:



wurde auf Grund folgender Gleichung berechnet:

$$K = \frac{[\text{Subst.}] \cdot [\text{HCN}]}{[\text{„Cyanhydrin“}]} = \frac{c \cdot [b - (a - c)]}{a - c} \cdot 20 \cdot 10^{-3}$$

in welcher:

- a = mMol HCN vor der Reaktion = Blindversuch-Titration
 b = mMol Substanz vor der Reaktion = Einwaage
 c = mMol HCN nach der Reaktion = Substanzversuch-Titration
 a-c = mMol „Cyanhydrin“
 b-(a-c) = mMol Substanz nach der Reaktion sind.

Tabelle.

Substanz	Subst.-Menge			ca. 0,4-n. HCN- Lsg. cm ³	Rkt.- Zeit Std.	Verbrauch an Hg(NO ₃) ₂ mÄquiv. = mMol HCN			K · 10 ³
	mg	mMol = b	Mola- rität			Blind- ver- such = a	Mola- rität von HCN	Subst.- ver- such = c	
Patulin	150	0,97	0,019	20	24	7,78	0,155	7,78	∞
id.	150	0,97	0,019	20	48	7,76	0,155	7,72	~360
Patulin	150	0,97	0,019	4	24	1,5	0,03	1,5	∞
id.	150	0,97	0,019	4	48	1,5	0,03	1,5	∞
Lävulinester	150	1,04	0,021	20	24	7,78	0,155	7,07	6,5
id.	150	1,04	0,021	20	48	7,76	0,155	7,00	5,2
Lävulinester	150	1,04	0,021	4	24	1,5	0,03	1,2	5,9
id.	150	1,04	0,021	4	48	1,5	0,03	1,2	5,9

In einem anderen Versuch wurden 77,1 mg Patulin (ca. 0,5 mMol) in 1 cm³ „Methylcellosolve“ gelöst und mit 5 cm³ Wasser und 5 cm³ einer ca. 0,1-n. wässrigen Lösung von Kaliumcyanid versetzt. Die Lösung färbte sich sofort gelb und wurde langsam dunkler. Sie zeigte nach dem Ansäuern eine starke weinrote Eisen(III)-chlorid-Reaktion. (Die p_H-Änderung wurde in einem identischen Versuch elektrometrisch verfolgt, vgl. Fig. 1.) Nach 90 Minuten wurde der Cyanwasserstoff-Gehalt mercurimetrisch bestimmt.

0,1-n. Hg(NO₃)₂-Verbrauch cm³

Blindversuch 4,83 Patulin-Versuch 4,21¹⁾

Etwa 87% des Cyanids waren also noch als Ion in der Lösung titrierbar.

Verhalten der Desoxy-patulinsäure gegen Alkalien. Alkalische Hydrolyse der Desoxy-patulinsäure.

a) Die Desoxy-patulinsäure liess sich aus ihren Lösungen in Natriumhydrogencarbonat, Natriumcarbonat und genau 1 Äquivalent 0,1-n. Natronlauge unzersetzt zurückgewinnen.

b) 33,6 mg Desoxy-patulinsäure (0,215 mMol) in 3 cm³ Wasser wurden mit 5,4 cm³ 0,1-n. Natronlauge versetzt. Nach 24 Stunden wurde mit 0,1-n. Salzsäure zurücktitriert. Der Verbrauch an Natronlauge betrug 2,1 Äquivalente.

c) γ-Pyronyl-(3)-essigsäure (IV): 68,0 mg Desoxy-patulinsäure (0,435 mMol) wurden zuerst mit 0,1-n. Natronlauge neutralisiert (NaOH-Verbrauch: 1,01 Äquivalent).

¹⁾ Die dunkle, braungelbe Eigenfarbe der Lösung erschwerte die Bestimmung des Endpunktes und machte sie sehr ungenau.

Die Lösung wurde dann mit 0,1-n. Natronlauge weiter allmählich versetzt, bis die rote Färbung des Phenolphthaleins nicht mehr verschwand. Im Laufe von 24 Stunden wurden 8,0 cm³ 0,1-n. Natronlauge (1,83 Äquivalent) verbraucht. Es wurde dann mit 2-n. Salzsäure angesäuert und die Lösung mit Essigester extrahiert. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels im Vakuum erhielt man 37 mg öligen Rückstand. Das Produkt sublimierte zum Teil im Hochvakuum bei 90° und lieferte dabei etwas Öl und einige Krystalle. Der Rückstand verharzte. Das krystalline Sublimat schmolz bei 165–168°, war also mit der Desoxy-patulinsäure nicht identisch. Bei der Mischprobe mit der durch saure Hydrolyse erhaltenen γ -Pyronyl-(3)-essigsäure (IV; siehe unten) wurde keine Depression beobachtet.

Verhalten der Desoxy-patulinsäure gegen Säuren. Saure Hydrolyse der Desoxy-patulinsäure.

a) Die Desoxy-patulinsäure wurde durch zweistündige Behandlung mit 2-n. Schwefelsäure bei 90–95° nicht hydrolysiert und liess sich aus der gekühlten Lösung unverändert zurückgewinnen.

b) γ -Pyronyl-(3)-essigsäure (IV): 100 mg Desoxy-patulinsäure wurden in 5 cm³ 2-n. Salzsäure gelöst und 3 Stunden in einem offenen Kolben auf dem Wasserbade erhitzt. Die Lösung wurde dann im Vakuum auf die Hälfte eingengt und mit Essigester extrahiert. Es wurden 65 mg Öl erhalten, das in wenig Methanol gelöst, mit Chloroform versetzt und eingengt wurde. Es krystallisierten 15 mg Substanz, die nach nochmaligem Umlösen aus Chloroform und Sublimieren im Hochvakuum bei 110° einen Smp. von 165–167° zeigten. Das krystalline Produkt reagierte sauer auf Lackmus und gab nach alkalischer Hydrolyse eine weinrote Färbung mit Eisen(III)-chlorid. Der Mischschmelzpunkt mit dem aus der alkalischen Hydrolyse von Desoxy-patulinsäure erhaltenen Produkt (Smp. 165–167°, siehe oben) ergab keine Depression. Das Analysenpräparat wurde im Hochvakuum bei 110° sublimiert.

3,730 mg Subst. gaben 7,443 mg CO₂ und 1,367 mg H₂O
 C₇H₆O₄ Ber. C 54,55 H 3,92% Gef. C 54,46 H 4,10%
 UV.-Spektrum: λ_{max} : 250 m μ , log ϵ = 3,95¹⁾.

Elektrometrische Mikrotitration²⁾: 0,454 mg Substanz in 0,8 cm³ Wasser verbrauchten 29,0 mm³ 0,1-n. Tetramethylammoniumhydroxyd.

C₇H₆O₄ Äquivalentgewicht: Ber. 154,1 Gef. 157,0

$$P_K \text{ H}_2\text{O}^{20} = 4,4.$$

Es liegt die γ -Pyronyl-(3)-essigsäure (IV) vor.

c) Ameisensäure: 149,3 mg Desoxy-patulinsäure (0,97 mMol) wurden in 5 cm³ 1,98-n. Schwefelsäure gelöst und während 6 Stunden in CO₂-freiem Luftstrom am Rückfluss gekocht. Am Ende des Rückflusskühlers war ein *Peligo*t-Rohr mit 20 cm³ 0,075-n. Barytlauge angebracht. Der Verbrauch an 0,1-n. Bariumhydroxyd betrug ca. 0,1 cm³. Dies entspricht der Bildung von ca. 0,01 mMol Kohlendioxyd pro mMol Desoxy-patulinsäure. Die Hydrolysenlösung, die eine positive Eisen(III)-chlorid-Reaktion zeigte, wurde dann mit 1-n. Natronlauge neutralisiert. Der Verbrauch an Natronlauge betrug 11,5 mMol. Es waren also ca. 0,6 mMol Säuren während der Hydrolyse freigesetzt worden. Die neutralisierende Lösung wurde mit 20 cm³ 0,1-n. Schwefelsäure wieder angesäuert und im Vakuum bei max. 70° eingedampft. Dabei gingen 0,58 mMol leichtflüchtige Säuren über. Bei der mercurimetrischen Ameisensäure-Bestimmung³⁾ im Destillat wurden 0,48 mMol

¹⁾ Das UV.-Spektrum wurde in Alkohol mit einem *Beckman*-Quarz-Spektrophotometer aufgenommen.

²⁾ Vgl. *W. Ingold*, *Helv.* **29**, 1929 (1946). Die elektrometrische Mikrotitration verdanken wir Herrn *W. Frick*.

³⁾ *R. G. C. Oldeman*, *Pharm. Weekblad* **68**, 379 (1931), zitiert nach *I. M. Kolthoff* und *V. A. Stenger*, *Volumetric Analysis*, 2. Aufl., New York 1947, Vol. 2, 228.

Natronlauge verbraucht. Dies entspricht der Bildung von 0,495 mMol Ameisensäure pro mMol Desoxy-patulinsäure unter diesen Hydrolysenbedingungen¹⁾.

Behandlung der Desoxy-patulinsäure mit Alkali und Säure.

0,93 bzw. 0,97 mMol Desoxy-patulinsäure wurden in 25 cm³ 0,1-n. Natronlauge kalt gelöst und nach 15 Minuten mit so viel Schwefelsäure versetzt, dass die Lösung ungefähr 2-n. an Schwefelsäure wurde. Die angesäuerte Lösung wurde dann im Stickstoffstrom am Rückfluss 2 Stunden gekocht. Am Ende des Rückflusskühlers war ein *Peligot*-Rohr mit 20 m³ 0,075-n. Bariumhydroxyd angebracht, um das evtl. bei der Hydrolyse frei werdende Kohlendioxyd zu binden. Es entstand in beiden Versuchen kein Kohlendioxyd. Die saure Hydrolysenlösung wurde im Vakuum bei 70—75° unter Zufuhr von CO₂-freier Luft eingedampft. Durch Rücktitration der vorgelegten 0,1-n. Natronlauge wurden die gesamten leichtflüchtigen Säuren bestimmt. Der Verbrauch an Natronlauge entsprach 0,74 bzw. 0,63 mMol. Säuren pro mMol Desoxy-patulinsäure.

Mit dem neutralisierten Destillat wurde eine quantitative Ameisensäure-Bestimmung nach *R. G. C. Oldeman*²⁾ durchgeführt. Der Verbrauch an Natronlauge entsprach der Bildung von 0,655 bzw. 0,54 mMol Ameisensäure pro mMol Desoxy-patulinsäure¹⁾.

Die Mikroanalyse wurde in unserer mikroanalytischen Abteilung von *Hrn. W. Manser* ausgeführt.

Zusammenfassung.

1. Es wurde die Reaktion von Patulin mit Chromsäure, mit methylalkoholischer Schwefelsäure und mit Cyanwasserstoff bzw. mit Kaliumcyanid untersucht.

2. Das Verhalten der Desoxy-patulinsäure (III) gegen Alkalien und gegen Säuren wird beschrieben.

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

232. Über Steroide.

88. Mitteilung³⁾.

Abbau der Oxy-bisnor-cholensäure I

von *Ch. Meystre* und *K. Miescher*.

(20. VI. 49.)

Im Laufe unserer Untersuchungen „Über Abbauprodukte der Sterinoxydation“ wurde kürzlich die Isolierung der Δ^5 - 3β -Oxy-bisnor-cholensäure (I) aus dem komplexen Gemisch der aus Cholesterin-acetat-dibromid mit Chromtrioxyd gebildeten Säuren beschrieben⁴⁾. Die Bisnorsäure entsteht bekanntlich auch bei der Seiten-

¹⁾ Bei Blindversuchen, die zur Kontrolle der Apparatur und der Methode ausgeführt wurden, fanden wir im Durchschnitt 89% \pm 2% der angesetzten Ameisensäure im Destillat.

²⁾ L. c.

³⁾ 87. Mitt. siehe *J. Heer* und *K. Miescher*, *Helv.* **32**, 1572 (1949).

⁴⁾ *P. Wieland* und *K. Miescher*, *Helv.* **31**, 211 (1948).