

E. Graf und K.-C. Liu

Versuche zur Synthese der Agaricinsäure

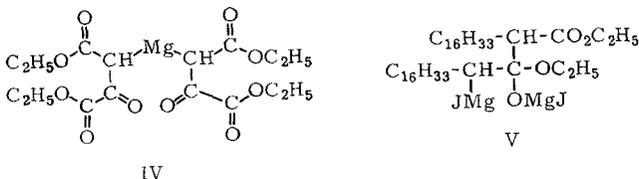
2. Mitt.: Über die Anlagerung von α -Bromstearinsäureäthylester an Oxalessigsäurediäthylester¹⁾

Aus dem Pharmazeutisch-chemischen Institut der Universität Tübingen

(Eingegangen am 16. September 1966)

Wegen sterischer Hinderung kann sich der α -Bromstearinsäureäthylester (I) nicht an den stark enolisierten Oxalessigsäurediäthylester (II) anlagern. Der Reaktionsmechanismus wird auf Grund der Entstehung von Zink-oxalessigsäurediäthylester-bromid (III) als Zwischenprodukt geklärt.

Neben den laufenden Versuchen zur Synthese der Agaricinsäure aus Cetyl-aceton-dicarbonsäure-diäthylester unter Verwendung der Passerini-²⁾ bzw. Faworski-Reaktion³⁾ studierten wir die Umsetzung von α -Bromstearinsäureäthylester (I) mit Oxalessigsäurediäthylester (II) durch Reformatzky-Reaktion. Ähnlich hatten zwar Fröschl und Harlass⁴⁾ schon gearbeitet: Sie versuchten, den α -Brom- bzw. α -Jodstearinsäureäthylester durch Grignard-Reaktion an Oxalessigsäurediäthylester anzulagern, fanden aber, daß im ersteren Fall 2 Moleküle II mit einem Atom Magnesium zur Verbindung IV kondensierten, beim zweiten Fall lagerten sich 2 Moleküle Stearinester-magnesiumjodid zusammen zu Verbindung V.



Nach Säurehydrolyse ergab V einen farblosen Körper, der bei 28—29° schmolz. Fröschl und Harlass bezeichneten diese Substanz als α -Stearoylstearinsäureäthylester. Dieser müßte aber nach Spielman und Schmidt⁵⁾ bei 48—49° schmelzen. Die Entstehung von IV ist bei Anwesenheit von Bromstearinester kaum möglich.

Auf jeden Fall ist erkennbar, daß die Grignard-Reagenzien infolge ihrer höheren Reaktionsfähigkeit die Carbonylgruppe des Esters anzugreifen geneigt sind und die Reaktion in falsche Richtung lenken. Diese Nebenreaktion wäre weitgehend zu

¹⁾ 1. Mitt. E. Graf und K.-C. Liu, Arch. Pharmaz. 300, 53 (1967).

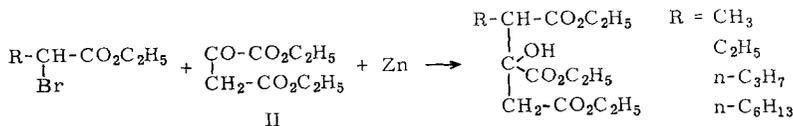
²⁾ M. Passerini und G. Banti, Att. III Congr. naz. Chim. pura appl. VIII. 343 (1929); C. 102, 1433 (1931).

³⁾ A. M. Gakhokidze und A. P. Guntsadze, J. allg. Chem. (russ.) 17, 1642 (1947); C. A. 42, 2580 (1948).

⁴⁾ F. Fröschl und J. Harlass, Mh. Chem. 59, 294 (1932).

⁵⁾ M. A. Spielman und M. T. Schmidt, J. Amer. chem. Soc. 59, 2009 (1937).

umgehen durch Einsatz der Reformatzky-Reaktion mit Zink an Stelle der Grignardierung. Als erster hatte *Lawrence*⁶⁾ den Citronensäureester, wenn auch nur mit 6proz. Ausbeute, durch Reformatzky-Reaktion synthetisiert. Dementsprechend stellten *Desai*⁷⁾ und später auch *Halbicht* und *Schneeberger*⁸⁾ aus α -Bromfettsäureestern und Oxalessigester einige niedere homologe α -Alkylcitronensäureester dar, ebenfalls mit Ausbeuten meistens unter 10%.



Überdies gelang es auch, α -Fluorcitronenester⁹⁾ dieserart zu synthetisieren.

Bei unseren Versuchen haben wir I und II mit Zinkstaub zur Reaktion gebracht. Als Lösungsmittel wurde abs. Toluol anstatt Benzol verwendet. Das Zink wurde nicht vorbehandelt, trat aber trotzdem leicht in die Reaktion ein. Das Gemisch wurde 16 Std. bei einer Badtemperatur von 130–135° erhitzt; nach Verdünnen mit Äther und Stehenlassen im Kühlschrank bei 4° schied sich ein Zwischenprodukt aus: Diese zinkhaltige organische Verbindung war hellbraun, kristallin, unsmelzbar und unlöslich in Kohlenwasserstoffen.

Durch IR- und UV-Spektren, Elementaranalyse und komplexometrische Bestimmung wurde sie als Zink-oxalessigsäure-diäthylester-bromid erkannt. Der nicht ausgefallene Teil wurde nach der üblichen Methode behandelt; nach Hydrolyse mit Säure und Ausziehen mit Äther wurde nur Stearinsäureäthylester (VI) als Endprodukt isoliert.

Die Entstehung dieser unerwünschten Substanzen scheint darauf hinzuweisen, daß zwar die Umsetzung von Zink mit I zur Organozinkverbindung ohne Schwierigkeit verläuft, die weitere anionide Addition dieser an die Carbonylgruppe von II jedoch durch einige Faktoren gehindert wird. Diese Faktoren sind wohl die sterische Hinderung durch die lange Cetylkette von I und die hohe Enolisierungsfähigkeit der Carbonylgruppe von II. Bei der normalen Reformatzky-Reaktion soll sich analog der Grignard-Reaktion^{10–13)} vor Eintritt der eigentlichen Reaktion unter Beteiligung von 2 Molekülen Organozinkverbindung und 1 Molekül Carbonylverbindung intermediär ein cyclischer Komplex bilden. Durch die Komplexbildung werden der heteropolare Charakter der Organozinkverbindung und die Polarisierung der Carbonylgruppe verstärkt. Erst dann kann sich das nucleophile Car-

⁶⁾ M. T. Lawrence, J. chem. Soc. (London) 71, 457 (1897).

⁷⁾ R. D. Desai, J. chem. Soc. (London) 1932, 1091.

⁸⁾ E. Halbicht und P. Schneeberger, Helv. chim. Acta 39, 1316 (1956).

⁹⁾ D. E. A. Rivett, J. chem. Soc. (London) 1953, 3710.

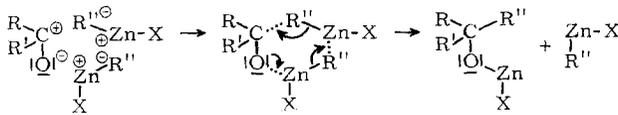
¹⁰⁾ M. S. Kharasch und S. Weinhouse, J. org. Chemistry 1, 209 (1936).

¹¹⁾ C. G. Swain, J. Amer. chem. Soc. 69, 2306 (1947).

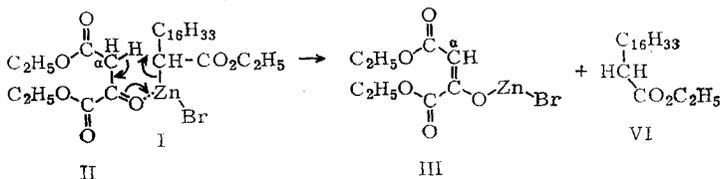
¹²⁾ C. G. Swain und H. B. Boyles, J. Amer. chem. Soc. 73, 870 (1951).

¹³⁾ V. Franzen und H. Krauch, Chem.-Ztg. 79, 137 (1955).

beniatanion der Organozinkverbindung an das elektrophile Kohlenstoffatom der Carbonylgruppe anlagern.



Das Stearinester-zinkbromid nimmt aber aus räumlichen Gründen wegen der langen Cetylkette nur ein Proton vom α -Kohlenstoff der Carbonylgruppe von II weg und geht in Stearinsäureäthylester über. Das hinterlassene Elektronenpaar am α -Kohlenstoff von II bildet zugleich eine C=C-Bindung. Es entsteht deshalb Verbindung III in der Enolform. Übrigens zeigen zahlreiche Untersuchungsergebnisse¹⁴⁻¹⁸) zum Keto-Enol-Gleichgewicht, daß der reine Oxalessigester durchschnittlich zu mehr als 80% in der Enolform vorliegt. Dieses Verhalten von II erklärt auch, weshalb die Ausbeuten an α -Alkylcitronensäureestern von *Desai*⁷), *Halbicht* und *Schneeberger*⁸) so gering waren. Der Mechanismus der Nebenreaktion läßt sich mit folgendem Schema erklären:



Über die Enolisierung von einfachen Ketonen bei der Reformatzky-Reaktion hatte auch *Newman*¹⁹) berichtet. Da das Stearinesterzinkbromid am β -ständigen Kohlenstoff 2 Wasserstoffatome besitzt, kann die bei Grignard-Reaktion häufig verlaufende Reduktion²⁰⁻²²) hier auch eintreten, obwohl wir α,β -Dehydrostearinsäureester im Endprodukt durch DC auf mit Silbernitratlösung behandelten Platten²³)²⁴) nicht fanden. Aber die von *Fröschl* und *Harlass*⁴) beschriebene Hybridkondensation und Selbstaddition sind in diesem Fall vermieden worden. Die Untersuchungsergebnisse weisen darauf hin, daß bei neuen Versuchen zur Synthese der Agaricinsäure durch Reformatzky-Reaktion ein solches Ausgangsmaterial gewählt

¹⁴) K. M. Meyer, Ber. dtsch. chem. Ges. 45, 2860 (1912).

¹⁵) J. Scheiber und P. Herold, Liebigs Ann. Chem. 405, 316 (1914).

¹⁶) A. Hantzsch, Ber. dtsch. chem. Ges. 48, 1411 (1915).

¹⁷) W. Dieckmann, Ber. dtsch. chem. Ges. 54, 2254 (1921).

¹⁸) I. Blank, J. Mager und E. D. Bergman, J. chem. Soc. (London) 1955, 2190.

¹⁹) M. S. Newman, J. Amer. chem. Soc. 62, 870 (1940); 64, 2131 (1942).

²⁰) J. B. Conant und A. H. Blatt, J. Amer. chem. Soc. 51, 1229 (1929).

²¹) A. H. Blatt und J. F. Stone jr., J. Amer. chem. Soc. 54, 1495 (1932).

²²) F. Bergman und A. Kalmus, J. Amer. chem. Soc. 76, 4127 (1954).

²³) A. T. James, Analyst 88, 572 (1963).

²⁴) H. Wagner, J. D. Goetschel und P. Lesch, Helv. chim. Acta 46, 2986 (1963).

werden muß, bei dem sich die Cetylkette und die Carbonylgruppe im selben Molekül befinden.

Von der neuen Verbindung III gaben die Elementaranalyse sowie die komplexometrische Bestimmung von Zink zwar zu hohe Zinkwerte, bedingt wohl durch anorganisches Zinksalz oder metallisches Zink. Da III in unpolaren Lösungsmitteln unlöslich und in polaren Lösungsmitteln nicht stabil ist, können diese Verunreinigungen nicht durch Umkristallisieren entfernt werden. Aber die Struktur von III geht aus der C, H-Analyse und den Spektren klar hervor. Das Absorptionsspektrum des Eisen(III)-chlorid-Komplexes von III (Tab. I) zeigt, daß das Maximum dem des Oxalesigsäure-diäthylesters²⁵⁾ (λ_{\max} 470 nm) naheliegt und das Minimum das des α -Methyl-oxalesigsäurediäthylesters²⁵⁾ (λ_{\min} 435—440 nm) überlagert.

Tabelle I

Absorptionsspektrum des Eisen(III)-chlorid-Komplexes von III

Lösungsmittel	Konz. [g/l]	λ_{\min} [nm]	E	λ_{\max} [nm]	E	λ_{\min} [nm]	E
Methanol	0,286	439	0,81	471	0,84	678	0,10

K.-C. Liu dankt dem Dr. Sun Yat-sen Scholarship Committee, Taipeh, dem Akademischen Auslandsamt der Universität Tübingen und der Firma C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim/Rh., verbindlich für gewährte Stipendien. Dem Fonds der Chemischen Industrie, Düsseldorf, danken wir für eine Forschungsbeihilfe.

Beschreibung der Versuche

Schmp. wurden mit dem Leitz-Heizmikroskop bestimmt und nicht korrigiert. Mol.-Gew.-Bestimmungen erfolgten mit einem Dampfdruckosmometer nach Knauer. Die Elementaranalysen wurden im Mikroanalytischen Laboratorium Ilse Beetz, Kronach/Ofr., ausgeführt.

1. Darstellung von Ausgangsmaterialien

α -Bromstearinsäureäthylester (I)

Der α -Bromstearinester wurde aus 36,3 g DL- α -Bromstearinsäure (Schmp. 49—50°) durch Veresterung nach ²⁶⁾ dargestellt. Schmp. 30,5—31°, Sdp.₁ 190°, n_D^{40} 1,4515, UV $\lambda_{\max}^{\text{Hexan}}$ 221 nm, log ϵ 2,57. Ausbeute: 28,2 g (77,2% d. Th.).

Oxalsäure-diäthylester

Der Oxalester wurde aus 168 g Oxalsäure (Dihydrat) durch Veresterung mit Trapping-Phase nach ²⁷⁾ dargestellt. Sdp.₁₂ 80°. Ausbeute: 137 g (70% d. Th.).

Oxalesigsäure-diäthylester (II)²⁸⁾ ²⁹⁾

In einem mit Rückflußkühler und mechanischem Rührer versehenen und mit Calciumchlorid-Rohr verschlossenen Dreihalskolben wurden 86 g Oxalester mit 350 ml über Natriumdraht getrocknetem Äther verdünnt. Dann wurden 15,6 g frisch geschnittenes

²⁵⁾ H. Henecka, Chem. Ber. 81, 179 (1948).

²⁶⁾ C. Hell und J. Sadomsky, Ber. deutsch. chem. Ges. 24, 2391 (1891).

²⁷⁾ J. Klostergaard, J. org. Chemistry 23, 108 (1958).

²⁸⁾ W. Wislicenus, Liebigs Ann. Chem. 246, 315 (1888).

²⁹⁾ B. Riegel, C. J. Albisett, G. R. Lappin und H. Baker, J. Amer. chem. Soc. 68, 2685 (1946).

Natrium in kleinen Stücken hineingegeben. Zu diesem Gemisch wurden 62,8 g mit Natriumcarbonat geschüttelter und über Natriumsulfat getrockneter Essigester unter Umrühren und Erwärmen hinzugetropt. Nachdem alles Natrium in Lösung ging, erstarrte das Gemisch zu einem braunen Kristallbrei. Der Äther wurde abdestilliert, der Rückstand mit Benzol gewaschen, durch Evakuieren vom Benzol befreit und fein gepulvert. Das Pulver wurde in Wasser gelöst, 2mal mit Äther geschüttelt; die wäßrige Lösung wurde nach Zusatz von 500 ml Benzol unter Eiskühlung mit 320 ml 10proz. Schwefelsäure angesäuert. Die organische Phase wurde getrennt und mit 10proz. Natriumcarbonatlösung gewaschen.

Nach dem Trocknen über Natriumsulfat und Befreien vom Benzol wurde das Produkt i. Vak. destilliert. Sdp.₁₀ 121—122°; (Lit.: Sdp.₂₄ 131—132°²⁸), Sdp.₁ 85—87°²⁹); Ausbeute: 12 g (12,3% d. Th.).

2. Versuche über die Anlagerung von α -Bromstearinester (I) an Oxallessigester (II)

Reformatzky-Reaktion

In einem mit Rührer und Rückflußkühler versehenen Dreihalskolben wurde 1,5 g Zinkstaub in 15 ml über Natriumdraht getrocknetem Toluol suspendiert und unter Umrühren und Erwärmen mit einer Lösung von 8 g I und 3,9 g II in 15 ml über Natriumdraht getrocknetem Toluol tropfenweise versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 16 Std. unter Rückfluß und Rühren auf dem Ölbad bei 130—135° gekocht. Dann wurde das dunkelbraune Reaktionsprodukt nach Stehen über Nacht mit 50 ml Äther verdünnt und vom unveränderten Zink durch Filtrieren getrennt. Der unveränderte Zinkstaub wog nach Waschen mit Äther und danach mit Wasser und nach Trocknen bei 120° nur 0,27 g. Das Reaktionsprodukt gab mit methanol. Eisen(III)-chloridlösung nach²⁵) noch eine dunkelblutrote Farbreaktion.

Zink-oxallessigsäure-diäthylester-bromid (III)

Das Reaktionsprodukt wurde im Kühlschrank bei 4° stehengelassen, wobei sich eine Menge hellbrauner Kristalle ausschied. Diese wurden durch Filtrieren abgetrennt und mit Benzol und Ligroin (50—70°) gewaschen. Nach dem Abdampfen der Nachwaschflüssigkeit gab der Rückstand mit methanol. Eisen(III)-chloridlösung keine Farbreaktion mehr. Die hellbraunen Kristalle schmolzen bis 340° noch nicht und hinterließen nach Verbrennung im Tiegel weiße Asche, die sich in verd. Salzsäure löste. Die Zink-Verbindung war nur in Methanol und Äthanol gut, in Wasser unter Trübung löslich, in Benzol und Ligroin (50—70°) unlöslich. Ausbeute: 2,3 g (37% d. Th.).

UV $\lambda_{\min}^{\text{Methanol}}$ 232 nm, $\log \epsilon$ 3,14, UV $\lambda_{\max}^{\text{Methanol}}$ 291 nm, $\log \epsilon$ 4,08. Absorptionsspektrum des Eisen(III)-chlorid-Komplexes s. Tab. 1. IR-Spektrum: Hauptbanden bei 790, 1030, 1240, 1600 (breit), 1700, 2900 (schwach) und 3440 (breit) cm^{-1} (KBr, Beckman IR-4).

$\text{C}_8\text{H}_{11}\text{BrO}_5\text{Zn}$ (332,4)	Ber.: C 28,91	H 3,34	Zn 19,67
	Gef.: C 28,62	H 3,46	Zn 22,22

Der Zinkgehalt wurde ferner komplexometrisch³⁰⁾ mit 0,1 m Titriplex III-Lösung (Merck) und Indikator-Puffertabletten bestimmt: 22,04% Zn. Die Zn-Verbindung ergab beim Ansäuern mit 12,5proz. Weinsäure mit geringer Ausbeute wieder den Oxallessigsäure-diäthylester zurück.

³⁰⁾ Komplexometrische Bestimmungsmethoden mit Titriplex, 3. Aufl. S. 53, E. Merck AG, Darmstadt 1966.

Stearinsäure-äthylester (VI)

Das restliche Reaktionsprodukt wurde nach dem Abtrennen von III mit 30 ml 12,5proz. Weinsäure unter Eiskühlung und Umrühren angesäuert. Nach stundenlangem Rühren wurde die eine weiße Ausscheidung (Zinksalz) enthaltende wäßrige Phase abgetrennt. Die organische Phase wurde 2mal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung, 3mal mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Die Lösungsmittel wurden dann i. Vak. abdestilliert, und das Produkt hinterblieb als eine braune Flüssigkeit, die bei Raumtemperatur erstarrte. Das Rohprodukt wurde einmal aus Ligroin (50–70°), 2mal aus abs. Äthanol und 2mal aus 96proz. Äthanol umkristallisiert. Ein Teil des Rohprodukts wurde i. Vak. destilliert. Schmp. 30–31°, Sdp.₁ 160–165°, n_D^{20} 1,4362. Ausbeute: 3,37 g (54% d. Th.).

IR-Spektrum: Hauptbanden bei 720, 1030, 1170, 1370, 1740, 2850 und 2920 (breit) cm^{-1} (CS₂, Beckman IR-4).

$\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}_2$	Ber.: C 76,86	H 12,90	Mol.-Gew. 312,5
	Gef.: C 76,90	H 12,67	Mol.-Gew. 346
	C 76,92	H 12,72	

Auch bei DC erwies sich die Substanz mit Stearinsäure-äthylester als identisch.

Rf-Wert: 0,40; Kieselgel G/Chloroform + Cyclohexan (1 : 3).

Zur Prüfung auf α,β -Dehydrostearinsäure-äthylester wurde das Rohprodukt auf mit 13proz. Silbernitratlösung behandelten Kieselgel-Platten²³⁾ chromatographiert; äthanol. Lösung von 2',7'-Dichlorfluorescein³¹⁾ als Sprühreagens: Kein Nebenleck außer Stearinsäure-äthylester.

³¹⁾ L. J. Morris, Chem. and Ind. 1962, 1238.

Anschrift: Prof. Dr. E. Graf, 74 Tübingen, Wilhelmstr. 27.

[Ph 364]

W. Fürst

Oxydationsprodukte des Ergosterins

4. Mitt.: Einfluß von Oxydationsprodukten und Extraktionsbedingungen auf die Bestimmung von Ergosterin in Trockenhefe

Aus dem Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Friedrich-Schiller-Universität Jena

(Eingegangen am 1. September 1966)

Die Bestimmung des Ergosterins in Trockenhefe wird durch die bei der Lagerung entstehenden Abbauprodukte erheblich beeinflusst, so daß eine Reinigung durch Fällung mit Digitonin stets erforderlich ist. Die Ausbeute ist von den angewandten Extraktionsbedingungen in hohem Maße abhängig. Die höchsten Ergebnisse wurden bei Anwendung von methanolischer Kalilauge unter Zusatz von Pyridin erzielt.

Zur Kontrolle des Ergosteringehaltes während der Lagerung von Trockenhefe waren häufige Bestimmungen des Ergosterins vorzunehmen. In diesem Zusammenhang interessierte die Frage, ob während der Lagerung entstehende Oxydations-