

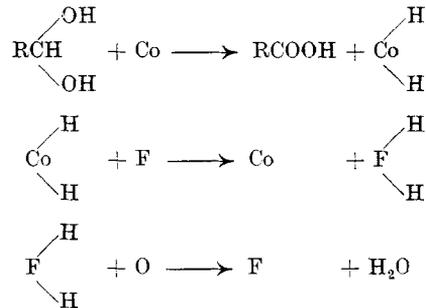
101. Über Reduktionsprodukte des Nicotinsäure-amid-jodmethylats

von P. Karrer, G. Schwarzenbach, F. Benz und U. Solmssen.

(29. V. 36.)

I. Geschichtliches über die Zusammensetzung des dehydrierenden Coferments und der Cozymase.

Das von *O. Warburg* entdeckte wasserstoffübertragende Coferment (Co) reagiert nach *O. Warburg*, *W. Christian* und *A. Griese*¹⁾ bei Gegenwart besonderer Proteine, der sog. Zwischenfermente, mit Wasserstoffdonatoren, wie Hexose-monophosphorsäure (RCH(OH)₂), unter Aufnahme von 2 Atomen Wasserstoff. Das reduzierte Coferment kann hierauf diesen Wasserstoff an Oxydationsmittel, die reaktionsfähiger als molekularer Sauerstoff sind, z. B. an das gelbe Oxydationsferment (F) (Lactoflavin-phosphorsäure + Protein) weitergeben, und die hydrierte Form des gelben Ferments wird schliesslich durch Sauerstoff wieder dehydriert.



Durch analytische Untersuchung des Coferments stellten *O. Warburg* und Mitarbeiter fest, dass es aus Nicotinsäure-amid, Adenin, Pentose und Phosphorsäure besteht. Es hat also ähnliche Zusammensetzung wie die Cozymase von *H. v. Euler* und *Myrbäck*, in welcher die letzteren Forscher schon früher Adenin, Pentose und Phosphorsäure nachgewiesen hatten²⁾; nachdem das Nicotinsäure-amid als Bestandteil des wasserstoffübertragenden Coferments von *Warburg* und *Christian* erkannt worden war, haben *H. v. Euler*, *Albers* und *Schlenk*³⁾ dieselbe Verbindung auch in der Cozymase aus Hefe und *Warburg* und *Christian* in jener aus Pferdeblutzellen⁴⁾ aufgefunden. Auch die Cozymase ist ein wasserstoffübertragendes

¹⁾ Bioch. Z. **275**, 212, 464 (1934); **282**, 157 (1935).

²⁾ Vgl. z. B. Z. physiol. Ch. **198**, 219, 236 (1931); **203**, 143 (1931); **212**, 7 (1932).

³⁾ Z. physiol. Ch. **237**, 1 (1935).

⁴⁾ Bioch. Z. **285**, 156 (1936).

Ferment und als solches von *H. v. Euler* erkannt¹⁾ und untersucht worden; von dem „wasserstoffübertragenden Coferment“ ist sie durch grösseren Phosphorsäuregehalt ausgezeichnet.

Als den wasserstoffübertragenden Bestandteil des Coferments erkannten *O. Warburg*, *W. Christian* und *A. Griese* den Pyridinring des Nicotinsäure-amids. Dieser nimmt bei der (irreversiblen) Hydrierung mit Platin und Wasserstoff 6 Atome Wasserstoff auf, bei der reversiblen Hydrierung, die hier allein interessiert, dagegen 2 Wasserstoffatome. Zu diesem reversiblen Dihydro-coferment gelangt man nach den genannten Autoren auch durch Reduktion des Coferments mit Natriumhyposulfit $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ in bicarbonatalkalischer Lösung.

Das Spektrum des nicht reduzierten, wasserstoffübertragenden Coferments zeigt ein Absorptionsmaximum bei 265 $\text{m}\mu$. Das reversible Reduktionsprodukt (Dihydro-Coferment) weist eine breite Absorptionsbande im sichtbaren Spektralbereich mit Maximum bei 345 $\text{m}\mu$ auf. Beim Ansäuern der Lösung des Dihydro-Coferments wird dieses momentan zerstört, die Bande 345 $\text{m}\mu$ verschwindet und eine neue, mit Maximum bei 295 $\text{m}\mu$, erscheint.

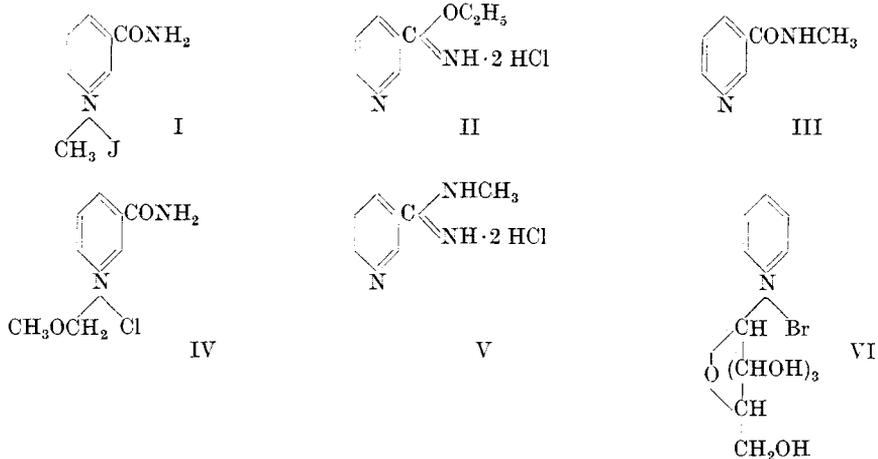
II. Zur Frage der Bindungsart des Nicotinsäure-amids im wasserstoffübertragenden Coferment.

Zwecks Beurteilung der Bindungsart des Nicotinsäure-amids im Coferment wurden in unserem Laboratorium auf Einiadung von Hrn. Prof. *Warburg* einige Modellversuche durchgeführt.

Nicotinsäure-amid enthält drei funktionelle Gruppen: die beiden Stickstoffatome und den Amid-sauerstoff. Diese drei Atome kamen somit allein für die Bindung einer der anderen im Coferment nachgewiesenen Komponenten in Frage. Es wurden daher als Vergleichsmodelle verschiedene Alkylderivate des Nicotinsäure-amids dargestellt, welche die Alkylreste an den funktionellen Gruppen des Nicotinsäure-amids tragen, nämlich: Nicotinsäure-amid-jodmethylat (I), Nicotinsäure-imidoäthyläther (II), Nicotinsäure-methylamid (III), Nicotinsäure-amid-chlor-methoxymethylat (IV); ausserdem Nicotinsäure-N-methylamidin (V), da a priori noch die Möglichkeit in Betracht zu ziehen war, dass das aus Coferment durch Hydrolyse entstandene Nicotinsäure-amid durch hydrolytische Spaltung aus einem Amidin hervorgegangen war; und endlich wurde noch das von *Karrer*, *Widmer* und *Staub*²⁾ vor Jahren hergestellte Glucosido-1-pyridiniumbromid als Vergleichssubstanz beigezogen.

¹⁾ *Adler* und *Michaelis*. Z. physiol. Ch. **235**, 162 (1935); *v. Euler*, *Adler*, *Hellström*, Sv. Kem. Tidskrift **47**, 11. Heft (1935); *v. Euler* und *Adler*, Z. physiol. Ch. **238**, 233 (1936).

²⁾ *Helv.* **7**, 519 (1924).



In einer kurzen Mitteilung¹⁾ von *O. Warburg* mit dem einen von uns wurde bereits berichtet, dass sich von den 6 untersuchten Substanzen nur die erste, Nicotinsäure-amid-jodmethylat, beim Reduktionsversuch mit Natriumhyposulfit wie Coferment verhält. Sie wird ebenso schnell wie die Wirkungsgruppe des Coferments zu einer Substanz hydriert, die in ihren spektralen Eigenschaften mit der reduzierten Wirkungsgruppe des Coferments vergleichbar ist. Wie die hydrierten Cofermente wird das erste Reduktionsprodukt des Nicotinsäure-amid-jodmethylats durch gelbes Ferment reoxydiert, wobei die langwellige Bande 360 m μ (bei Coferment nach der Reduktion bei 345 m μ) verschwindet. Sowohl beim reduzierten Coferment wie beim reversiblen Hydrierungsprodukt des Nicotinsäure-amid-jodmethylats verschwindet auch beim Ansäuern die Bande 360 m μ (bzw. 345 m μ), und es tritt eine neue bei etwa 295 m μ auf.

Aus diesen Befunden ergibt sich die Wahrscheinlichkeit, dass Nicotinsäure-amid im Coferment als quaternäres Salz gebunden ist und dass die reversible Hydrierbarkeit mit diesem besonderen Bindungszustand zusammenhängt. Diese Hypothese steht in Übereinstimmung mit der seit langem bekannten Tatsache, dass quartäre Pyridiniumsalze Reduktionsprozessen sehr leicht zugänglich sind.

III. Geschichtliches über Reduktionen quartärer Pyridiniumsalze.

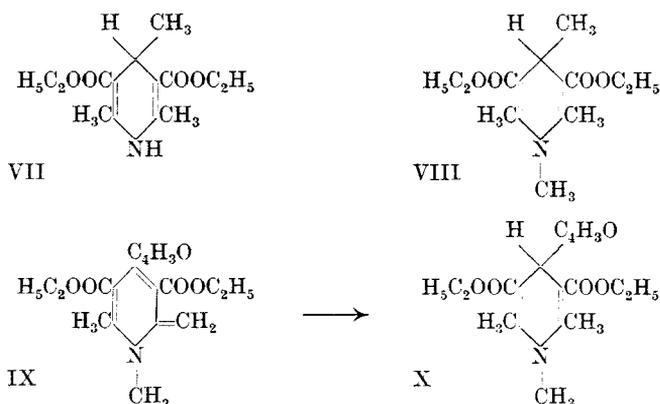
a) Einkernige Hydrierungsprodukte.

Das älteste Dihydroderivat einer Pyridinverbindung ist der Dihydro-collidindicarbonsäure-ester (VII) von *Hantzsch*²⁾. Etwas später wurde auch das N-Methylderivat (VIII) dieser Verbindung von *Kuckert* hergestellt³⁾.

¹⁾ Bioch. Z. **285**, 297 (1936).

²⁾ A. **215**, 1 (1882).

³⁾ B. **18**, 620 (1885). Vgl. auch *Mumm* und *Hingst*, B. **56**, 2301 (1923).



In beiden Fällen handelt es sich um p-Dihydroderivate, sog. symmetrische Dihydroprodukte von Pyridonverbindungen. *Mumm* und Mitarbeiter¹⁾ konnten dann später durch partielle Hydrierung von sog. Pyridon-methiden in einzelnen Fällen, z. B. aus 1,6-Dimethyl-3,5-dicarboxäthyl-4-furyl-2-pyridon-methid (IX) das p-Dihydroderivat X gewinnen.

Alle diese p-Dihydroverbindungen zeigen in Lösung und als Krystalle blaue Fluorescenz.

Während bei der direkten Reduktion quartärer Pyridiniumverbindungen in der Regel Dipyridyl-derivate entstehen (vgl. nachstehend), beobachteten *Weitz*, *König* und *Wistinghausen*²⁾, dass die Reduktion des N-Phenylpyridiniumchlorids in stark alkalischer Lösung mit Natriumamalgam hauptsächlich N-Phenyl-dihydropyridin ergibt, für welches die ortho- oder para-Dihydroformulierung XI bzw. XII offen gelassen wurde:

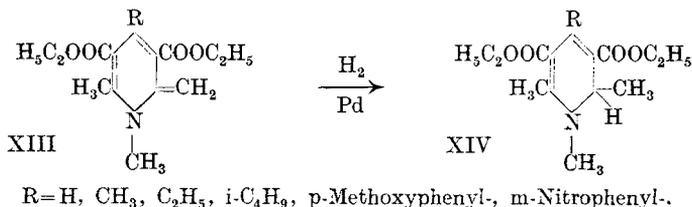


Als ortho-Dihydro-pyridinderivate wurden von *Mumm*³⁾ eine Reihe von Hydrierungsprodukten angesprochen, welche sich bei der partiellen Reduktion von Pyridon-methiden bilden. So wurden aus den Verbindungen XIII durch Reduktion die Dihydroderivate XIV erhalten:

¹⁾ B. 56, 2301 (1923); 57, 873 (1924); A. 443, 273 (1925); B. 59, 1605 (1926).

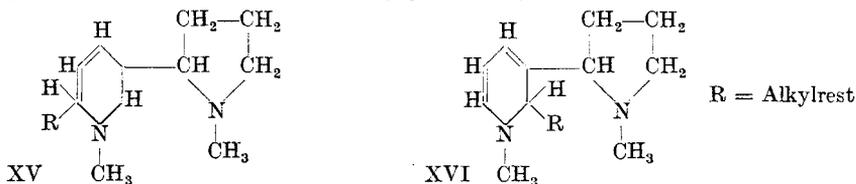
²⁾ B. 57, 153 (1924).

³⁾ B. 56, 2301 (1923); 57, 873 (1924); A. 443, 273 (1925); B. 59, 1605 (1926). Zu der Frage, ob diese ortho-Dihydro-pyridinderivate einheitlich sind, wollen wir hier nicht Stellung nehmen.



Die ortho-Dihydroderivate der Pyridinverbindungen fluorescieren nicht blau; sie sind viel tiefer gelb gefärbt als die (fast oder ganz farblosen) p-Isomeren und besitzen stärkeres Reduktionsvermögen.

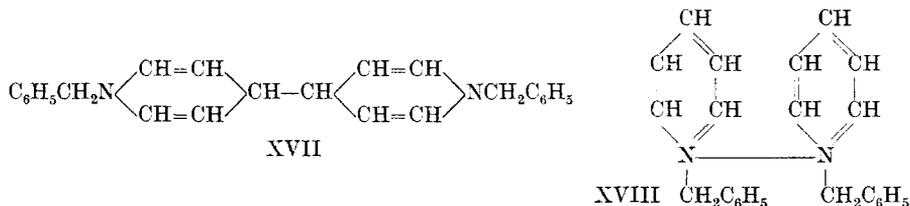
Endlich wurden von *P. Karrer* und *A. Widmer*¹⁾ ortho-Dihydroderivate des Nicotins dargestellt, N-Methyl-alkyl-dihydro-nicotine der Formel XV oder XVI, die sich bei der Einwirkung von Alkylmagnesiumsalzen auf Nicotin-Py-jodmethylat bilden:



b) Zweikernige Hydrierungsprodukte.

Diese Reduktionsprodukte quartärer Pyridiniumsalze, über welche von verschiedenen Seiten umfangreiche Untersuchungen vorliegen, besitzen in Bezug auf unser Problem geringere Bedeutung. Es soll daher nur ganz kurz auf sie verwiesen werden.

Bei der Reduktion von Benzyl-pyridiniumsalzen mit Natriumamalgam hat schon *A. W. Hofmann*²⁾ ein kristallisiertes Reduktionsprodukt gewonnen, das *Emmert*³⁾ später als N,N'-Dibenzyl-tetrahydro-dipyridyl (XVII) deutete, während *Weitz*, *König* und *Ludwig*⁴⁾ dafür eine Diammoniumformel XVIII („Bis-N-benzyl-γ-pyridinium“) vorschlugen.



Analoge Derivate bilden sich bei der Reduktion anderer Pyridiniumsalze. Eine Ausnahme macht das vorerwähnte N-Phenyl-

¹⁾ Helv. 9, 461 (1926).

³⁾ B. 52, 1351 (1919).

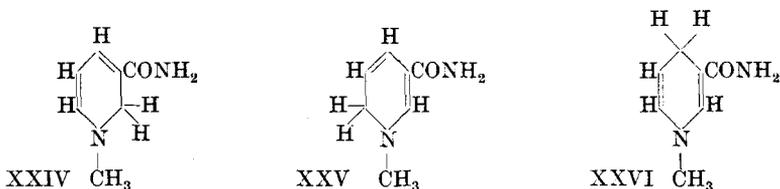
²⁾ B. 14, 1497 (1881).

⁴⁾ B. 55, 402, 2864 (1922).

besten Präparate etwa 93% des primären Reduktionsproduktes zu enthalten.

Über die Natur der Verbindung geben die folgenden Beobachtungen Aufschluss:

Die Analyse stimmt auf die Formel $C_7H_{10}ON_2$. Die Verbindung ist monomolekular; in Wasser wurden die Mol.-Gew. 149 und 154 ermittelt (gegen 138 der Theorie); auch die sehr grosse Wasserlöslichkeit schliesst eine Dipyridylverbindung aus. Somit handelt es sich um ein N-Methyl-dihydro-nicotinsäure-amid, für welches die Formeln XXIV, XXV und XXVI in Betracht zu ziehen sind:



Die Verbindung lässt sich mit Kaliumferricyanid bei alkalischer Reaktion potentiometrisch scharf titrieren. Dabei wurden bei guten Präparaten 1,86 Mol $K_3[Fe(CN)_6]$ pro Mol Reduktionsprodukt verbraucht; daraus schliessen wir, dass sie zu 93% aus dem reversiblen, primären Reduktionsprodukt bestehen. Auf die Frage der Natur der Nebenprodukte kommen wir weiter unten zurück. Der Äquivalenzpunkt ist durch einen gut ausgebildeten Potentialsprung gekennzeichnet (Fig. 2).

Beispiel einer Titration.

0,0350 g Reduktionskörper in 4 cm^3 0,1-n. Natronlauge. Nach jeder Zugabe wurde der Elektrode 5—10 Minuten Zeit zum Einstellen des Potentials gelassen.

cm ³ Ferricyanid	E (gegen Wasserstoff.)	cm ³	E.
0	-0,22	3,00	-0,10
0,25	-0,23	3,50	-0,08
0,50	-0,25	3,75	-0,06
0,75	-0,24	4,00	-0,05
1,00	-0,22	4,25	-0,02
1,25	-0,21	4,50	+0,34
1,50	-0,19	4,75	+0,37
1,75	-0,17	5,00	+0,39
2,00	-0,15	5,50	+0,40
2,25	-0,14	Endpunkt: 4,42 cm^3	
2,50	-0,13		

Das primäre, reversible Reduktionsprodukt des Nicotinsäureamid-jodmethylats ist ein ausserordentlich starkes Reduktionsmittel. Es reduziert neutrale Silbernitratlösung in der Kälte momen-

tan, entfärbt Methylenblau, ebenso Indigo-tetrasulfonat, Indigo-trisulfonat und Indigo-disulfonat. Die Verbindung drückt einer blanken Platinelektrode ein sehr stark negatives Potential auf, welches vom p_H der Lösung abhängt. Diese Potentiale sind aber, wie diejenigen vieler organischer Verbindungen, z. B. diejenigen der Zucker¹⁾, äusserst labil. Es liegt wahrscheinlich kein eigentlich reversibles Redoxpotential vor, oder, wenn ein solches vorhanden wäre, würde sich das Gleichgewicht sehr träge einstellen. Solche Potentiale sind für Systeme charakteristisch, in denen die potentialbildende Molekelart nur in kleiner Menge in der Lösung vorkommt. Die zur Aufladung der Elektrode benötigte Strommenge verursacht dann in der Umgebung der Elektrode bereits eine Verarmung der potentialbildenden Molekeln, die nur langsam nachgebildet werden. Meistens sind derartige Potentiale nicht ganz leicht reproduzierbar.

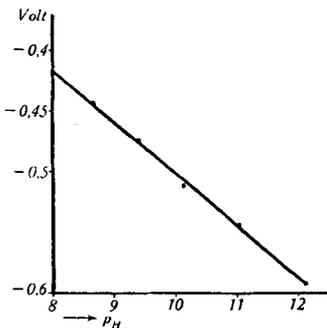


Fig. 1.

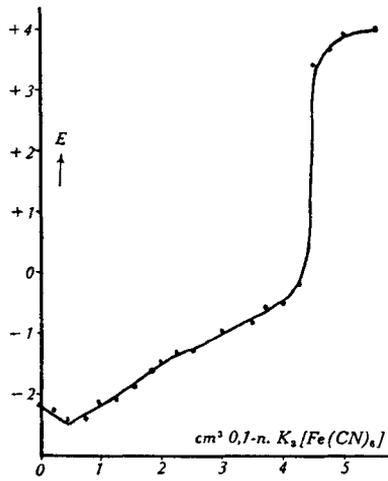


Fig. 2.

Wir haben trotzdem von den (noch nicht ganz einheitlichen, 93-proz.) Präparaten des reversiblen Reduktionsproduktes des Nicotinsäure-amid-jodmethylats die Potentiale in alkalischem Medium zu messen versucht, da sie durch die Grösse ihres negativen Charakters bemerkenswert sind und ein Bild von dem ausserordentlich starken Reduktionsvermögen der Verbindung vermitteln:

Potentiale gegen n-Wasserstoffelektrode bei 20° C, gemessen nach 24 Stunden.
Konzentration des Reduktionsproduktes = 0,00129 molar.

p_H	8,53	9,31	10,09	11,01	12,04
E (Volt), . . .	-0,450	-0,475	-0,513	-0,547	-0,593

Vergleichsweise sei angeführt, dass die Potentiale zwischen V^{+++}/V^{++} in n. H_2SO_4 -0,204 Volt, bei Cr^{+++}/Cr^{++} in n. HCl -0,400 Volt, für Sn^{++++}/Sn^{++} in HCl -0,426 Volt

¹⁾ R. Wurmser und Mitarbeiter, J. Chim. Phys. 25, 641 (1928); 26, 424, 1447 (1929).

betragen und dass *Michaelis* für *N,N'*-Dimethyl- γ,γ' -dipyridylumchlorid (Methylviologen) das als besonders stark negativ angesehene Potential $-0,440$ Volt (p_H 8—13) fand.

Die gemessenen Potentiale des reversiblen Reduktionsproduktes des Nicotinsäure-amid-jodmethylats als Funktion des p_H -Wertes aufgetragen, ergeben eine Gerade mit einer Steigung von 42 Millivolt pro p_H -Einheit (Fig. 1). Saurere Pufferlösungen wurden nicht verwendet, weil schon bei p_H 8,0 (Phosphatpuffer) eine Veränderung der Verbindung erfolgt, die mit sprunghaftem Abfall der Reduktionswirkung verbunden ist.

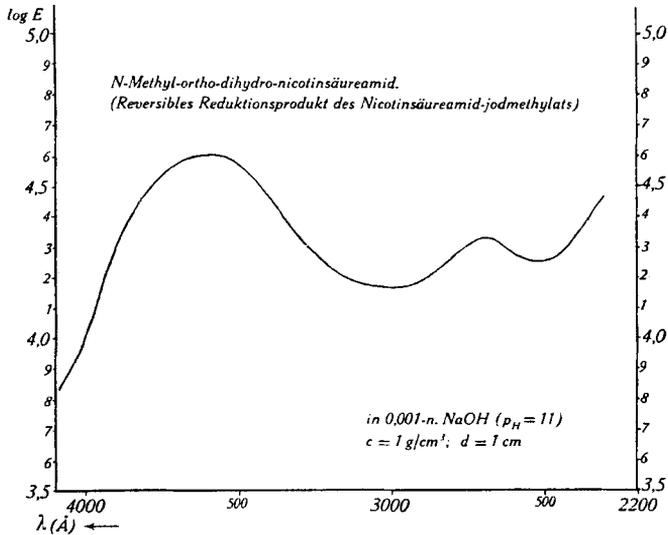


Fig. 3.

Als charakteristisch für das reversible Reduktionsprodukt des wasserstoffübertragenden Coferments haben *O. Warburg* und Mitarbeiter¹⁾ eine ziemlich breite Absorptionsbande im Sichtbaren mit einem Maximum bei $345 \text{ m}\mu$ festgestellt. Eine analoge Absorptionsbande ($360 \text{ m}\mu$) wurde auch beim reversiblen Reduktionsprodukt des Nicotinsäure-amid-jodmethylats gefunden²⁾. Wenn man aber die Lösung der Verbindung ansäuert, so verschwindet das Maximum von $360 \text{ m}\mu$ und es erscheint statt dessen ein solches von $295\text{—}300 \text{ m}\mu$; diese Umlagerung ist, wie wir oben bemerkten, auch von einem sehr starken Abfall der Reduktionswirkung begleitet³⁾.

Bei der präparativen Darstellung des reversiblen Reduktionsproduktes des Nicotinsäure-amid-jodmethylats konnten wir bisher

¹⁾ Bioch. Z. **282**, 157 (1935).

²⁾ Bioch. Z. **285**, 297 (1936).

³⁾ Für freundliche Hilfe bei der Aufnahme der Absorptionsspektren sind wir Herrn Dr. *F. Almasy* zu Dank verpflichtet.

trotz aller Sorgfalt noch keine Präparate erzielen, die ganz frei von Nebenprodukten gewesen wären. Vor allem ist darin eine Verbindung enthalten, die insbesondere in Chloroformlösung eine ungewein starke blaue Fluorescenz im Ultraviolettlicht aufweist.

Aus den Präparaten, welche aus dem primären, reversiblen Reduktionsprodukt des Nicotinsäure-amid-jodmethylats unter der Einwirkung von Säuren entstehen, konnten wir in einer Ausbeute von 8—10% eine prachtvoll krystallisierte Verbindung isolieren. Diese hat dieselbe Molekularformel $C_7H_{10}ON_2$ wie die reversible Reduktionsverbindung, d. h. sie ist ebenfalls ein N-Methyl-dihydro-nicotinsäure-amid. Zum Unterschied von dem primären Reduktionsprodukt ist sie farblos (krystallisiert in dicken Polyedern), reduziert Silbernitratlösung erst beim Erhitzen und lässt sich mit Kaliumferricyanid nicht titrieren. Die Krystalle fluorescieren im Ultraviolettlicht violettblau, die wässrige Lösung schwach violettblau, die Chloroformlösung sehr intensiv blau.

Dieses zweite N-Methyl-dihydro-nicotinsäure-amid ist mit dem Säureumlagerungsprodukt, welches durch die Bande 295—300 $m\mu$ gekennzeichnet ist, nicht identisch. In den Rohprodukten, welche bei der Einwirkung von Säure auf das primäre, reversible Reduktionsprodukt des Nicotinsäure-amid-jodmethylats entstehen, sind daher mindestens 2 Verbindungen enthalten: das isolierte, krystallisierte N-Methyl-dihydro-nicotinsäure-amid sowie eine zweite, ihrer Natur nach noch unbekannt Verbindung, für welche eine starke Absorptionsbande 295 bis 300 $m\mu$ charakteristisch ist.

Wir lassen die Frage offen, ob das krystallisierte N-Methyl-dihydro-nicotinsäure-amid aus dem primären Reduktionsprodukt, d. h. aus dem isomeren N-Methyl-dihydro-nicotinsäure-amid bei der Einwirkung der Säure gebildet wird, oder ob es sich bereits in den ursprünglichen Präparaten des primären, reversiblen N-Methyl-dihydro-nicotinsäure-amids vorfindet. Die letztere Alternative scheint uns wahrscheinlicher zu sein. Die intensive blaue Fluorescenz, welche alle unsere Präparate des primären, reversiblen Reduktionsprodukts des Nicotinsäure-amid-jodmethylats aufweisen, spricht dafür, dass die krystallisierte, isomere, blau fluorescierende Dihydroverbindung eine Beimengung, und wahrscheinlich die hauptsächlichste Beimengung, jener Präparate ist.

V. Die Konstitution des reversiblen Reduktionsprodukts des Nicotinsäure-amid-jodmethylats und seines Isomeren.

Für die Formulierung des reversiblen Reduktionsproduktes des Nicotinsäure-amid-jodmethylats geben dessen Eigenschaften Unterlagen. Weiter oben haben wir ausgeführt, dass sich die ortho- und para-Dihydroderivate des Collidin-dicarbonsäure-esters und ver-

wandter Verbindungen meistens in den folgenden Punkten unterscheiden:

p-Dihydroverbindungen	o-Dihydroverbindungen
fast farblos	tief gelb
krystallisieren meistens	krystallisieren oft nicht
reduzieren AgNO ₃ -Lsg. schwach oder sehr schwach	reduzieren AgNO ₃ -Lsg. stärker als die p-Dihydro-isomeren
fluorescieren blau	fluorescieren nicht oder jedenfalls nicht blau

Allerdings bestehen zwischen ortho- und zwischen para-Dihydroverbindungen verschiedener Konstitution in den genannten Eigenschaften z. T. erhebliche Differenzen, so dass hierdurch die angeführten Merkmale zur Beurteilung der Struktur einer Substanz dieser Gruppe an Bedeutung etwas verlieren. Eine Beladung des Pyridinringes in der α - und der γ -Stellung mit Alkylresten scheint die Stabilität der Dihydroderivate ausserordentlich zu erhöhen. Dies geht z. B. daraus hervor, dass weder ortho- noch para-Dihydro-kollidin-dicarbonsäure-ester (VII und XIV) bei Zimmertemperatur Silbernitratlösung momentan reduzieren; das ortho-Isomere tut dies beim Erwärmen, die para-Dihydroverbindung auch dann kaum. Beide Substanzen sind auch durch Kaliumferri-cyanid nicht titrierbar. Dagegen sind die von uns s. Zt. synthetisierten N-Methyl-alkyl-ortho-dihydro-nicotine (XXVII bzw. XXVIII) im Reduktionsvermögen und Potential mit dem reversiblen Dihydroderivat des Nicotinsäure-amid-jodmethylats gut vergleichbar.

Das reversible Reduktionsprodukt des Nicotinsäure-amid-jodmethylats (mit 360 m μ -Bande) schliesst sich in allen seinen Eigenschaften den ortho-Dihydro-pyridinverbindungen an: es ist tief gelb, bildet ein nicht krystallisierendes Öl, reduziert ungewöhnlich stark und besitzt keine blaue Fluorescenz¹⁾ (dagegen eine schwache weissliche). Es ist daher nicht zu bezweifeln, dass in ihm eine ortho-Dihydroverbindung vorliegt und ihm die Formel des N-Methyl- α -ortho-dihydro-nicotinsäure-amids XXIV oder jene des N-Methyl- β -ortho-dihydro-nicotinsäure-amids XXV zufällt. Zwischen diesen beiden Formulierungen ist vorläufig eine Entscheidung nicht möglich.

Das zweite N-Methyl-dihydro-nicotinsäure-amid, welches wir aus den Produkten isolierten, die bei der Einwirkung von Säure auf das primäre, reversible Reduktionsprodukt erhalten worden waren, hat dagegen alle Eigenschaften einer p-Dihydroverbindung dieser Reihe: Krystallisationsvermögen, geringe Reduktionswirkung, blaue Fluorescenz, Farblosigkeit. Die Verbindung ist als N-Methyl-p-dihydro-nicotinsäure-amid zu bezeichnen und ihre Strukturformel entspricht dem Bild XXVI. Ob die kleinen Mengen N-Methyl-p-dihydro-nicotinsäure-amid, welche dem reversiblen o-Dihydroderivat bei der präparativen Darstellung noch beigemischt sind, durch Umlagerung entstehen oder ob Nicotinsäure-amid-jodmethylat in unter-

¹⁾ Vgl. P. Karrer und O. Warburg, Bioch. Z. 225, 297 (1936).

geordnetem Betrag auch direkt zur p-Dihydroverbindung reduziert werden kann, bleibt zunächst eine offene Frage.

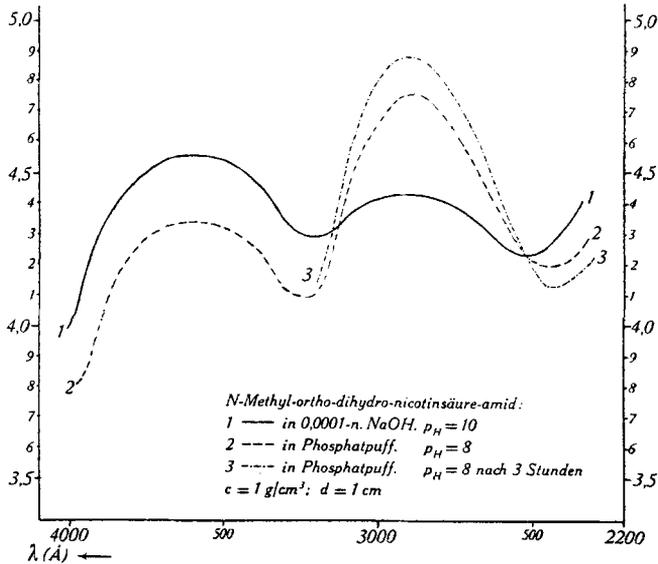
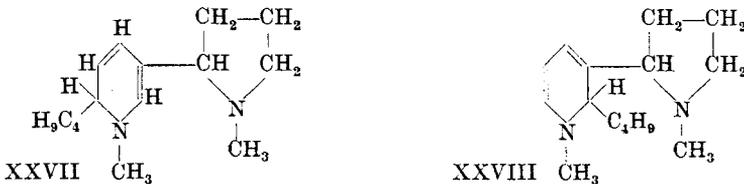


Fig. 4.

Zwecks Beibringung weiterer Unterlagen für die Konstitutionsbeurteilung haben wir eine Reihe anderer, bekannter Reduktionsprodukte von quartären Pyridiniumsalzen auf ihr Verhalten gegen Kaliumferricyanid geprüft, wobei der Verbrauch an Ferricyanid durch das Potential einer Platinelektrode verfolgt wurde. Ortho- und para-Dihydrokollidin-dicarbon säure-ester¹⁾ reduzieren, wie schon erwähnt, Kaliumferricyanid ausserordentlich langsam. Ihr Potential E liegt (für das ortho-Isomere) neutral bei ca +0,250 Volt, alkalisch 0,00 (nach 2 Stunden), bzw. (für die para-Dihydroverbindung) neutral +0,255, alkalisch -0,02 (12 Stunden konstant). Diese Verbindungen sind somit mit dem reversiblen Dihydroderivat des Nicotinsäure-amid-jodmethylats in bezug auf Reduktionswirkung nicht vergleichbar. — Dagegen verbraucht N, N-Dibenzyl-tetrahydrodipyridyl (XVII) bei der Titration mit Kaliumferricyanid recht genau 2 Mol Oxydationsmittel. Sein Potential in alkalischer Lösung (verdünnter Alkohol) liegt schwach negativ, in saurer Lösung positiv.

Sehr scharf liess sich N-Methyl-butyl-dihydro-nicotin (XXVII oder XXVIII), ein charakteristisches ortho-Dihydro-pyridinderivat, mit Kaliumferricyanid titrieren; es verbrauchte genau 2 Mol $K_3[Fe(CN)_6]$.



¹⁾ Bezüglich der Frage der Einheitlichkeit der ortho-Dihydroderivate vgl. S. 814, Anmerk. 3.

Mit dem reversiblen Hydrierungsprodukt des Nicotinsäure-amid-jodmethylats stimmt es auch in einem sehr stark negativen Potential überein.

VI. Zur Spezifität der Reduktionsvorgänge bei quartären Pyridiniumverbindungen.

Aus dem älteren Schrifttum über die Reduktion quartärer Pyridiniumsalze ist schon zu entnehmen, dass der Verlauf der Reduktionsvorgänge sehr von der Konstitution der zur Reduktion gelangenden Verbindungen abhängt. So gehen, wie wir früher erwähnten, N-Benzyl- sowie N-Methyl-pyridiniumsalze bei der Reduktion mit Natriumamalgam in Dipyridylderivate (N,N'-Dibenzyl-tetrahydro-dipyridyl etc.) über, während N-Phenyl-pyridiniumchlorid unter denselben Umständen (alkalische Reduktion) zur Hauptsache ein N-Phenyl-dihydro-pyridin ergibt¹⁾.

Auch von den 6 Pyridiniumverbindungen I bis VI verhielt sich, wie O. Warburg und der eine von uns feststellten²⁾, nur Nicotinsäure-amid-jodmethylat bei der Hyposulfitreduktion wie Coferment.

Wir betrachten es daher als unsere nächste Aufgabe, zu untersuchen, welche konstitutionellen Bedingungen die Voraussetzungen dafür sind, dass die Reduktion von Pyridiniumsalzen zu Dihydroverbindungen, insbesondere ortho-Dihydroverbindungen führt. So konnte bereits beobachtet werden, dass die Reduktion des Nicotinsäure-äthylester-jodmethylats unter Bedingungen, wie sie beim Nicotinsäure-amid-jodmethylat Anwendung fanden, kein oder nur wenig ortho-Dihydroderivat entstehen lässt.

Insbesondere soll versucht werden, Zuckerreste mit dem Pyridinstickstoff des Nicotinsäure-amids quartär zu verbinden und solche Produkte der Reduktion zu unterwerfen, denn man wird zu prüfen haben, ob die Bindung des Nicotinsäure-amids in den Cofermenten durch Zuckergruppen in quartärer Form erfolgt. Glucosido-pyridiniumsalze zeichnen sich, wie wir schon vor Jahren hervorhoben³⁾, durch ausserordentliche Alkaliempfindlichkeit und relative Säurebeständigkeit aus; auch schwache Alkalien führen zur Abspaltung der Zuckergruppen vom Pyridinkern. Dieselbe grosse Alkaliempfindlichkeit und grössere Säurebeständigkeit ist dem wasserstoffübertragenden Coferment von Warburg und Mitarbeitern⁴⁾ sowie der Cozymase von v. Euler⁵⁾ eigen. Dagegen erweisen sich N-Glucoside

¹⁾ B. 57, 153 (1923).

²⁾ Bioch. Z. 285, 297 (1936).

³⁾ Helv. 7, 519 (1924).

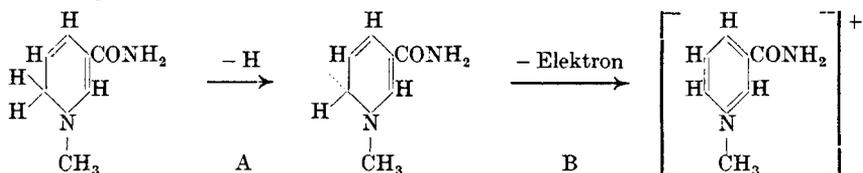
⁴⁾ O. Warburg und Christian, Bioch. Z. 274, 112 (1934); O. Warburg, Christian und Griese, Bioch. Z. 282, 157, insbesondere 189 (1936).

⁵⁾ Myrbäck, Örtensblad, Z. physiol. Ch. 234, 254 (1935); v. Euler, Adler, Hellström, Sv. Kem. Tidskr. 47, 290 (1935).

mit dreiwertigem Stickstoff (z. B. Anthranilsäure-N-glucosid, Theophyllin-N-glucosid) gegen verdünnte Alkalien in der Kälte stabiler. In dieser Eigenschaft schliesst sich ihnen das reversible Hydrierungsprodukt des Coferments an, in welchem nach den jetzt bekannt gewordenen Tatsachen ebenfalls dreiwertiger Stickstoff anzunehmen ist.

Der am Pyridinstickstoff des Nicotinsäure-amids bzw. seines Dihydroderivates gebundene organische Rest scheint aber auch bedeutenden Einfluss auf die Reduktionsstärke des ortho-Dihydro-nicotinsäure-amidderivates zu besitzen. Denn reduzierte Cozymase (*v. Euler*)¹⁾ und reduziertes wasserstoffübertragendes Coferment (*Warburg*)²⁾ werden von Methylenblau nicht reoxydiert, während synthetisches N-Methyl-ortho-dihydro-nicotinsäure-amid, wie wir zeigten, nicht nur Methylenblau, sondern auch Farbstoffe mit noch stärker negativem Potential reduziert.

Aus dem Verhalten des N-Methyl-ortho-dihydro-nicotinsäure-amids an der blanken Platinelektrode und dem intermediären Auftreten stärker negativer Potentiale bei der Titration der Verbindung mit Kaliumferricyanid muss man die Schlussfolgerung ziehen, dass die Oxydation des Dihydroderivates über ein Radikal mit sehr stark negativem Potential verläuft. Man wird anzunehmen haben, dass dieses um 1 H-Atom ärmer als das Dihydroprodukt ist, d. h. dass sich die Reoxydation des reversiblen Hydrierungsproduktes nach der Gleichung



vollzieht, wobei der potentialbestimmende Vorgang B ist.

Der Jubiläumsspende für die Universität Zürich danken wir für die Gewährung von Mitteln, durch welche diese Arbeit unterstützt wurde.

Experimenteller Teil.

Nicotinsäure-amid³⁾.

Je 5 g Nicotinsäure-äthylester werden mit 20 cm³ einer bei – 10° gesättigten Lösung von trockenem Ammoniakgas in absolutem Methylalkohol während 12 Stunden im Bombenrohr auf 150° erhitzt. Dann verdampft man den Alkohol im Vakuum, worauf das zurückbleibende dicke Öl sofort kristallisiert. Der Krystallbrei wird noch

¹⁾ *H. v. Euler* und *G. Günther*, Sv. Kemisk Tidskr. **47** (1935), Heft 11 (November).

²⁾ *Warburg*, *Christian*, *Griese*, Bioch. Z. **279**, 143 (1935); **282**, 157 (1936).

³⁾ Vgl. dazu *F. Pollack*, M. **16**, 53 (1895).

2—3mal zwecks Entfernung von unverändertem Ester mit Petrol-
äther ausgekocht. Der weisse, pulverige Rückstand ist reines Nico-
tinsäure-amid vom Smp. 121°. Ausbeute durchschnittlich 80% d. Th.

Nicotinsäure-N-methylamid.

3,0 g Nicotinsäure-äthylester und 1 g Methylamin werden
5 Stunden im Bombenrohr auf 150° erhitzt. Nach dem Verjagen des
überschüssigen Methylamins krystallisiert man das Reaktionsprodukt
zweimal aus heissem Benzol um und gewinnt so das Nicotinsäure-
N-methylamid in farblosen Krystallen vom Smp. 102°. Die Ver-
bindung ist leicht löslich in Wasser und absolutem Alkohol, sehr
schwer in Äther.

3,790 mg Subst. gaben 6,26 cm³ AgJ (Methylimidbestimmung)
Ber. NCH₃ 21,3 Gef. NCH₃ 20,42%

Nicotinsäure-imido-äthyläther-dichlorhydrat.

2 g Nicotinsäure-nitril werden in 80 cm³ absolutem Äthylalkohol
gelöst. In diese Lösung leitet man 48 g trockenen Chlorwasserstoff,
und zwar so, dass die Temperatur der Reaktionsmischung ständig
zwischen 10 und 20° bleibt. Unter diesen Bedingungen fällt Nicotin-
säurenitril-hydrochlorid nicht aus. Man lässt die gut verschlossene
Flasche 4 Stunden in Eiswasser stehen und fällt hierauf das salzsaure
Salz des Imidoäthers mit dem 5-fachen Volumen absolutem Äther.
Die fein suspendierte Fällung wird beim Reiben mit dem Glasstab
sofort körnig und kann nach kurzem Stehen abgenutscht werden.
Das so erhaltene Nicotinsäure-imido-äthyläther-dihydrochlorid haben
wir über Phosphorpentoxyd und Stangenkali im Exsikkator getrock-
net. Smp. ca. 233°, wenig charakteristisch (von 215° ab langsames
Sintern). Die Ausbeute ist quantitativ (4,3 g). Das Chlorhydrat löst
sich leicht in Wasser, sehr schwer in absolutem Alkohol und ist sehr
hygroskopisch.

C₈H₁₂ON₂Cl₂ Ber. C 43,03 H 5,43 N 12,55 OC₂H₅ 20,19%
(223,1) Gef. „ 42,54 „ 5,71 „ 12,49 „ 19,82%

Nicotinsäure-N-methylamidin-di-hydrochlorid.

2 g Nicotinsäure-imido-äthyläther-di-hydrochlorid werden in
fein pulverisiertem Zustand portionenweise zu 6 cm³ einer 33-proz.
wässrigen Lösung von Methylamin gegeben und die Flüssigkeit
einen Tag bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann verdampft
man diese bei 30° im Vakuum zur Trockene und reibt den Rück-
stand 2mal mit je 2 cm³ absolutem Alkohol an, um das gebildete
Methylamin-hydrochlorid und nicht umgesetzten Imidoäther heraus-
zulösen. Der Rückstand ist reines salzsaures Nicotinsäure-N-methyl-
amidin-di-hydrochlorid. Smp. wenig charakteristisch, gegen 240°.

Ausbeute 0,6 g. Die Verbindung ist in Wasser leicht, in absolutem Alkohol schwer löslich.

4,806 mg Subst. gaben 0,862 cm³ N₂ (21°, 726 mm)
 C₇H₁₁N₃Cl₂ Ber. N 20,20 Gef. N 19,90%
 (208,1)

Nicotinsäure-amid-jodmethylat.

5 g fein pulverisiertes Nicotinsäure-amid werden mit 30 cm³ Methyljodid übergossen und die Suspension während 6 Stunden in leichtem Sieden gehalten. Nach dem Abdestillieren des überschüssigen Methyljodids wird der gelb gefärbte Kolbeninhalt in möglichst wenig heissem Wasser gelöst (ca. 5 cm³), die Lösung filtriert, mit 20 cm³ absolutem Alkohol versetzt und hierauf unter Zugabe von 100—150 cm³ Äther das gelb gefärbte Nicotinsäure-amid-jodmethylat in krystallisiertem Zustand gefällt. Smp. 204°. Ausbeute 8—9 g. Die Substanz löst sich in Wasser leicht, in Alkohol schwer und ist in Äther unlöslich.

C₇H₉ON₂J Ber. C 31,81 H 3,33 N 16,2%
 Gef. „ 32,11 „ 3,26 „ 15,98%

Aus dem Jodmethylat lässt sich das Nicotinsäure-amid-chlor-methylat durch Schütteln der wässerigen Lösung mit frisch gefälltem Silberchlorid gewinnen. Smp. ca. 240°.

C₇H₉ON₂Cl Ber. N 16,2 Gef. N 15,98%

Darstellung des reversiblen Reduktionsprodukts aus Nicotinsäure-amid-jodmethylat. (N-Methyl-o-dihydro-nicotinsäure-amid).

10 g Nicotinsäure-amid-jodmethylat und 32 g wasserfreies Natriumcarbonat werden in 200 cm³ kaltem Wasser gelöst. Unter ständigem Durchleiten von gereinigtem Stickstoff gibt man zu dieser Flüssigkeit 30 g festes Natriumhyposulfit Na₂S₂O₄ und lässt hierauf die braun gefärbte Lösung eine Stunde unter Durchleiten von Stickstoff stehen. Dann wird das Reduktionsprodukt durch 20-maliges Ausschütteln mit Chloroform (im ganzen 1600 cm³) ausgezogen; die vereinigten Chloroformextrakte haben wir durch Faltenfilter gegossen und hierauf das Lösungsmittel im Vakuum abgedampft; auch diese Operationen müssen alle unter Durchleiten von Stickstoff vorgenommen werden. Man nimmt hierauf den Rückstand, ein dickflüssiges orangefarbiges Öl, in wenig Methanol auf, destilliert das Lösungsmittel im Vakuum ab und wiederholt diese Operation. Der nunmehr chloroformfreie Rückstand wird in eine Ampulle eingefüllt und in dieser unter Durchleiten von Stickstoff das Lösungsmittel verdampft. Das zurückbleibende rotorange Öl wird im Vakuum bei 60° getrocknet. Ausbeute 4,5 g = 92% d. Th.

Zur Reinigung der Verbindung haben wir die 4 g Substanz in 6 cm³ Chloroform gelöst und dazu 10 cm³ Petroläther vom Sdp. 35

bis 50° zugesetzt. Dabei bildet sich eine milchige Trübung. Man lässt die Flüssigkeit eine halbe Stunde unter Stickstoff stehen, wonach sich der grösste Teil der ausgeschiedenen Öltröpfchen abgesetzt hat. Die darüber stehende Flüssigkeit wird von dem Öl dekantiert und mit weiteren 100 cm³ Petroläther versetzt. Im Laufe einer halben Stunde setzt sich nun eine zweite ölige Ausfällung am Boden des Gefässes ab. Die von diesem Öl abgegossene Mutterlauge liefert nach dem Verdampfen des Lösungsmittels im Vakuum eine dritte Fraktion.

Die beiden ersten öligen Ausfällungen werden, jede für sich, in wenig Methanol aufgenommen, die Lösungen in Ampullen überfüllt, in diesen das Lösungsmittel unter Durchleiten von Stickstoff verdampft und die zähflüssigen Rückstände im Hochvakuum bei 60° mehrere Stunden getrocknet. Das reinste Präparat ist die zweite Petrolätherfällung. Deren Analyse stimmt — im Kohlenstoff mit einer kleinen Abweichung — auf ein Dihydro-nicotinsäure-amid.

$C_7H_{10}ON_2$	Ber. C 60,82	H 7,30%
	Gef. „ 60,10	„ 7,30%

Über andere Eigenschaften (Reinheitsgrad, Reduktionsvermögen, Potential, Absorptionsspektrum etc.) sind die Angaben im theoretischen Teil dieser Abhandlung enthalten.

N-Methyl-p-dihydro-nicotinsäure-amid.

0,8 g N-Methyl-o-dihydro-nicotinsäure-amid wurden in 10 cm³ Wasser gelöst, die Lösung mit verdünnter Schwefelsäure schwach kongosauer gemacht und 3 Minuten stehengelassen. Hierauf haben wir sie mit festem, trockenem Natriumcarbonat bis zur stark alkalischen Reaktion versetzt und 20mal mit Chloroform ausgeschüttelt. Die vereinigten Chloroformextrakte wurden durch ein Faltenfilter gegossen, worauf man das Lösungsmittel unter Durchleiten von Stickstoff im Vakuum vertrieb. Der Rückstand war ein gelbliches Öl. Es wurde in 3 cm³ Methanol aufgenommen und die Flüssigkeit über Nacht im Eisschrank stehengelassen. Am nächsten Tag war die Verbindung auskrystallisiert. Zur weiteren Reinigung wurde die Substanz nochmals aus Methanol umkrystallisiert.

Das N-Methyl-p-dihydro-nicotinsäure-amid wurde so in vollkommen farblosen, im Wasser leicht löslichen, dicken polyedrischen Kryställchen erhalten, die sich beim Erhitzen oberhalb 200° braunschwarz färben und bei etwa 236° zersetzen. Diese Krystalle fluorescieren unter der Quarzlampe hellviolettblau; die wässrige Lösung besitzt im Ultraviolettlicht ebenfalls schwach violette Fluorescenz, die Chloroformlösung fluoresciert intensiv blau. Silbernitratlösung wird von dem p-Dihydroderivat erst in der Wärme reduziert.

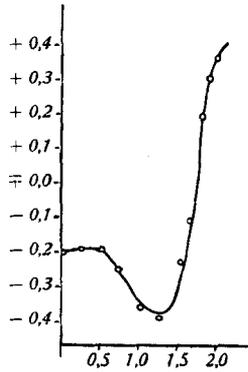
$C_7H_{10}ON_2$	Ber. C 60,82	H 7,30	N 20,29	NCH ₃ 21,02%
	Gef. „ 60,74	„ 7,19	„ 20,45	„ 20,89%

Potentiometrische Titration von N-Methyl-o-dihydro-butyl-nicotin.

0,0197 g N-Methyl-o-dihydro-butyl-nicotin gelöst in 4 cm³ 50-proz. Alkohol und 3 Tropfen 1,4-n. NaOH (ca. 0,05-n.).

cm ³ K ₃ [Fe(CN) ₆] 0,1025-n.	E gegen n. Wasserstoffelektrode
0	-0,21
0,25	-0,20
0,50	-0,20
0,75	-0,25
1,00	-0,35
1,25	steigt rasch bis -0,25 und fällt wieder bis -0,38
1,50	„ über +0,2 und sinkt wieder bis -0,23
1,65	„ „ +0,2 „ „ „ „ etwa -0,12
1,80	„ bis +0,29 „ „ „ „ inert ½ St. auf +0,15
1,90	„ „ +0,30 „ „ „ „ inert ½ St. auf +0,25
2,00	„ „ +0,305 „ bleibt konstant.
Für Oxydation verbraucht 1,73 cm ³ K ₃ [Fe(CN) ₆] Lösung	
Berechnet 1,74 cm ³ „ „	

Titrationkurve.



Zürich, Chem. Institut der Universität.