

fiel ein kristalliner Niederschlag aus, der nach Istündigem Stehen abgesaugt, zunächst mit 0,2 n-Natronlauge, hierauf mit Wasser und schließlich mit Azeton gewaschen wurde. Die Substanz war sofort analysenrein. Mischschmelzpunkte mit diesem Dimethyldiphenylhydantil und demjenigen nach *S. Gabriel*¹⁰⁾ aus Diphenylhydantil und Methyljodid in Natriumäthylatlösung dargestellten ergaben keine Depressionen. Allerdings, die Methylierung mit Dimethylsulfat gelingt nur in der Kälte und bei Einhaltung schwacher Alkalikonzentration. Methylierungen in stärkeren Alkalien führen nicht zum Ziel.

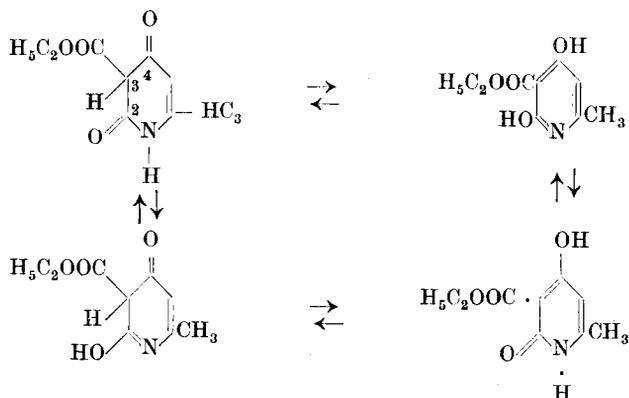
¹⁰⁾ Liebigs Ann. Chem. 350, 139 (1906).

1197. Josef Klosa

Über einige Derivate des 2,4-Dioxy-6-methyl-pyridin-3-carbonsäureäthylesters

(Eingegangen am 12. September 1952)

Pyridinderivate zeichnen sich häufig durch eine geringe Giftigkeit aus. Das zeigt sich darin, daß die wertvollsten Röntgenkontrastmittel, die an sich in hoher Dosis zur Kontrastdarstellung zugeführt werden müssen, Derivate des Pyridins sind. Aber auch eine weitere Anzahl von Wirkstoffen, die sich durch geringe Giftigkeit auszeichnen, gehören zur Pyridinreihe. Eine hohe tuberkulostatische Wirksamkeit von Pyridinderivaten ist bereits 1931 von *E. Hesse* und *G. Meißner*¹⁾ in Breslau erkannt worden. Diese Voraussetzungen waren für uns maßgebend, um unter den Pyridinderivaten nach weiteren tuberkulostatischen bzw. chemotherapeutischen Substanzen zu suchen. Als Ausgangsmaterial dieser Untersuchungen wählten wir den 2,4-Dioxy-6-methyl-pyridin-3-carbonsäure-äthylester, welcher theoretisch in mehreren tautomeren Formen auftreten bzw. zu reagieren vermag:

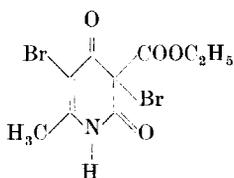


Gerade diese besonders reiche Tautomeriemöglichkeit ist aber auch vom physiologischen Interesse. Wenn nämlich eine Substanz, welche chemotherapeutisch sich wirksam zeigt, theoretisch in mehreren tautomeren Formeln aufzutreten vermag, so ist es mit größter Wahrscheinlichkeit vorherzusehen, daß unter physiologischen Verhältnissen, die niemals ruhend und bleibend sind, sondern dynamisch in einem

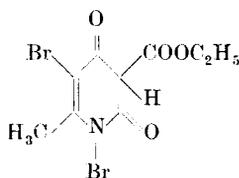
¹⁾ Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmacol. 159, 676 (1931).

laufenden biologischen Gleichgewicht stehen, eben diese Substanzen auch tatsächlich in verschiedenen tautomeren Formen ihre Reaktionen ausüben können. Demnach wird also der Mikroorganismus nicht einem einzigen Stoff ausgesetzt sein, sondern mehreren, die eben durch laufende Veränderungen des einen entstehen. Es ist vorherzusehen, daß dann eine Chemoresistenz der Mikroben viel schwerer eintreten wird. Diese außerordentlich begünstigte Körperklasse für den Aufbau neuer chemotherapeutischer Substanzen glaubten wir in den Pyridinderivaten zu finden. Inzwischen ist durch *Offe, Siefke* und *Domagk*²⁾ das Isonikotinsäurehydrazid als ein hochaktives Tuberkulostatikum erkannt worden, das auch klinisch vielversprechende Ergebnisse zeigte.

Das Ausgangsmaterial unserer Untersuchungen, der 2,4-Dioxy-6-methyl-pyridin-3-carbonsäureäthylester (I) wurde durch Kondensation von Malonsäurediäthylester mit β -Aminocrotonsäureäthylester erhalten³⁾. In diesem Ester sind also alle Stellungen mit Ausnahme der 5-Stellung besetzt, so daß für einen neu einzutretenden Substituenten schließlich nur die Stellung 5 frei bleibt. Jedoch die besonderen Tautomeriemöglichkeiten von I erlauben nur unter besonderen experimentellen Bedingungen den glatten Eintritt in die Stellung 5. So berichteten *E. Knoevenagel* und *A. Prines*³⁾ über zwei Bromderivate von I, deren Eintritt nicht geklärt werden konnte. I wurde von uns in Eisessig bromiert, und es resultierten ebenso zwei Bromderivate, von denen das eine bei 249—250° C, das andere bei 166—168° C schmolz, während das 2. Bromderivat von *Knoevenagel* einen Schmp. von 189° zeigte. Die bei 166—168° schmelzende Substanz entwickelt durch Kochen mit verdünnter oder konzentrierter Salzsäure Brom, ebenso durch Kochen mit Wasser und geht in das bei 249° C schmelzende Produkt über. Auf der Grundlage dieser Reaktion wird dem bei 249° C schmelzenden Körper die Formel eines 2,4-Dioxy-6-methyl-5-brompyridin-3-carbonsäureäthylesters (II) zugeschrieben, während für die bei 166 bis 168° C schmelzende Substanz folgende Formeln (III und IV) in Betracht kommen könnten:



III

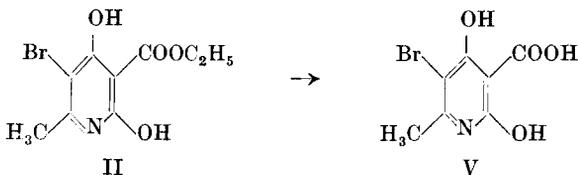


IV

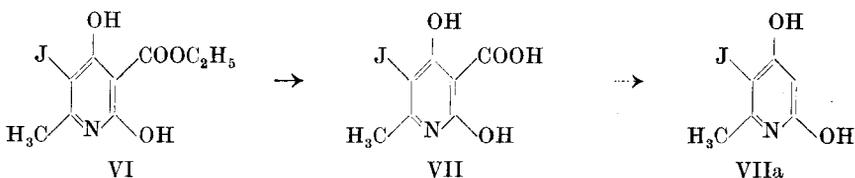
Die Formel III ist mit Sicherheit auszuschließen, da durch Behandlung mit Natronlauge III vollkommen zerstört wird und auch keine Zersetzungsprodukte erhalten werden konnten. Es ist also mehr die Formel eines Imidbromids wahrscheinlicher. II wird durch Kochen mit Natronlauge nicht zerstört, sondern geht durch Verseifung in die entsprechende Säure, die 2,4-Dioxy-6-methyl-5-brompyridin-3-carbonsäure (V) über:

²⁾ Naturwissenschaften 39, 118 (1952).

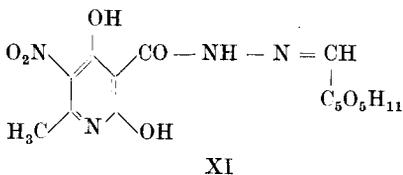
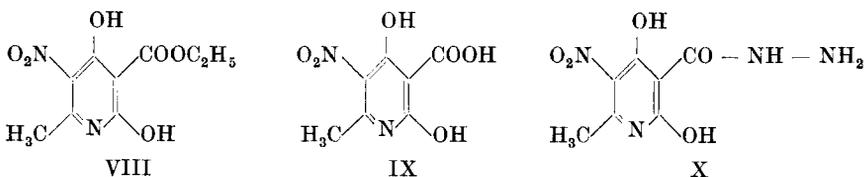
³⁾ *Knoevenagel* und *Prines*, Ber. dtsch. chem. Ges. 31, 767 (1898).



Durch Jodierung in Alkalien wird aus I der 2,4-Dioxy-6-methyl-5-jod-pyridin-3-carbonsäureäthylester (VI) erhalten, der durch Behandlung mit schwachen Alkalien ebenso unter milden Bedingungen zur entsprechenden Säure (VII) hydrolysiert wird. Bei stärkerem Kochen bildet sich unter Abspaltung von Kohlendioxyd 2,4-Dioxy-6-methyl-5-jod-pyridin (VIIa):

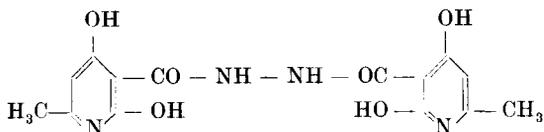


I läßt sich mittels Salpeter-Schwefelsäure zu 2,4-Dioxy-6-methyl-5-nitro-pyridin-3-carbonsäureäthylester (VIII) nitrieren und letzterer mittels Natronlauge zu 2,4-Dioxy-6-methyl-5-nitro-pyridin-3-carbonsäure (IX) verseifen. Mit Hydrazin liefert VIII das schön kristallisierende und im warmen Wasser lösliche 2,4-Dioxy-6-methyl-5-nitro-pyridin-3-carbonsäurehydrazid (X), welches mit Glukose in Wasser die Glykosidenverbindung (XI) ergibt.

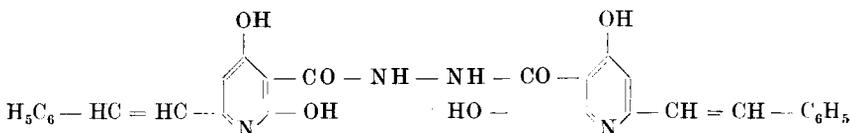


Mit den Aldehyden ergibt X mehrere Produkte, wobei sowohl die Methylgruppe wie die Hydrazidgruppe in Reaktion getreten sind. Über diese Produkte wird in einer weiteren Arbeit berichtet werden.

I bildet mit Hydrazin ein Bis-(2,4-Dioxy-6-methyl-pyridin-3-carbonsäure)-hydrazid (XII), welches mit Benzaldehyd in Alkohol gekocht ein Bis-(2,4-Dioxy-6-stilbazol-3-carbonsäure-hydrazid (XIII) ergibt:



XII



XIII

I ließ sich unter den gleichen Bedingungen mit Benzaldehyd nicht in das zu erwartende Stilbazol-derivat (XIII) umsetzen.

Naturgemäß können alle Derivate von I auch mit den weiteren hypothetischen tautomeren Formen in Reaktion treten. Diese Umsatzmöglichkeiten sind Ausgangspunkte weiterer Untersuchungen.

Beschreibung der Versuche

2,4-Dioxy-6-methyl-pyridin-3-carbonsäureäthylester (I)

Die Darstellung nach *E. Knoevenagel* und *A. Prines*³⁾ wurde zugunsten einer besseren Ausbeute wie folgt verändert, da die in der Literatur angegebenen Ausbeuten von uns nicht erhalten werden konnten. Bisweilen spielte sich die Reaktion gar nicht ab, besonders dann, wenn der Malonester nicht ganz rein war.

Im 324 g absol. Äthanol wurden 25,1 g Natrium gelöst. In die erkaltete Lösung wurden unter Kühlung zunächst 178,8 g Malonsäurediäthylester (reinst) und hierauf vorsichtig in größeren Portionen und unter Schütteln 145 g frisch dargestellter β -Aminocrotonsäureäthylester eingetragen. Es schied sich zunächst ein intensiver weißer Niederschlag aus, der nach Schütteln wieder in Lösung ging. Es wurde nun 13 Stunden unter Rückfluß gekocht. Aus der zu Beginn der Kochzeit klaren, etwas grünlichgelben Lösung schied sich allmählich ein weißer Niederschlag ab. Nach Beendigung der Kochzeit wurde 6 Stunden stehen gelassen, so daß sich der Niederschlag gut absetzen konnte (eine sofortige Filtration ist außerordentlich schwierig und verlangt viel Zeit). Der Niederschlag wurde kurz mit eiskaltem Äther gewaschen, auf Ton getrocknet, in Wasser gelöst und mit 5%iger Schwefelsäure schwach angesäuert (pH 3,5–5,5). Es fiel ein käsiger weißer Niederschlag aus, der beim längeren Stehen kristallin wurde.

Ausbeute 75 g vom Schmp. 208–210° C. Aus den Mutterlauge der Natriumäthylatlösung konnten weitere Mengen durch Eindampfen erhalten werden.

2,4-Dioxy-6-methyl-5-brom-pyridin-3-carbonsäureäthylester (II)

4 g I wurden unter Erwärmung in 30 ccm Eisessig gelöst. Es wurde abkühlen gelassen und in die Lösung eine Lösung von 5 ccm Brom in 10 ccm Eisessig solange unter Schütteln zugesetzt, bis eine gleichbleibende etwas rötlich gefärbte Farbe zurückblieb (Verbrauch der Bromlösung etwa 3–5 ccm). Es wurde 30 Minuten stehen gelassen und hierauf das Ganze in das dreifache Volumen eiskalten Wassers gegossen. Es fiel ein schöner kristalliner Niederschlag aus, der abgesaugt wurde. Aus Alkohol Schmp. 249–250°.

Analyse: $C_9H_{10}O_4NBr$ Mol.-Gew.: 276,1 Ber.: N 5,07% Gef.: N 5,15%

Die Substanz ist löslich in heißem Eisessig, in Chloroform und Alkohol, unlöslich in Wasser, Äther, Benzol und Azeton.

Aus dem Filtrat der Wasserfällung kristallisierte nach 24 bis 48 Stunden III in schönen balkenförmigen Kristallen, die ohne Umkristallisation analysiert wurden. Schmp. 168 bis 169° C.

Analyse: $C_9H_9O_4NBr_2$ Ber.: N 3,86% Gef.: N 3,78%

III konnte nach folgendem Verfahren in großen Mengen als einziges Produkt erhalten werden:

1 g I wurde in 50 ccm Salzsäure suspendiert. 3 ccm konz. Salzsäure wurden zugesetzt. Nun wurde unter Kühlung und Rühren Bromwasser in Portionen solange zugesetzt, bis eine schwach rote Farbe bestehen blieb. Dauer der Bromwasserzusetzung 1 Std. Anfangs fiel ein volumöser Niederschlag aus, der bei weiterem Bromwasserzusatz verschwand und schließlich fiel bei längerem Stehen ein kristalliner Niederschlag aus, der sich durch weiteren Bromwasserzusatz vermehrte.

Ausbeute: 1,4 g. Schmp. 166—168° C.

III läßt sich weder aus Eisessig noch Alkohol umkristallisieren. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Eisessig wird II erhalten. Durch Erwärmen von III mit Wasser treten Bromdämpfe auf, und es wird II erhalten: 0,5 g III wurden mit 30 ccm Wasser 10 Minuten zum Sieden erhitzt: rote Dämpfe und beim Abkühlen kristallisiert II vom Schmp. 247° aus. Eine gleiche Beobachtung wird durch Kochen in Salzsäure, sowohl 2n-Salzsäure wie konz. Salzsäure, gemacht.

2,4-Dioxy-6-methyl-5-brom-pyridin-3-carbonsäure (V)

1 g II wurden mit 2n-Natronlauge 1 Stunde auf dem Wasserbade erwärmt. Die Lösung wurde mit 30 ccm Wasser verdünnt, filtriert und angesäuert: käsiger Niederschlag, der aus Eisessig umkristallisiert von 265° unter allmählicher Zersetzung verkohlt. Ausbeute: 0,78 g.

Analyse: $C_7H_6O_4NBr$ Mol.-Gew.: 245,04 Ber.: N 5,71% Gef.: N 5,58%

Die Substanz ist löslich in heißem Eisessig und sehr schwer in warmem Äthanol, unlöslich in Wasser, Chloroform, Azeton, Äther, Benzol und Methanol.

2,4-Dioxy-5-jod-6-methyl-pyridin-3-carbonsäureäthylester (VI)

4 g I wurden in 50 ccm 1n-Natronlauge gelöst. Dazu wurde eine Lösung von 4 g Jod in 150 ccm Alkohol tropfenweise unter Rühren allmählich zugesetzt. Nach 10stündigem Stehen wurde mit dem 4fachen Volumen Wasser verdünnt, filtriert und mit 20%iger Schwefelsäure angesäuert. Es fiel ein weißer, käsiger Niederschlag aus, der allmählich kristalliner wurde. Nach der Filtration und gründlichem Waschen mit Wasser wurde aus Methanol umkristallisiert: schöne weiße, lange Nadeln. Schmp. 238° C unter Zersetzung und Jodabgabe. Ausbeute: 3,6 g rein.

Analyse: $C_9H_{10}O_4NJ$ Mol.-Gew.: 323,1 Ber. N 4,33% Gef. N 4,32%

Das Jodderivat ist schwer löslich im heißen Äthanol und Methanol und läßt sich hieraus gut umkristallisieren. Es ist etwas löslich im heißen Wasser, gut löslich im heißen Azeton, schlechter im heißen Benzol und etwas besser im warmen Chloroform und Eisessig, unlöslich in Äther.

2,4-Dioxy-5-jod-6-methyl-pyridin-3-carbonsäure (VII)

1 g VI wurden in 20 ccm n-Natronlauge gelöst und 1 Stunde bei 50° C auf dem Wasserdampfbade erwärmt. Es wurde noch 12 Stunden stehen gelassen, mit dem doppelten Volumen Wasser versetzt, filtriert und vorsichtig angesäuert. Es fiel ein voluminöser Niederschlag aus, der etwas bräunlich gefärbt war. Aus Methanol Schmp. ab 220° C Zersetzung, Bräunung schon ab 190° C. Ausbeute: 0,7 g.

Analyse: $C_7H_6O_4NJ$ Mol.-Gew.: 295,04 Ber. N 4,75% Gef. N 4,75%

Die Substanz ist löslich im warmen Alkohol, Eisessig und Azeton, unlöslich in Wasser, Äther und schwer löslich in Benzol.

2,4-Dioxy-5-jod-6-methyl-pyridin (VIIa)

0,5 g VI wurden in 20 ccm 2n-Natronlauge eine Stunde auf dem Wasserdampfbade erwärmt, mit Wasser verdünnt, filtriert und angesäuert. Beim Ansäuern wurde die Lösung braun, und es entwickelte sich Kohlendioxyd. Zunächst trat eine Trübung auf, es wurde filtriert. Nach mehreren Stunden bildeten sich schöne Kristalle. Schmp. 193—195° C scharf unter Zersetzung. Ausbeute 0,2 g.

Unlöslich in Wasser, Alkohol, Methanol, Benzol, Äther und Chloroform, schwer löslich in Azeton und Eisessig. Aus Azeton Schmp. 217—218° C.

Analyse: $C_6H_4O_2NJ$ Mol.-Gew.: 249,02 Ber. N 5,62% Gef. N 5,50%

2,4-Dioxy-6-methyl-5-nitro-pyridin-3-carbonsäureäthylester (VIII)

5 g I wurden bei 10—15° C in ein Gemisch von 100 ccm konz. Salpetersäure und 50 ccm konz. Schwefelsäure portionsweise unter Rühren eingetragen. Es wurde 10 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen und das Nitrierungsgemisch unter Rühren tropfenweise in Eiswasser gegossen. Es fiel ein feinkristalliner Niederschlag aus, der aus Alkohol umkristallisiert bei 256—258° C schmolz.

Analyse: $C_9H_{10}O_6N_2$ Mol.-Gew.: 242,2 Ber. N 11,57% Gef. N 11,58%

Das Nitroprodukt ist löslich in Alkohol, Eisessig, Azeton und Chloroform, in Alkalien mit tief gelber Farbe, unlöslich in Wasser, Benzol und Äther.

2,4-Dioxy-6-methyl-5-nitro-pyridin-3-carbonsäure (IX)

2 g VIII wurden 3 Stunden mit 35 ccm 2n-Natronlauge auf dem Wasserbade erhitzt. Das Ganze wurde mit dem dreifachen Volumen Wasser verdünnt, filtriert und angesäuert. Es resultierte ein nadelförmiger Kristallbrei. Aus Alkohol umkristallisiert Schmp. 237° C (Zersetzung). Ausbeute 1,3 g.

Analyse: $C_7H_6O_6N_2$ Mol.-Gew.: 214,1 Ber. N 13,08% Gef. N 13,03%

Die Substanz ist löslich in Alkohol und Eisessig, unlöslich in Wasser.

2,4-Dioxy-6-methyl-5-nitro-pyridin-3-carbonsäurehydrazid (X)

3 g VIII wurden mit 3,5 ccm Hydrazin (80%igem) übergossen, dazu wurden 3,5 ccm Wasser zugesetzt. Es entstand eine tiefgelbe Farbe. Nun wurde vorsichtig auf dem Wasserdampfbade bis zur vollständigen Lösung erhitzt (Temperatur nicht höher als 50—60° C). Es entstand eine tiefmoosgrüne Farbe. Nun wurde 24 Stunden das Ganze sich selbst überlassen. Bereits nach einigen Stunden begannen sich schöne gelbe Kristallnadeln auszuscheiden, die aus 80%igem Alkohol umkristallisiert bei 238° C schmolzen. Ausbeute 2,8 g.

Analyse: $C_7H_8O_5N_4$ Mol.-Gew.: 228 Ber. N 24,50% Gef. 24,50%

Das Hydrazid ist löslich im heißen Wasser und Eisessig, unlöslich in Methanol, Äthanol, Benzol, Chloroform, Azeton und Äther.

a) Glykosidenverbindung XI

1 g X wurde in 10 ccm heißem Wasser gelöst. Dazu wurde 1 g Glukose zugesetzt und das Ganze 1—2 Stunden unter Rückfluß gekocht. Die Lösung war tiefgelb gefärbt. Es wurde heiß filtriert und auf die Hälfte eingedampft. Nach einigen Stunden fielen feine gelbe Kristalldrüsen aus. Schmp. 168—169° C unter Schäumen. Ausbeute 0,6 g, aus wenig Wasser und viel Alkohol (am besten 85%igen Alkohol) umkristallisiert Schmp. 170—172° C.

Die Substanz ist löslich im heißen Wasser und 96%igem Alkohol, unlöslich in absol. Alkoholen, gut löslich in Azeton und Eisessig, unlöslich in Äther, Benzol und Chloroform.

Analyse: $C_{13}H_{18}O_{10}N_3$ Mol.-Gew.: 376,3 Ber. N 11,16% Gef. N 11,40%

Bis-(2,4-Dioxy-6-methyl-pyridin-3-carbonsäure)-hydrazid (XII)

3 g I wurden in 30 ccm Wasser suspendiert und mit 3,6 g Hydrazinhydrat (85%ig) versetzt. Das Ganze wurde auf dem Wasserbade 20 Minuten auf 60° erhitzt. Die Umsetzung begann sofort. Es fiel ein nadelförmiger, hellbrauner Niederschlag aus, der aus

Wasser umkristallisiert, farblose, schöne Nadeln lieferte. Schmp.: bei 260° C geschmolzen, wurde aber wieder fest und begann sich durch Dunkelfärbung zu zersetzen.

Analyse: $C_{14}H_{14}O_6N_4$ Mol.-Gew.: 334 Ber. N 16,76% Gef.: N 17,02%

Die Substanz ist schwerlöslich im kalten Wasser, aber gut löslich im warmen und läßt sich hieraus gut umkristallisieren. Sie ist leicht löslich in Äthanol, Methanol, löslich in Alkalien, unlöslich in Salzsäure, Dekalin, Äther, Hexan und Azeton.

Das Bihydrazid bildete sich auch durch Kochen von I in Alkoholen. Selbst bei tagelangem Kochen in Wasser oder Butanol-Benzolgemischen wurde nur das alleinige Produkt erhalten und nicht, wie erwartet, auch andere Substanzen, die nach der Formel mit größter Wahrscheinlichkeit zu ersehen wären.

Bis-(2,4-dioxy-6-stilbazol-3-carbonsäure)-hydrazid (XIII)

0,3 g XI wurden in 30 ccm 95%igem Alkohol gelöst und dazu wurden 0,8 g Benzaldehyd zugesetzt und das Ganze 2 Stunden auf dem Dampfbade erhitzt. Es bildete sich ein intensiver Kristallbrei, der abgesaugt, mit Alkohol gewaschen wurde. Aus viel heißem Alkohol umkristallisiert Schmp. 330° C unter Zersetzung.

Analyse: $C_{25}H_{22}O_6N_4$ Mol.-Gew.: 510 Ber. N 10,98% Gef. N 10,75%

Die Substanz ist unlöslich in Wasser, schwer löslich in Äthanol, besser löslich in Methanol und unlöslich in den gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln wie Äther, Benzol usw.

Mit Anisaldehyd, Vanillin und auch Propionaldehyd konnte unter gleichen Bedingungen keine Kondensation ermittelt werden.

1198. F. Neuwald

Cholin in den Blättern von *Digitalis purpurea* und *Digitalis lanata**)

Aus dem Laboratorium für Arzneimittelprüfung und Arzneimittelforschung,
Hamburg-Großflottbek

(Eingegangen am 20. September 1952)

Bei den Untersuchungen zur Aufklärung der parenteral „toxischen Fraktion“ in Fingerhutblättern¹⁾ fanden *Neuwald* und *Zöllner*²⁾, daß wäßrige eingeengte Digitalisauszüge nach erschöpfender Extraktion mit Chloroform zur Entfernung der bisher bekannten herzwirksamen Glykoside den arteriellen Blutdruck wesentlich senken. Da die bisher in der Literatur angegebenen Inhaltsstoffe der Blätter von *Digitalis purpurea* und *Digitalis lanata* keine Blutdrucksenkung hervorrufen, wurde versucht, den blutdruckwirksamen Inhaltsstoff der Purpurea- und Lanata-Droge zu isolieren.

Die Aufarbeitung der mit Chloroform nicht extrahierbaren Fraktion wäßriger Digitalisauszüge erfolgte in Zusammenarbeit mit *G. Zöllner* im Pharmakologischen Institut der Universität Hamburg (Dir.: Prof. Dr. *E. Keeser*), der die einzelnen bei der Aufarbeitung anfallenden Fraktionen an der Blutdruckkatze prüfte. Nachdem verschiedene Aufbereitungsverfahren nicht zum Ziele geführt hatten, gelang es

*) Herrn Prof. Dr. *E. Keeser* zum 60. Geburtstag gewidmet.

¹⁾ *F. Neuwald*, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 283, 93 (1950).

²⁾ *F. Neuwald* und *G. Zöllner*, Verhdl. d. Deutsch. Pharmakologischen Ges., 19. Tagung, Göttingen (1952).