

24. Fluoreszenzerscheinungen bei hydroxylierten, partiell hydrierten Pyridinderivaten

von U. Kubli und E. Schmid.

(28. XII. 44.)

Bei der analytischen Untersuchung von 2,4-Dioxo-3,3-diäthyl-1,2,3,4-tetrahydropyridin, welches unter der Bezeichnung Persedon als mildes Schlafmittel in Verwendung steht, wurde festgestellt, dass Spuren davon, in Alkali gelöst, im Ultraviolett starke hellblaue Fluoreszenz aufweisen. Da uns eine grössere Zahl verschiedener anderer Substitutionsprodukte des Dioxopyridins zur Verfügung stand, war es nicht ohne Interesse zu prüfen, inwieweit die am Dioxo-diäthyl-tetrahydropyridin beobachteten Fluoreszenzerscheinungen durch die verschiedenen Substituenten beeinflusst werden. Lösungen der Substanzen wurden in Quarzreagensgläsern bei auffallendem ultraviolettem Licht beobachtet, unter Einschaltung eines Filters aus Nickeloxydglas zwischen Lichtquelle und Lösung. Die Versuchsergebnisse werden im folgenden mitgeteilt.

Verhalten von 2,4-Dioxo-3,3-diäthyl-tetrahydropyridin im U.V.

Die farblosen Krystalle zeigen im festen Zustand bei U.V.-Beleuchtung keinerlei Leuchterscheinung, sie sind auf einer weissen Unterlage als dunkelbraune Masse erkennbar. 1-prom. wässrige und alkoholische Lösungen der Substanz weisen ebenfalls keine Fluoreszenz auf. Zusatz von Alkali in Form von NaOH oder KOH bewirkt das Auftreten einer starken, leuchtend hellblauen U.V.-Fluoreszenz, die durch Säurezusatz wieder ausgelöscht wird. Es wurde anfangs vermutet, dass die zur Erzeugung einer optimalen Fluoreszenz notwendige Alkalimenge in einem gewissen molekularen Verhältnis zur gelösten Substanz stehen werde. Diese Vermutung erwies sich jedoch nur als bedingt richtig. Lösungen, die, bezogen auf 2,4-Dioxo-3,3-diäthyl-tetrahydropyridin, ein bis drei Äquivalente NaOH enthielten, deutlich phenolphthaleinalkalische Reaktion und eine optimale Fluoreszenz aufwiesen, zeigten beim fortgesetzten Verdünnen mit dem Lösungsmittel Wasser oder Alkohol eine weitgehende Abschwächung ihrer Fluoreszenz. Diese Abnahme der Fluoreszenz war nicht durch die geringere Konzentration an 2,4-Dioxo-3,3-diäthyl-tetrahydropyridin allein bedingt, sondern in viel bedeutenderem Ausmass durch die schwächere Alkalikonzentration der Lösung. Durch erneuten Zusatz von Alkali zu den verdünnten Probelösungen konnte die U.V.-Fluoreszenz verstärkt oder da, wo

sie völlig verschwunden war, wieder hervorgerufen werden. Um eine optimale Fluoreszenz zu erhalten, müssen die Lösungen nach unseren Befunden eine Alkalikonzentration von 0,005- bis 0,01-n. NaOH aufweisen, auch wenn die Konzentration an Tetrahydropyridinderivat wesentlich niedriger liegt. Die Fluoreszenzerscheinungen treten offenbar erst auf, wenn sich das Gleichgewicht zwischen der Keto- und der Enolform des 2,4-Dioxo-3,3-diäthyl-tetrahydropyridins zugunsten der Enolform verschiebt und erreichen ihr Maximum, wenn die Enolisierung unter dem Einfluss des überschüssigen Alkalis praktisch vollständig wird. Infolge stärkerer Enolisierung ist die Fluoreszenz auch stärker ausgeprägt, wenn das 2,4-Dioxo-3,3-diäthyl-tetrahydropyridin in Alkohol, statt in Wasser gelöst wird. Die alkalisch-alkoholischen Lösungen fluoreszieren in einem reineren Hellblau, während die alkalisch-wässrigen Lösungen eine hellweisslichblaue Fluoreszenz aufweisen. Zwischen absolutem Alkohol und 80 Vol.-proz. Alkohol liessen sich hinsichtlich Fluoreszenzstärke und Fluoreszenzfarbe kaum Unterschiede feststellen.

Zur Beurteilung der Empfindlichkeit der Fluoreszenzreaktion wurde die Konzentration der Lösungen des 2,4-Dioxo-3,3-diäthyl-tetrahydropyridins zwischen 10^{-3} und 10^{-7} variiert. Die Fluoreszenz darf bei einer Konzentration von 10^{-5} als stark, bei 10^{-6} als sehr deutlich und bei 10^{-7} als schwach bezeichnet werden. Die einfachsten und besten Vergleichsmöglichkeiten bieten nach unseren Erfahrungen Reagensglasversuche mit 5 cm^3 einer alkoholischen Lösung, welche das Dioxo-tetrahydropyridinderivat in der Konzentration von 2×10^{-6} bis 2×10^{-7} bei Gegenwart von 0,005- bis 0,01-n. Alkali enthält.

Hinsichtlich Beständigkeit der Fluoreszenz ist zu bemerken, dass beim Aufbewahren der alkalischen wässrigen und alkoholischen Lösungen bei Zimmertemperatur im Dunkeln während längerer Zeit kein Rückgang der Fluoreszenz erkennbar war. Da, wo eine Abnahme dennoch beobachtet wurde, liess sie sich auf eine Verminderung der Alkalinität infolge Einwirkung des Kohlendioxyds der Luft zurückführen; durch erneute Alkalizugabe wurde die Fluoreszenz in ihrer ursprünglichen Stärke zurückerhalten. Längere U.V.-Bestrahlung schwächt dagegen die Fluoreszenz der alkalischen Lösung merkbar, sowohl bei den wässrigen als auch bei den alkoholischen Proben. Erneuter Zusatz von Alkali hatte in diesem Falle keine Reaktivierung der Fluoreszenz im Gefolge. Alkalifreie Lösungen von 2,4-Dioxo-3,3-diäthyl-tetrahydropyridin in Wasser und Alkohol erwiesen sich gegen U.V.-Bestrahlung sehr beständig.

Bei Beobachtung am Tageslicht war die Fluoreszenz der alkalischen Lösungen, die 1% 2,4-Dioxo-3,3-diäthyl-tetrahydropyridin enthielten, gegen eine schwarze Unterlage eben noch schwach

erkennbar. Der die Fluoreszenz verstärkende Einfluss von Alkohol gegenüber Wasser trat auch hier deutlich in Erscheinung. Die 1-prom. und stärker konzentrierten alkalischen Lösungen sind von schwach hellgelber Farbe.

Verhalten weiterer Dioxo-pyridinderivate.

Die in der nachstehenden Tabelle 1 angeführten Dioxo-pyridinderivate sind in alkalisch-wässriger Lösung geprüft worden. Da, wo es sich um sehr schwer wasserlösliche Verbindungen handelte, wurde von einer alkoholischen Stammlösung ausgegangen, die mit Wasser jeweils mehr oder weniger weitgehend verdünnt wurde. Als Vergleichssubstanz, deren Fluoreszenzintensität = 100 gesetzt wurde, diente 2,4-Dioxo-3,3-diäthyl-tetrahydropyridin (I). Bei den Substanzen III, IV, XVIII, XX wo ein direkter Vergleich wegen anderer Fluoreszenzfarbe nicht möglich war, wurde die minimale Konzentration ermittelt, bei welcher noch deutliche Fluoreszenz auftrat und der Wert 100 eingesetzt, wenn diese wie bei I 10^{-6} betrug. Da die Fluoreszenzintensität visuell abgeschätzt wurde, müssen die angegebenen Zahlen als Näherungswerte aufgefasst werden.

Die vergleichende Betrachtung der Versuchsergebnisse führt zu folgenden Feststellungen:

Fluoreszenz tritt auf bei den 2,4-Dioxo-3,3-dialkyl-1,2,3,4-tetrahydropyridin-Verbindungen I, II, III, IV, V und VI, welche in 2-Stellung eine enolisierbare Oxogruppe aufweisen, dank welcher die Verbindungen bei alkalischer Reaktion in 2-Oxy-3,4-dihydro-pyridinderivate übergehen können. Die Fluoreszenz ist bei II, III und IV nahezu gleich stark wie bei I. Bei V ist sie auf die Hälfte, bei VI auf $\frac{1}{10}$ abgeschwächt. Es scheint, dass sich bei diesen beiden Verbindungen der Eintritt der Methylgruppe in die 6-Stellung auf die Enolisierbarkeit ungünstig ausgewirkt hat. Ob der stärkere Rückgang der Fluoreszenz bei VI auf das Vorhandensein zweier ungesättigter Alkylreste in 3-Stellung zurückgeht, liess sich nicht beurteilen, da die entsprechende, in 6-Stellung nicht methylierte Verbindung, das 2,4-Dioxo-3,3-diallyl-1,2,3,4-tetrahydropyridin nicht zur Verfügung stand.

Bei den in 1-Stellung alkylierten 2,4-Dioxo-3,3-dialkyl-tetrahydropyridin-Verbindungen VII, VIII, IX und X, bei welchen das bewegliche Wasserstoffatom in der 1-Stellung fehlt, ist die Fluoreszenz völlig oder nahezu völlig verschwunden. Die Fluoreszenz fehlt auch vollständig bei den Hexahydro-pyridinverbindungen XI und XII, bei welchen die Doppelbindung in der 5,6-Stellung wegfällt, womit auch die Fähigkeit zur Bildung eines löslichen Alkalisalzes, d. h. die Enolisierbarkeit der 2-Oxogruppe, verschwindet. Bei den untersuchten 2,4-Dioxo-1,2,3,4-tetrahydropyridinderivaten XIII, XIV und XV, die in der 3-Stellung nur einen oder gar keinen Substituenten tragen, wurde keine oder höchstens eine Spur von Fluoreszenz

Tabelle 1.

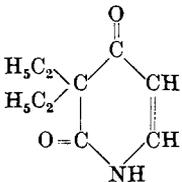
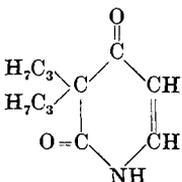
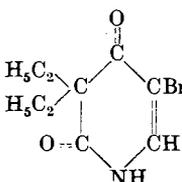
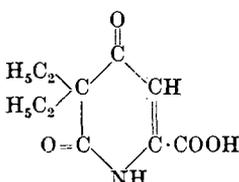
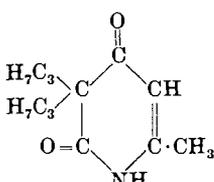
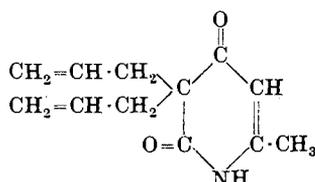
Untersuchte Verbindung	Fluoreszenz im U.V.		
	Farbe	Intensitätsgrad	
I. 2,4-Dioxo-3,3-diäthyl- 1,2,3,4-tetrahydro- pyridin		hellweisslich- blau	100
II. 2,4-Dioxo-3,3-di-n- propyl-tetrahydropyridin		hellweisslich- blau	80—100
III. 2,4-Dioxo-3,3-diäthyl- 5-brom-tetrahydro- pyridin		hellweisslich- grün bis hell- gelbgrün	100
IV. 2,4-Dioxo-3,3-diäthyl- tetrahydropyridin-6-car- bonsäure		hellweisslich- grün bis hell- gelbgrün	100
V. 2,4-Dioxo-3,3-di-n-pro- pyl-6-methyl-tetrahydro- pyridin		hellweisslich- blau	50
VI. 2,4-Dioxo-3,3-di- allyl-6-methyl- tetrahydro- pyridin		hellweisslich- blau	10

Tabelle 1 (Fortsetzung).

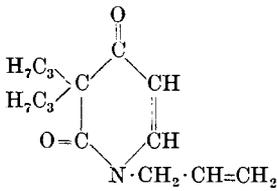
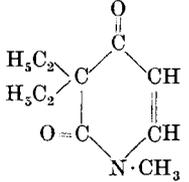
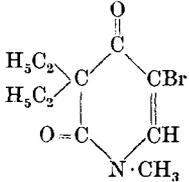
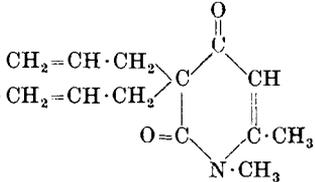
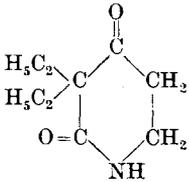
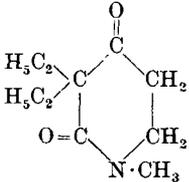
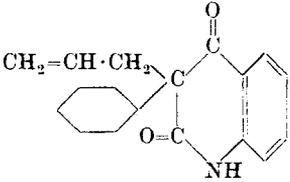
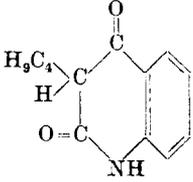
Untersuchte Verbindungen	Fluoreszenz im U.V.		
	Farbe	Intensitätsgrad	
VII. 1-Allyl-2,4-dioxo-3,3-di-n-propyl-tetrahydro-pyridin		hellweisslich-blau	5
VIII. 1-Methyl-2,4-dioxo-3,3-diäthyl-tetrahydro-pyridin		hellweisslich-blau	1
IX. 1-Methyl-2,4-dioxo-3,3-diäthyl-5-brom-tetrahydro-pyridin		blauviolett	fast 0
X. 1,6-Dimethyl-2,4-dioxo-3,3-diallyl-tetrahydro-pyridin		hellweisslich-blau	2
XI. 2,4-Dioxo-3,3-diäthyl-piperidin		0	0
XII. 1-Methyl-2,4-dioxo-3,3-diäthyl-piperidin		0	0

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Untersuchte Verbindung	Fluoreszenz im U.V.	
	Farbe	Intensitätsgrad
XIII. 2,4-Dioxo-3-allyl-6-methyl-tetrahydropyridin <chem>C=CC1C(=O)C(=O)C(C)N1</chem>	0	0
XIV. Phenyl-bis-3[2,4-di-oxo-6-methyl-tetrahydropyridyl]-methan <chem>C=CC1C(=O)C(=O)C(C)N1C2CCCCC2C3C(=O)C(=O)C(C)N3</chem>	0	0
XV. 2,4-Dioxo-6-methyl-tetrahydropyridin <chem>C=CC1C(=O)C(=O)C(C)N1</chem>	hellgrünlichblau	fast 0
XVI. 2,4-Dioxo-3-jod-6-methyl-tetrahydropyridin-1-essigsäure <chem>C=CC1C(=O)C(=O)C(C)N1C(=O)O</chem>	0	0
XVII. 2,6-Dioxo-3,3-diallyl-4-carbonamid-tetrahydropyridin <chem>C=CC1C(=O)C(=O)C(C)N1C(=O)N</chem>	grauviolett	fast 0
XVIII. 2,4-Dioxo-3,3-äthylallyl-tetrahydrochinolin <chem>C=CC1C(=O)C(=O)C(C)N1C2=CC=CC=C2</chem>	hellgrünlichgelb	100*)

*) Die Lösungen zeigen ohne Alkalizusatz hellblaue bis violettblaue Fluoreszenz, deren Intensität derjenigen einer alkalischen Lösung von I nahezu entspricht.

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Untersuchte Verbindung	Fluoreszenz im U.V.	
	Farbe	Intensitätsgrad
XIX. 2,4-Dioxo-3,3-phenylallyl-tetrahydrochinolin 	gelblichgrau	fast 0*)
XX. 2,4-Dioxo-3-n-butyl-tetrahydrochinolin 	blauviolett	20**)

*) Die Lösungen zeigen ohne Alkalizusatz hellblaue bis violettblaue Fluoreszenz, deren Intensität derjenigen einer alkalischen Lösung von I nahezu entspricht.

***) Die Lösung zeigt ohne Alkali schwach grauviolette Fluoreszenz vom Intensitätsgrad 2.

beobachtet, was unseres Erachtens damit zusammenhängt, dass bei diesen Verbindungen die 4-Oxogruppe auch enolisierbar wird, wodurch die Verbindungen in 2,4-Dioxypyridinderivate übergehen. Bei XVI ist die 2-Oxogruppe wegen der Substitution der 1-Stelle nicht mehr enolisierbar, wohl aber die 4-Oxogruppe infolge Anwesenheit eines beweglichen H-Atoms an der 3-Stelle. Das bei alkalischer Reaktion daraus hervorgehende 4-Oxy-1,2-dihydro-pyridinderivat fluoresziert nicht, im Gegensatz zu I und den übrigen 2-Oxy-3,4-dihydro-pyridinderivaten. Die Fluoreszenz fehlt auch bei der 2,6-Dioxo-6,1,2,3-tetrahydropyridin-Verbindung XVII, welche bei der Alkalinisierung in ein 2-Oxy-5,6-dihydro- oder in ein 6-Oxy-1,2-dihydro-pyridinderivat übergeht. Mit der Auffassung, dass vor allem die 2-Oxy-3,4-dihydro-pyridin-Verbindungen stark fluoreszieren, lässt sich auch das Verhalten von XVIII und XIX in Einklang bringen, wenn man annimmt, dass bei diesen 2,4-Dioxo-1,2,3,4-tetrahydrochinolin- oder 2,4-Dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-5,6-benzopyridinderivaten schon ohne Alkali Enolisierung der 2-Oxogruppe eintritt, wodurch die Verbindungen ebenfalls in 2-Oxy-3,4-dihydro-pyridinderivate übergehen.

Auch die geringe Fluoreszenz von XX liesse sich verstehen, wenn man annimmt, dass bei diesem 3-mono-alkylierten 2,4-Dioxo-tetrahydro-benzopyridinderivat der grösste Teil in Form des 3-Allyl-2,4-dioxy-benzopyridins vorliegt. Warum aber bei alkalischer Reak-

tion die Fluoreszenz bei XIX verschwindet, während sie bei XX stärker wird, lässt sich mit dieser Betrachtung nicht zwanglos in Einklang bringen.

Die starke U.V.-Fluoreszenz von 2,4-Dioxo-3,3-diäthyl-1,2,3,4-tetrahydropyridin (I) bietet eine bequeme Handhabe, die Resorptions- und Ausscheidungsverhältnisse dieser Verbindung im Tierkörper näher zu studieren. Unsere an Ratten ausgeführten orientierenden Versuche zeigten tatsächlich, dass sich das Persedon nach peroraler Darreichung von 0,1 g/kg während der ersten 10—12 Stunden in den verschiedenen Rattenorganen fluorometrisch feststellen lässt. Nach 15 Stunden war in den Geweben Persedon nicht mehr nachweisbar, womit auch im Einklang steht, dass das Persedon keine Nachwirkungen hinterlässt. Es liess sich in diesem Zusammenhang auch zeigen, dass 2,4-Dioxo-3,3-diäthyl-piperidin (XI), das als Hustenmittel unter dem Namen Sedulon bekannt ist, im Organismus teilweise zu 2,4-Dioxo-3,3-diäthyl-tetrahydropyridin (I) dehydriert wird. In vitro findet eine solche Dehydrierung nicht statt, wenn man Sedulon mit Leberbrei bei 37° digeriert.

Zur Bestimmung in tierischen Geweben wird das Organ oder ein Teil desselben mit der halben Gewichtsmenge gereinigtem Seesand in der Porzellanreibschale möglichst fein verrieben und dann mit 80 Vol.-proz. Alkohol innig verrührt. Man lässt absitzen, dekantiert die überstehende Flüssigkeit in ein Messgefäss und wiederholt dieses Ausziehen noch zweimal. Der Auszug wird mit dem Lösungsmittel auf ein bestimmtes Volumen gebracht und ein aliquoter Teil abfiltriert. 5 cm³ des klaren Filtrates werden im Quarzreagensglas mit 3 Tropfen wässriger Normalnatronlauge versetzt, kurz gemischt und bei auffallendem U.V.-Licht beobachtet. Die in Quarzreagensgläsern von gleicher lichter Weite befindlichen Vergleichslösungen enthalten 2,4-Dioxo-3,3-diäthyl-tetrahydropyridin in 80 Vol.-proz. Alkohol. Zweckmässig werden Konzentrationen von 10⁻⁵ bis 10⁻⁷ gewählt.

Bei der Durchführung derartiger Versuche ist darauf zu achten, dass Gefässe und Reagenzien, mit denen gearbeitet wird, keinerlei fluoreszierende Stoffe enthalten. So zeigte ein absoluter Alkohol (Ph. Helv. V) schwache, tiefviolette U.V.-Fluoreszenz. Durch Destillation, wobei ein Vorlauf von angenähert 10% und ein ebensolcher Destillationsrückstand in Wegfall kamen, konnte die fluoreszierende Substanz zur Hauptsache entfernt werden. Schwierigkeiten treten da auf, wo Nebenfluoreszenzen, die aus dem Untersuchungsmaterial selbst stammen, die Beurteilung der Fluoreszenz mehr oder weniger stark stören. In besonderem Masse wurde dies beispielsweise bei der Analyse von Harn und Kot festgestellt.

Analytisch-chemisches Laboratorium der
F. Hoffmann-La Roche & Co. A.G., Basel.