

# Die Konstitution des Nicotellins\* \*\*

Von

Friedrich Kuffner und Norbert Faderl

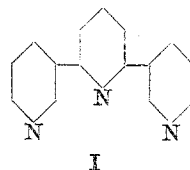
Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien

(Eingelangt am 24. November 1955)

Die bei der Oxydation von Nicotellin mit Kaliumpermanganat entstehenden Produkte wurden papierchromatographisch untersucht. Da Nicotinsäure und Pyridin-2,4-dicarbonsäure sicher identifiziert wurden und mit hoher Wahrscheinlichkeit auch die  $\alpha$ -Carbonsäure des 3,4'-Bipyridyls vorliegt (Formel VIII), ist unter Berücksichtigung des Infrarotspektrums die Konstitution des Nicotellins als 2,4-Di-( $\beta$ -pyridyl)-pyridin (IX) festgestellt.

Vor einiger Zeit konnten *F. Kuffner* und *E. Kaiser*<sup>1</sup> zeigen, daß das von *A. Pictet* und *A. Rotschy*<sup>2</sup> entdeckte Tabak-Nebenalkaloid Nicotellin wahrscheinlich als ein Terpyridyl aufzufassen ist. Von vielen der 48 möglichen strukturisomeren Terpyridylen sind Stereoisomere (Atropisomere) denkbar, und es konnte damals keine Auswahl zwischen den Isomeren getroffen werden; doch zeigte das Infrarotspektrum, daß im Nicotellin ebenso wie in den anderen charakteristischen Tabakalkaloiden ein  $\beta$ -substituierter Pyridinring vorhanden sein dürfte. Verschiedene Überlegungen veranlaßten uns<sup>1</sup>, die Formel I zu bevorzugen.

Für eine sichere Entscheidung kam in erster Linie die Oxydation des Nicotellins in Betracht. Das Nicotellin ist aber recht schwierig zugänglich, da es im Rohnicotin nur einige Hundertstelprocente ausmacht und nur noch einmal, von *E. Noga*<sup>3</sup>, beschrieben



\* Herrn Prof. Dr. *A. Wacek* zum 60. Geburtstag gewidmet.

\*\* Vorgetragen beim 14. Internat. Kongreß für Reine und Angewandte Chemie in Zürich am 26. Juli 1955.

<sup>1</sup> *F. Kuffner* und *E. Kaiser*, Mh. Chem. **85**, 896 (1954).

<sup>2</sup> *A. Pictet* und *A. Rotschy*, Ber. dtsch. chem. Ges. **34**, 696 (1901). Vgl. Arch. Pharmaz. **244**, 388 (1906).

<sup>3</sup> *E. Noga*, Fachl. Mitt. Österr. Tabak-Regie 1914/I/1.

wurde. Es ist zwar als Schädlingsbekämpfungsmittel patentiert worden<sup>4</sup>, doch ist es nach dem Gesagten wenig wahrscheinlich, daß es für diesen Zweck tatsächlich zugänglich gemacht wurde.

Uns standen etwas über 0,3 g Nicotellin (Originalpräparat von Dr. *Noga*, Geschenk der Österr. Tabak-Regie) zur Verfügung, so daß die präparative Isolierung der Oxydationsprodukte wenig einladend erschien; wir zogen es daher vor, nach der wohl erstmals von *F. Galinovsky*, *M. Pöhm* und *K. Riedl*<sup>5</sup> für die Identifizierung von Oxydationsprodukten zwecks Konstitutionsermittlung herangezogenen papierchromatographischen Methode zu arbeiten. Zu diesem Zwecke haben wir<sup>6</sup> die papierchromatographische Trennung und Identifizierung der Pyridin-mono- und -dicarbonsäuren studiert.

Da wir die entscheidenden Oxydationsversuche mit jeweils 10 bis 25 mg Nicotellin durchführten, welche für einige Dutzend Chromatogramme ausgereicht hätten, verfügen wir noch immer praktisch über etwa 0,3 g Nicotellin wie vor der Durchführung der Konstitutionsermittlung.

Zur Oxydation verwendeten wir Kaliumpermanganat, welches, wie schon *Pictet* und *Rotschy*<sup>2</sup> berichten, das Alkaloid sehr langsam angreift. Bei einem Vorversuch entnahmen wir stündlich Proben der Oxydationsflüssigkeit zur papierchromatographischen Untersuchung, um den Verlauf der Reaktion kennenzulernen, wie dies zu ähnlichen Zwecken *K. Schlögl*, *F. Wessely* und *E. Wawersich*<sup>7</sup> getan haben; wir erblicken in einer derartigen Verfolgung des Verschwindens und Erscheinens von Ausgangsmaterial bzw. Reaktionsprodukten einen wichtigen Fortschritt gegenüber der präparativen Aufarbeitung von Serienversuchen. Wir konnten im Falle des Nicotellins feststellen, daß als erstes Oxydationsprodukt Nicotinsäure auftritt, neben welcher bald einige zusätzliche Flecke erscheinen; erst bei protrahierter Einwirkung von Permanganat verschwindet das Nicotellin und die übrigen Oxydationsprodukte, während Nicotinsäure besonders lang nachweisbar bleibt.

Betrachtet man die Formel eines Terpyridyls (II), so ergibt sich, daß durch Angriff auf den mittleren Pyridinring zwei Pyridinmonocarbonsäuren (III, IV) entstehen können, während Angriff an einem der seitlichen Pyridinringe zunächst zu zwei Bipyridyl-monocarbonsäuren (V, VI) führt, welche bei der Weiteroxydation entweder eine Pyridin-dicarbonsäure (VII) liefern oder wieder die schon oben erwähnten Pyridin-monocarbonsäuren (III, IV). Andere stabile Oxydationsprodukte

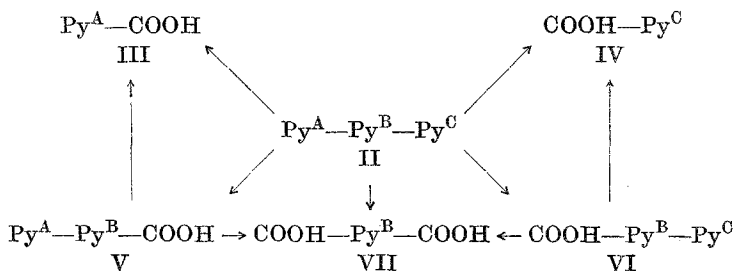
<sup>4</sup> Hercules Glue Co. Ltd., A. P. 2065190 (1936); Chem. Zbl. 1937 I, 3049.

<sup>5</sup> *F. Galinovsky*, *M. Pöhm* und *K. Riedl*, Mh. Chem. 81, 77 (1949).

<sup>6</sup> *F. Kuffner* und *N. Faderl*, Mh. Chem. 86, 995 (1955).

<sup>7</sup> *K. Schlögl*, *F. Wessely* und *E. Wawersich*, Mh. Chem. 85, 961 (1954).

sind nicht zu erwarten, wenn man von Oxalsäure und anderen untypischen Verbindungen absieht.



Tatsächlich fanden wir nach 15- bis 16stünd. Oxydation (neben Nicotellin) Nicotinsäure, aber keine isomere Pyridin-monocarbonsäure (Pyridin-2- oder -4-carbonsäure), obwohl wir uns durch Versuche überzeugten, daß diese beiden Säuren unter den von uns gewählten Oxydationsbedingungen genügend beständig und die angewandten Farbreaktionen genügend empfindlich sind, sodaß der Nachweis dieser Monocarbonsäuren gelingen müßte. Es folgt daraus, daß die seitlichen Ringe des Nicotellinmoleküls beide mittels einer in  $\beta$ -Stellung eingreifenden Bindung an den mittleren Ring gebunden sind. Die im obigen Schema als III und IV bezeichneten Monocarbonsäuren werden also identisch. Von den übrigen im Papierchromatogramm sichtbaren Flecken, welche als Säuren die Fluoreszenz von 4-Methylumbelliferon löschten, gab einer („Fleck Y“) sowohl die Königsche Reaktion (mit Bromcyan und Benzidin), welche das Vorhandensein eines in  $\beta$ - oder  $\gamma$ -Stellung substituierten Pyridinringes anzeigt, als auch Reaktion mit Fe(II)-Ion, welche eine  $\alpha$ -ständige Carboxylgruppe in einer Pyridincarbonsäure nachzuweisen gestattet.

Ein anderer Fleck („Z“) reagierte nach König positiv, gab aber mit Fe<sup>++</sup> keine Färbung, während ein weiterer Fleck („T“) sich hinsichtlich dieser Farbreaktionen gerade umgekehrt verhielt; der erstere (Z) besaß also keine  $\alpha$ -Carboxylgruppe, aber einen  $\beta$ - oder  $\gamma$ -substituierten Pyridinring, der zuletzt beschriebene Fleck (T) dagegen wies offenbar eine  $\alpha$ -Carboxylgruppe auf, aber keinen  $\beta$ - (oder  $\gamma$ -) substituierten Pyridinring. Da die Py-Ringe A und C im Falle des Nicotellins  $\beta$ -substituiert sind, kann dieser papierchromatographische Befund nur so gedeutet werden, daß Fleck Y einer Bipyridyl- $\alpha$ -carbonsäure entspricht, die z. B. die Ringe Py<sup>A</sup> und Py<sup>B</sup> enthält, während Py<sup>C</sup> zu einer  $\alpha$ -Carboxylgruppe oxydiert erscheint, das heißt aber, daß dieser Ring Py<sup>C</sup>, welcher einer der Außenringe ist, in einer  $\alpha$ -Stellung des mittleren Ringes Py<sup>B</sup> angeordnet ist. Im Falle des oxydativen Nicotellinabbaues ist also eine der Bipyridylcarbonsäuren (Formel V unseres obigen Schemas) als eine

Picolinsäure anzusprechen, welche in Stellung 3, 4, 5 oder 6 mit einem  $\beta$ -Pyridylring substituiert ist; Stellung 6 scheidet aus, da dann Nicotellin mit dem 2,6-Di-( $\beta$ -pyridyl)-pyridin (Formel I) identisch sein müßte. Diese unsere<sup>1</sup> Annahme hatten wir aber fallen lassen müssen, als uns Herr Prof. Dr. Cl. Schöpf (Darmstadt) eine Probe dieser Verbindung, welche 1943 an seinem Institute synthetisiert worden war<sup>8</sup>, zum Vergleich schickte und uns ihre Konstanten (sowie die von Salzen) mitteilte, welche von denen des Nicotellins durchaus verschieden waren.

Fleck „T“ zeigte durch seine Farbreaktionen an, daß er vielleicht einer Pyridin-dicarbonsäure entsprach (Formel VII des Schemas), die ja natürlich auch eine  $\alpha$ -Carboxylgruppe enthalten mußte, während die seitlichen Ringe in ihr nicht vorhanden sind, so daß die Königsche Reaktion ausbleibt. Der schwache Fleck „Z“ wurde von uns nicht näher untersucht, seine Farbreaktionen passen zu der naheliegenden Annahme, daß die andere, Bipyridyl-monocarbonsäure (VI), vorliegt. Wäre übrigens Nicotellin mit der Verbindung I identisch, so müßte VI mit V identisch sein, weil das Molekül von I symmetrisch ist, das heißt der Fleck Z wäre nicht als von Y getrennter Fleck zu beobachten.

Um prüfen zu können, ob Fleck Y tatsächlich einer Bipyridyl- $\alpha$ -carbonsäure entspricht, haben wir in üblicher Weise statt einer punktförmigen Probe eine größere Menge der Oxydationsflüssigkeit in Form eines Streifens auf der Startlinie aufgebracht und nach der papierchromatographischen Trennung die entsprechende Zone ausgeschnitten und eluiert. Bemerkenswert ist, daß unter den zur Abspaltung von  $\alpha$ -Carboxylgruppen üblichen milden Bedingungen keine Decarboxylierung eintrat, vielmehr eine Probe bei unverändertem  $hR_f$ -Wert<sup>9</sup> wieder den mit  $Fe^{++}$  reagierenden Fleck anzeigte. Erst unter schärferen Bedingungen wandelte sich Y in eine neue Verbindung um, welche einen neuen  $hR_f$ -Wert besaß, und zwar noch die König-Reaktion gab, aber nicht mehr die Reaktion auf  $\alpha$ -Carboxylgruppen mit  $Fe^{++}$ ; dies ist gerade das, was wir bei der Umwandlung von V in sein Decarboxylierungsprodukt zu erwarten hatten. Je nachdem, in welcher Stellung der äußere  $\beta$ -Pyridylring in das Molekül der Bipyridyl- $\alpha$ -carbonsäure Y angreift, kann das Decarboxylierungsprodukt mit dem  $\alpha,\beta'$ -,  $\beta,\beta'$ - oder  $\beta,\gamma'$ -Bipyridyl identisch sein; die zuerst genannte Möglichkeit würde der Terpyridylformel I entsprechen, scheidet also aus.

Um festzustellen, ob Y eine vom  $\beta,\beta'$ - oder vom  $\beta,\gamma'$ -Bipyridyl ab-

<sup>8</sup> Privatmitteilung Prof. Dr. Cl. Schöpf, Darmstadt (Dissert. Frl. Hagel, 1943).

<sup>9</sup> An Stelle des üblichen  $R_f$ -Wertes haben wir die Verwendung seines Hundertfachen ( $hR_f$ ) empfohlen, um die lästigen Dezimalen zu ersparen. Auch die Kurzzeichnungen für die verwendeten Lösungsmittelkombinationen sind unserer früheren Arbeit<sup>6</sup> entnommen.

zuleitende Carbonsäure ist, haben wir die Papierchromatographie von Bipyridylen untersucht und gefunden, daß in einigen von uns herangezogenen Lösungsmitteln das  $\alpha, \alpha'$ - und das  $\alpha, \beta'$ -Bipyridyl sehr ähnliche  $h R_f$ -Werte besitzen, während das  $\beta, \beta'$ - und das  $\gamma, \gamma'$ -Bipyridyl zu einer zweiten Gruppe zusammentreten, deren  $h R_f$ -Werte ebenfalls einander nahe liegen. Die beiden übrigen möglichen Bipyridyle sind synthetisch weniger bequem zugänglich, ja es ist fraglich, ob überhaupt beide bekannt sind<sup>9a</sup> und wir haben sie bisher nicht in der Hand gehabt. Jedenfalls aber zeigte sich, daß das Decarboxylierungsprodukt der Säure Y, welches wir als  $Y_D$  bezeichnen, in den Lösungsmittelgemischen A 7 und C 6  $h R_f$ -Werte gab, welche denen von  $\beta, \beta'$ - und  $\gamma, \gamma'$ -Bipyridyl sehr nahe lagen, aber mit dem des  $\beta, \beta'$ -Bipyridyls nicht identisch waren.  $Y_D$  dürfte also mit dem  $\beta, \gamma'$ -Bipyridyl identisch sein, wie dies nach obigen Ausführungen im Bereiche der Wahrscheinlichkeit liegt. Der Säure Y wäre dann die Formel VIII zuzuschreiben, dem Nicotellin die Konstitution des  $\alpha, \gamma$ -Di-( $\beta$ -pyridyl)-pyridins IX.

Nach unserem Oxydationsschema müßte unter den Oxydationsprodukten des Terpyridyls IX auch eine Pyridin-dicarbonsäure (entsprechend VII) aufzufinden sein, deren eine Carboxylgruppe wieder in  $\alpha$ -Stellung wie in VIII stehen müßte, während die zweite an Stelle des zweiten Pyridinringes von VIII, also in  $\gamma$  angeordnet sein müßte. Einer Dicarbonsäure konnte nach obigen Überlegungen der Fleck T entsprechen.

Da uns die  $h R_f$ -Werte aller isomeren Pyridin-dicarbonsäuren bekannt waren, konnte auch diese Frage gelöst werden; zunächst ergaben sich noch Schwierigkeiten, weil die anfangs von uns angewandten Lösungsmittel bei Gegenwart von Alkali, wie es sich bei der Permanganat-oxydation bildet, zur Identifizierung von Pyridin-dicarbonsäuren unbrauchbar sind, wie wir bereits mitgeteilt haben<sup>6</sup>. Als wir aber die eigens für diesen Zweck entwickelten Lösungsmittel auf Basis Salzsäure (B 1 bis B 4) heranzogen, zeigte sich einwandfrei, daß T tatsächlich einer Pyridin-dicarbonsäure entspricht, und zwar der erwarteten Pyridin-2,4-dicarbonsäure.

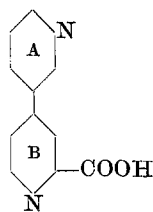
Damit wäre Formel IX für das Nicotellin bewiesen, vorausgesetzt, daß es überhaupt ein Terpyridyl vorstellt. Es sei hier nochmals auf die Elementaranalyse und das Infrarotspektrum hingewiesen. Demgemäß kommt als Bruttoformel des Nicotellins  $C_{15}H_{11}N_3$  (eventuell  $C_{15}H_{13}N_3$ ) in Betracht. Das Infrarotspektrum wurde neuerlich aufgenommen, und zwar mit  $CaF_2$ -Optik in  $CCl_4$ . Es zeigen sich im Bereich von 2,50 bis 3,70  $\mu$  nur drei Banden, die ihrer Lage und Intensität nach der =CH-Valenzschwingung zugeordnet werden müssen. Der Bereich der NH-

<sup>9a</sup> P. Krumholz, J. Amer. Chem. Soc. 73, 4449 (1951); vgl. dagegen F. H. Burstall, J. Chem. Soc. London 1938, 1662.

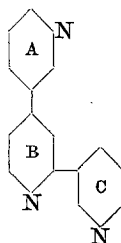
bzw.  $\text{NH}_2$ -Valenzschwingung ist bandenfrei, ebenso wurde im Bereich der  $\text{CH}_2$ - und  $\text{CH}_3$ -Valenzschwingung keine Bande gefunden. Die Wellenlängen der gefundenen Banden sind  $3,24_3$ ,  $3,27_5$  und  $3,29_5 \mu$ . Dieses Bandentriplett ist durch die Resonanzspaltung der  $=\text{CH}$ -Valenzschwingung hervorgerufen. Da diese Banden in aromatischen Systemen als schwach beschrieben werden, die  $\text{CH}_3$ - und  $\text{CH}_2$ -Gruppe dagegen als stark, müssen für Nicotellin die genannten Gruppen ausgeschlossen werden. Das Grundsprungsbereich der Wasserstoffvalenzfrequenzen ermöglicht wesentlich sicherere Aussagen als das Bereich der Deformationsschwingungen, in welchem die bei *Kuffner* und *Kaiser* erwähnten Aufnahmen gemacht wurden.

Versucht man nun, eine Verbindung mit der Bruttoformel des Nicotellins zu konstruieren, in welcher die als Nicotinsäure und als Pyridin-2,4-dicarbonsäure sicher nachgewiesenen zwei (voneinander verschiedenen) Pyridinringe vorhanden sind, so ergibt sich, daß der nicht direkt erfaßte Rest des Nicotellinmoleküls nur wieder ein Pyridinring sein kann, das heißt, daß die oben gemachte, schon von *Kuffner* und *Kaiser* stammende Annahme, daß Nicotellin ein Terpyridyl ist, zutrifft, und daß also die unter dieser Annahme gezogenen weiteren Schlüsse zu Recht bestehen. Nicotellin hat also die Konstitutionsformel IX, und das fragliche Bipyridyl  $\text{Y}_D$ , von dem wir allerdings nur einige  $h R_f$ -Werte kennen, ist als  $\beta, \gamma'$ -Bipyridyl erkannt.

Die auffallende Tatsache, daß Nicotellin von neueren Bearbeitern der Tabakalkaloide nicht erwähnt wird, hatte uns zu der Befürchtung geführt, daß dieses Alkaloid nicht primär in der Tabaklauge enthalten, sondern vielleicht von den älteren Autoren mit noch weniger vollkommenen Aufarbeitungsmethoden als Artefakt erhalten worden sei; da aber bisher in keinem Tabakalkaloid eine  $\beta, \gamma'$ -Verknüpfung von Pyridinringen beobachtet worden ist, halten wir jetzt die sekundäre Bildung von Nicotellin als thermisches Umwandlungsprodukt anderer Tabakalkaloide für ausgeschlossen.



VIII



IX

Eine Verbindung der Formel IX glaubten *Kuffner* und *Kaiser*<sup>1</sup> synthetisiert zu haben. Sie wurde damals (in nur einem Lösungsmittel-

gemisch) papierchromatographisch untersucht und schien einheitlich zu sein. Wir haben nunmehr Lösungsmittelgemische gefunden, in welchen das Originalpräparat sich als Gemisch mehrerer Pyridinderivate erwies, das bei der Oxydation unter anderem Pyridin-2,6-dicarbonensäure lieferte und wahrscheinlich kleine Mengen von I enthielt.

### Experimenteller Teil

Papierchromatographischer Vergleich<sup>10</sup> des Nicotellins mit synthetischem 2,6-Di-( $\beta$ -pyridyl)-pyridin (I) und dem sogenannten synthetischen 3,2':4',3''-Terpyridyl von *Kuffner* und *Kaiser*

Tabelle 1.  $hR_f$ -Werte

Lösungsmittelgemisch	Nicotellin	Synthet. Verb. I (Prof. Schöpf)	Verbindung von <i>Kuffner</i> und <i>Kaiser</i> <sup>1</sup>
A 2.....	43	45	40 + 42 + 46 + 48
A 6.....	30	30	—
A 7.....	84	85	88
B 1.....	01	02	gezogen 01 bis 15
B 3.....	00	01	01 bis 10
C 3 (Laufstrecke 30 cm) ..	76	86	80 + 86
C 3 (Laufstrecke 18 cm) ..	82	92	—
C 6.....	82	83	—
C 7.....	88	90	91
D 3.....	91	—	—
D 4.....	90	—	—
D 8.....	86	—	—
E.....	12	10	09 + 11 + 17 + 20 + 33

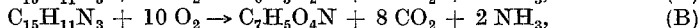
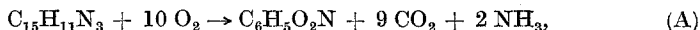
Die Verschiedenheit des Nicotellins vom synthet. I ist in einigen Lösungsmitteln deutlich zu sehen, ebenso zeigt sich, z. B. in A 2, C 3 und E, daß die synthet. Verbindung von *Kuffner* und *Kaiser* aus mehreren Komponenten besteht. Zur Sichtbarmachung diente die Bromcyanreaktion nach *König* in der von uns kürzlich<sup>6</sup> beschriebenen Ausführungsform mit Benzidin. Die Färbung von Nicotellin (orangerot) und der synthet. Verbindung I (weinrot) sind deutlich verschieden. Ohne Zusatz von Benzidin färbt sich Nicotellin im BrCN-Dampf rosa, die synthet. Verbindung I von Prof. *Schöpf* gelb. Eine der Komponenten der Verbindung von *Kuffner* und *Kaiser* dürfte mit I identisch sein.

Die Lösungsmittelgemische sind die gleichen, welche wir kürzlich<sup>6</sup> angegeben haben, statt der üblichen  $R_f$ -Werte ist ihr Hundertfaches tabelliert, für welches wir die Bezeichnung  $hR_f$  (= Hekto- $R_f$ ) vorgeschlagen haben (l. c.).

<sup>10</sup> Wir arbeiteten aufsteigend unter den kürzlich beschriebenen Bedingungen<sup>6</sup>.

Oxydation des Nicotellins und Identifizierung von  
Oxydationsprodukten

Je nachdem, ob Nicotellin zu einer Pyridinmono- oder einer Pyridindicarbonsäure abgebaut wird, gilt eine der folgenden stöchiometrischen Gleichungen:



welche beide den gleichen Sauerstoffbedarf haben. Es schien daher zweckmäßig, auf 10 mg Nicotellin 100 mg  $\text{KMnO}_4$  zu verwenden. Dementsprechend wurden in einem Vorversuche 10 mg Nicotellin mit 2,5 ml 4%iger Permanganatlösung in der Weise oxydiert, daß zunächst auf dem siedenden Wasserbad zwei Fünftel der Permanganatmenge zugesetzt wurden; nach deren Verbrauch wurde ein weiteres Fünftel zugesetzt und so weiter. Nach 16stünd. Erhitzen war die ganze Menge des Oxydationsmittels verbraucht.

Die Oxydation wurde durch wiederholte Probenahme papierchromatographisch verfolgt, wobei sich zeigte, daß sehr bald alle später zu beschreibenden Oxydationsprodukte auftraten, während das Nicotellin allmählich abnahm, ohne ganz zu verschwinden.

Um eine verbesserte Angreifbarkeit zu erzielen, wurde Nicotellin bei einem Versuch erst mit Bromcyan bei Zimmertemp. 1 Std. stehen gelassen und das unansehnliche Reaktionsprodukt in gleicher Weise oxydiert, doch traten wieder die gleichen Reaktionsprodukte auf; die Oxydation verlief dabei aber rascher.

Für den Hauptversuch wurden also ohne Verwendung von Bromcyan 25 mg Nicotellin wie oben oxydiert. Nach Beendigung der Oxydation wurde filtriert, das abgeschiedene  $\text{MnO}_2$  2mal mit je 6 ml Wasser ausgekocht, mit der Oxydationsflüssigkeit vereinigt und alles auf 3 ml eingengt. Von dieser Menge können viele Dutzend Papierchromatogramme angefertigt werden. Wir gingen so vor, daß mit einigen Tropfen Eisessig auf  $\text{pH} = 5$  gebracht und die Hälfte direkt chromatographiert wurde, während die zweite Hälfte zur Trockne verdampft und mit 3mal je 3 ml Butanol-(2) digeriert, filtriert und auf 1 ml eingengt wurde. Beide Aufarbeitungsmethoden gaben dieselben Ergebnisse im Papierchromatogramm.

Zunächst wurden Lösungsmittel wie A 2, A 7, C 6, D 3 und D 6 verwendet. Wir fanden darin eine Anzahl Flecke, die durch ihre Farbreaktionen mit Ferrosalz bzw. mit Bromcyan und Benzidin (*Königsche* Reaktion) auf die Anwesenheit einer  $\alpha$ -ständigen Carboxylgruppe bzw. auf die eines nicht in  $\alpha$  carboxylierten Pyridinringes untersucht werden konnten. In Verbindung mit ihren  $h R_f$ -Werten konnten sie mit den angegebenen Verbindungen identifiziert werden.

Die Papierchromatogramme zeigen also die Anwesenheit einer Verbindung, welche sowohl die Ferrosalzreaktion als auch *Königsche* Reaktion zeigt (Verbindung Y, Formel VIII), ferner eine Verbindung T, welche nur mit Ferrosalz, aber nicht mit Bromcyan und Benzidin reagiert; diese Verbindung gibt untypische und verfälschte  $h R_f$ -Werte, wenn man nicht in salzsauren Lösungsmitteln (B 1 bis B 4) arbeitet; in diesen jedoch ist sie einwandfrei als Pyridin-2,4-dicarbonsäure zu identifizieren. Unter den Verbindungen, welche zwar positive *König*-Reaktion, aber keine Färbung mit Ferrosalz geben, ist stets Nicotinsäure und meist auch nicht oxydiertes Nicotellin zu erkennen.



Tabelle 2.  $hR_f$ -Werte der Oxydationsprodukte

Gemisch	Farbreaktion mit Fe <sup>++</sup> und nach König positiv	Nur mit Fe <sup>++</sup> positive Farbreaktion	Nur positive König- Reaktion
A 2 . . . . .	38 (Substanz Y)	59 (Substanz T)	60 <sup>11</sup> , 44 <sup>12</sup> , 22
A 7 . . . . .	42 ( „ „ )	25 ( „ „ )	84 <sup>12</sup> , 72 <sup>11</sup> , 18
C 6 . . . . .	25 ( „ „ )	01 ( „ „ )	82 <sup>12</sup> , 47 <sup>11</sup>
D 3 . . . . .	70 ( „ „ )	48 ( „ „ )	91 <sup>12</sup> , 81 <sup>11</sup>
D 6 . . . . .	34 ( „ „ )	14 ( „ „ )	81 <sup>12</sup> , 75, 56 <sup>11</sup>
B 1 . . . . .	12 ( „ „ )	73 <sup>13</sup>	40 <sup>11</sup>
B 2 . . . . .	33 ( „ „ )	80 <sup>13</sup>	60 <sup>11</sup>
B 3 . . . . .	02 ( „ „ )	46 <sup>13</sup>	14 <sup>11</sup>
B 4 . . . . .	05 ( „ „ )	56 + 66 <sup>13</sup>	20 + 68 <sup>11</sup>

Um festzustellen, ob die beiden Farbreaktionen der Substanz Y auf eine einzige oder eventuell auf zwei verschiedene Verbindungen zurückzuführen sind, wurden zweidimensionale Papierchromatogramme mit den Lösungsmitteln A 7, dann A 2 angefertigt, welche die Einheitlichkeit von Y bestätigen. Dagegen tritt ein neuer Fleck mit positiver König-Reaktion auf, der mit Ferrosalz nicht reagiert und im Lösungsmittel A 7 von Nicotinsäure, in A 2 von Nicotellin verdeckt wird.

#### Beweis der Konstitution von Y (Formel VIII)

Eine größere Menge Oxydationsflüssigkeit wurde entlang der Startlinie eines Papierchromatogrammes aufgetragen und mit A 7 laufen gelassen. Durch Probestreifen wurde die Lage von Y festgestellt, der entsprechende Streifen herauspräpariert und in kleine Stücke geschnitten, die mit 40 ml Alkohol eluiert wurden.

Die alkohol. Lösung wurde stark eingengt und in einem in eine kleine Kugel endigenden Röhrchen zur Trockne gebracht. Der sehr geringe, weiße Trockenrückstand wurde im Metallbad 1 Std. auf 230° erhitzt, nach dem Erkalten in wenig Alkohol aufgenommen und mit dem Lösungsmittel A 7 papierchromatographiert. Dabei zeigte sich ein einziger Fleck, der in Lage und Farbreaktionen mit Y identisch war, das heißt also, daß die Abspaltung der  $\alpha$ -Carboxylgruppe nicht gelungen war. Nun wurde nochmals wie oben erhitzt, jedoch 15 Min. auf 300°. Diesmal trat im Papierchromatogramm neben Ausgangsmaterial ein neuer Fleck (Y<sub>D</sub>, das heißt Decarboxylierungsprodukt von Y) auf, und nach neuerlichem Erhitzen (15 Min. auf 360°) ließ sich kein Y mehr nachweisen, während nun der Fleck von Y<sub>D</sub> stark auftrat. Y<sub>D</sub> gibt mit Ferrosalz keine Färbung, enthält also keine  $\alpha$ -Carboxylgruppe, reagiert dagegen in der König'schen Reaktion auf Pyridinringe positiv. Die schwere Abspaltbarkeit der  $\alpha$ -Carboxylgruppe ist auffällig.

<sup>11</sup>  $hR_f$ -Wert und Farbreaktion entsprechen der Nicotinsäure.

<sup>12</sup>  $hR_f$ -Wert und Farbreaktion entsprechen dem Nicotellin.

<sup>13</sup>  $hR_f$ -Wert und Farbreaktion entsprechen der Pyridin-2,4-dicarbonsäure.

Die  $hR_f$ -Werte von  $Y_D$  werden durch Zugabe einer Spur Sodalösung zur Probelösung nicht verändert, es handelt sich also nicht um eine Pyridindicarbonsäure, deren  $hR_f$ -Werte alkaliabhängig sind.

### Papierchromatographie von Bipyridylen

Um die Identifizierung von  $Y_D$  mit einem der bekannten Bipyridyle (vor allem kam  $\beta, \beta'$ - und  $\beta, \gamma'$ -Bipyridyl in Betracht) durchführen zu können, wurde das papierchromatographische Verhalten einiger Bipyridyle untersucht. Es zeigte sich, daß nur wenige Lösungsmittel zur Trennung der Isomeren geeignet sind, in manchen Solvenssystemen treten sie aber zu Gruppen zusammen, die sich voneinander gut abheben. Auch die Farb-reaktion mit Bromcyan (also ohne Zusatz einer aromatischen Base) sowie die *Königsche* Reaktion (Bromcyan + arom. Base, wir verwendeten Benzidin) gestattet eine Differenzierung zwischen Bipyridylen.

Das hier verwendete Lösungsmittel A 4 besteht aus Butanol-(1), Ameisensäure (Azeotrop) und Wasser im Verhältnis 6 : 2 : 1 (vol.).

Die gefundenen  $hR_f$ -Werte sind:

	A 2	A 4	A 7	C 6	C 7
2,2'-Bipyridyl.....	64	63	88	91	91
2,3'-Bipyridyl.....	68	67	87	88	91
3,3'-Bipyridyl.....	41	44	81	82	87
4,4'-Bipyridyl.....	40	42	82	82	88
$Y_D$ (3,4'-Bipyridyl) ..	41	—	74	79	—

Die Färbungen der isomeren Bipyridyle mit Bromcyan allein (bzw. mit Bromcyan und Benzidin) sind folgende: 2,2'-Bipyridyl: gelb, dann olivgrün (gelb); 2,3'-Bipyridyl: ocker (gelbbraun); 3,3'-Bipyridyl: gelb (rot); 4,4'-Bipyridyl: beige (blau). Die Substanz  $Y_D$  färbt sich mit Bromcyan orange, mit Bromcyan und Benzidin weinrot. Ihre Nichtidentität mit 3,3'-Bipyridyl ist nicht zu bezweifeln.

2,3'-Bipyridyl fluoresziert im Licht der Analysenquarzlampe grüngelb; nach Behandlung mit Bromcyandampf fluoresziert  $Y_D$  stark gelbgrün, 3,3'-Bipyridyl erst bei Vorliegen größerer Mengen schwach grün. Eine spezifische Farbreaktion zeigt bekanntlich noch das 2,2'-Bipyridyl mit Eisensalzen.

### Oxydation des synthetischen Produktes von *Kuffner* und *Kaiser*

10 mg des als 3,2';4',3''-Terpyridyl angesprochenen synthetischen Produktes<sup>1</sup>, das jetzt als Gemisch erkannt wurde (siehe oben), wurden in ähnlicher Weise wie das Nicotellin oxydiert und papierchromatographiert. In den Lösungsmitteln B 1 bis B 4 konnte die Pyridin-2,6-dicarbonsäure einwandfrei nachgewiesen werden, in B 1 trat sehr schwach auch der Fleck der Pyridin-2,4-dicarbonsäure auf. Sicher nachgewiesen wurde auch Nicotinsäure, daneben traten in A 2, A 7 und D 3 noch Flecke von Verbindungen auf, welche teils Ferrereaktion auf  $\alpha$ -Carbonsäuren von Pyridinderivaten,

teils *König*-Reaktion, teils beide gaben, schließlich auch eine mittels Bromphenolblau nachweisbare Säure, welche die beiden Pyridinreaktionen nicht gab.

Herrn Prof. *Schöpf* danken wir verbindlichst für die Überlassung einer Probe der synthetischen Verbindung I, Herrn *F. Grass* (I. Chem. Institut der hiesigen Universität) für Aufnahme und Interpretation des Infrarotspektrums; der Österr. Tabak-Regie sind wir für die wertvolle Unterstützung der vorliegenden Untersuchungen und ganz besonders für die Überlassung des Originalpräparats von Nicotellin (hergestellt von Dr. *E. Noga*) zu größtem Dank verpflichtet.