

Notiz zum mikrobiologischen Abbau des Nicotins

Von

Friedrich Kuffner* und **Dorothea Kallina**

Aus dem II. Chemischen Institut der Universität Wien

(Eingegangen am 25. Februar 1958)

Zwei von A. Wenusch bei der Einwirkung von Tabaksamen bzw. Tabakwurzeln und Wurzeln einer *Lapsana*-Species auf Nicotin erhaltene Pikrate sind wahrscheinlich miteinander dimorph. Die ihnen zugrundeliegende Base ist identisch mit der von Wada und Yamasaki beim mikrobiologischen Abbau des Nicotins gewonnenen und als 3-Nicotinoylpropionsäure identifizierten Verbindung.

1942 berichtete A. Wenusch¹ über den Abbau von Nicotin (in schwach phosphorsaurer Lösung) mit Hilfe von Tabaksamen, wobei diese vermutlich nur als Träger von Mikroorganismen Bedeutung hatten. Er fand bei diesen Pionierarbeiten, daß neben intensiv gefärbten Abbauprodukten auch Pyridinderivate entstehen, von welchen sich einige vom Nicotin dadurch unterscheiden, daß sie mit Wasserdampf nicht flüchtig sind.

Einen ähnlichen Abbau des Nicotins konnte Wenusch auch mit Tabakwurzeln durchführen, ja sogar mit der Wurzel einer nicht zu den Solanaceen gehörenden Pflanze, *Lapsana communis* (Compositae). Leider ist diese letzte Arbeit², welche Wenusch auf diesem Gebiet veröffentlicht hat, in den Registern der Chemical Abstracts (und in denen des Chemischen Zentralblattes, soweit sie erschienen sind) nicht referiert, so daß sie weitestgehend unbekannt geblieben ist.

Eine Anzahl der Pikrate, mittels welcher Wenusch in mühsamer Arbeit die Abbauprodukte des Nicotins in Fraktionen aufgespalten hat, wurde uns in dankenswerter Weise von der Österreichischen Tabak-Regie (Austria Tabakwerke A. G.) zur Verfügung gestellt, so daß wir an ihre Untersuchung gehen konnten. Sie war durch die geringen zur Verfügung stehenden Mengen erschwert.

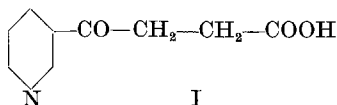
* Herrn Prof. Dr. L. Schmid zum 60. Geburtstag gewidmet.

¹ A. Wenusch, Z. Untersuch. Lebensm. **84**, 429, 498 (1942); **86**, 251 (1943).

² A. Wenusch, Wiener Chemiker-Ztg. **47**, 194 (1944).

Zunächst wurde von der recht scharf schmelzenden Fraktion Lu 1 (Bezeichnung von *Wenusch*²) die C,H-Bestimmung durchgeführt. Obwohl ihr Ergebnis auf das Pikrat eines Picolins hinwies und der Schmp. mit dem des β -Picolins Ähnlichkeit hatte, zeigte die papierchromatographische Prüfung (nach *F. Kuffner* und *N. Faderl*³), welche Herr Dr. *Faderl* durchführte, daß es sich um eine andere Verbindung handeln müsse. Wir dachten dann zunächst an eine Verbindung vom Typ $\text{Py} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{Py}$, deren Pikrat etwa die gleichen Analysenwerte geben müßte wie ein Picolinpikrat.

E. Wada und *K. Yamasaki*⁴ haben durch mikrobiologischen Abbau (wahrscheinlich mit einer *Pseudomonas*-Species) Nicotin in Pseudooxynicotin und eine Säure umwandeln können, welche sie durch Abbau als 3-Nicotinoyl-propionsäure (I) erkannten. Diese Säure I befand sich auch unter den Produkten, welche später *W. G. Frankenburg* und *A. A. Vaitekunas*⁵ unter ähnlichen Bedingungen wie *Wenusch* erhalten haben.



Da sich für das von diesen Autoren^{4,5} nicht beschriebene Pikrat der Säure I C,H-Werte errechnen, welche ebenfalls mit den von uns experimentell gefundenen befriedigend übereinstimmen, haben wir die Säure I nach einer von *R. N. Castle* und *A. Burger*⁶ beschriebenen Methode synthetisiert und durch Bestimmung des Schmelzpunktes und die Mischprobe festgestellt, daß *Wenuschs* Lu 1 tatsächlich das Pikrat der Säure I vorstellt. Wir haben das Pikrat durch Umwandlung in die freie Säure I und in deren Methylester mit den entsprechenden synthetischen Verbindungen weiter identifiziert, ferner durch papierchromatographischen Vergleich in mehreren Lösungsmittelsystemen.

Da der Schmelzpunkt eines mittels Tabakwurzeln² gewonnenen Pikrates T 2 ähnlich lag wie der von Lu 1, welches mittels Lapsanawurzel hergestellt worden war, haben wir auch das Pikrat T 2 papierchromatographisch untersucht und die Identität seiner Base mit der Aminosäure I nachweisen können.

Einen wesentlich höheren Schmp. weist eine Pikratfraktion auf, welche *Wenusch* mittels Tabaksamen erhalten hatte und die er als T's u 3

³ *F. Kuffner* und *N. Faderl*, *Mh. Chem.* **86**, 1003 (1955).

⁴ *E. Wada* und *K. Yamasaki*, *J. Amer. Chem. Soc.* **76**, 155, (1954).

⁵ *W. G. Frankenburg* und *A. A. Vaitekunas*, *Arch. Biochem. Biophys.* **58**, 509 (1955).

⁶ *R. N. Castle* und *A. Burger*, *J. Amer. Pharmac. Assoc.* **43**, 165 (1954).

bezeichnet hat. Die Analyse dieses Pikrates gab Werte, welche ebenfalls für das Pikrat der 3-Nicotinoylpropionsäure I sprachen, die papierchromatographische Untersuchung bestätigte die Identität, auch die Infrarotspektren von Lu 1, Ts u 3 und der synthetischen Verbindung waren identisch. Es muß sich also hier wohl um eine polymorphe Form des Pikrates der Säure I handeln. Tatsächlich konnte durch Zersetzen des Pikrates Ts u 3 die freie Säure hergestellt werden, die ebenso wie ihr Methyl-ester die Mischprobe mit den entsprechenden synthetischen Verbindungen und den aus Lu 1 gewonnenen Derivaten hielt.

Eine Probe von Lu 1 wurde in heißem Alkohol gelöst und mit dem höher schmelzenden Ts u 3 geimpft. Die ausfallenden Kristalle von Lu 1 zeigten nunmehr den Schmp. des Ts u 3; eine umgekehrte Impfung (Lösung von Ts u 3 mit Lu 1 geimpft) gab weniger befriedigende Ergebnisse.

Die vorliegende Untersuchung schlägt eine Brücke zwischen den Arbeiten von *Wenusch*, *Wada* und *Frankenburg*. Sie wurde dadurch ermöglicht, daß uns die Austria Tabakwerke A. G. (Österreichische Tabak-Regie) Originalpräparate von Dr. A. *Wenusch* zur Verfügung stellte. Hiefür und für Förderung durch Gewährung eines Forschungsstipendiums sind wir ihr zu großem Dank verpflichtet. Ferner haben wir Herrn Dr. K. *Schick* zu danken, der uns auf eine wichtige Arbeit von *Wenusch*² hingewiesen hat. Die Mikroanalysen hat Herr Doz. Dr. G. *Kainz* ausgeführt.

Experimenteller Teil

Analysen: Sowohl das Pikrat Lu 1 als auch Ts u 3 zeigten die von *Wenusch*² vor 13 Jahren ermittelten Schmp. Beide Pikrate waren papierchromatographisch einheitlich (hinsichtlich der Basen, welche die *Königsche* Reaktion mit Bromcyan geben).

Lu 1. Gef. C 44,51, H 2,96

Ts u 3. Gef. C 44,12, H 3,05

$C_9H_9NO_3 \cdot C_6H_3N_3O_7$. Ber. C 44,31, H 2,96

Synthese der 3-Nicotinoyl-propionsäure (I): In Anlehnung an die Vorschrift von *Castle* und *Burger*⁶ wurden 4,1 g fein pulverisiertes $NaNH_2$ mit wenig absol. Äther überschichtet und auf dem Wasserbade unter gutem Rühren 8,32 g Nicotinsäure-äthylester ($n_D^{20} = 1,5010$), gemischt mit der Hälfte der ber. Menge Bernsteinsäure-äthylester (8,75 g) langsam zutropfen gelassen; dann wurde der Rest des Bernsteinsäureesters (nochmals 8,75 g) langsam eingetroppt. Aus dem Reaktionsgemisch, das sich erst gelb, dann orange färbte, fiel ein gelber Niederschlag aus; nach 1 stdg. Erwärmen wurde mit absol. Äther verdünnt, unter Kühlung genau die berechnete Menge Eisessig zugesetzt und schließlich Eiswasser zugefügt. Die erhaltene klare neutrale Lösung wurde zweimal mit Äther ausgeschüttelt, der Äther mit $NaHCO_3$ getrocknet und abdestilliert. Nachdem der Succinoyl-bernsteinsäureester abgesaugt worden war, der als Nebenprodukt entsteht, wurde im Feinvakuum destilliert und nach einem Vorlauf das Hauptprodukt, 2-Nico-

tinoylbernsteinsäure-diäthylester, überdestilliert. Ausbeute 7,86 g, d. i. 70% d. Th.

Die Umwandlung in die 3-Nicotinoyl-propionsäure (I) erfolgte nach der Vorschrift von *Castle* und *Burger*⁶. Der Schmp. dieser Säure sowie der ihres Oxims⁶, des Methylesters⁶ und des Semicarbazons⁴ stimmte mit den Literaturangaben überein.

Als neues Derivat wurde in Äthanol das Pikrat dargestellt. Schmp. (aus Äthanol): 138—141°.

Papierchromatographische Reinheitskontrolle. Die Kurzbezeichnung der verwendeten Lösungsmittelsysteme stimmt mit unseren früheren Angaben^{7, 8} überein. Die hR_f -Werte lagen bei:

Lösungsmittel	A 7	E 1	L 1	L 2	L 3	L 6	S 2
L u 1 (zersetzt mit Diisopropylamin) ⁷	79	83	14	73	74	64	11
T s u 3 (zersetzt mit Diisopropylamin) ⁷	79	83	14	73	74	64	11
Pikrat der synthet. Säure I (zersetzt mit Diisopropylamin) ⁷	79	83	14	73	74	64	11
T 2 (zersetzt mit Diisopropylamin) ⁷	79	83	14	73	74	64	11
2-Nicotinoylbernsteinsäure-diäthylester	88		91		91		90

Der zuletzt genannte Ester enthielt etwas Nicotinsäure, wie die Papierchromatogramme zeigten.

Dimorphie des Pikrates der 3-Nicotinoyl-propionsäure (I): Das Pikrat L u 1 gab im Gemisch mit dem Pikrat der synthet. Säure I keine Schmp.-Depression. Die daraus gewonnene freie Ketosäure und deren Methylester zeigten den gleichen Schmp. wie die synthet. Produkte und hielten die Mischprobe damit.

Das um etwa 20° höher schmelzende Pikrat T s u 3 gab bei der Zerlegung die gleiche Ketosäure I, wie Schmp. der Säure und des Methylesters sowie die Mischproben ergaben.

Durch Umlösen des Pikrates L u 1 und Animpfen mit T s u 3 konnte ein Pikrat erhalten werden, das den gleichen Schmp. besaß wie T s u 3 und die Mischprobe hielt.

⁷ *F. Kuffner, K. Schick* und *H. Bühn*, Mh. Chem. **87**, 749 (1956).

⁸ *F. Kuffner* und *N. Faderl*, Mh. Chem. **86**, 995 (1955).