

ÜBER DEN MECHANISMUS DER WASSERSTOFFÜBERTRAGUNG MIT

PYRIDINNUCLEOTIDEN - XVIII.<sup>1</sup>

NICHTENZYMATISCHE REDUKTION VON BRENZTRAUBENSÄURE MIT EINEM DPNH-MODELL

K. Wallenfels und D. Hofmann

Chemisches Laboratorium der Universität Freiburg i.Br.

(Received 5 August 1959)

VOR kurzem zeigten Abeles und Westheimer,<sup>2</sup> dass  $\alpha$ -Ketosauren durch Erhitzen mit 2,6-Dimethyl-3,5-dicarbäthoxy-1,4-dihydropyridin, das man durch Hantzsch-Synthese erhält, zu  $\alpha$ -Hydroxysäuren reduziert werden können. Die Reaktion verläuft unter direktem H-Transfer. Mit echten DPNH-Modellen, d.h. 1,4-Dihydropyridinen, die am Stickstoff alkyliert sind, konnte eine derartige Reaktion bisher nicht durchgeführt werden. Wie wir jetzt gefunden haben, lässt sich Brenztraubensäure unter analogen Bedingungen, wie sie Abeles und Westheimer benutzten, und mit etwa gleicher Ausbeute reduzieren, wenn das in der XIV. Mitteilung<sup>3</sup> dieser Reihe beschriebene

---

<sup>1</sup> XVII. Mitteilung: K. Wallenfels und M. Gellrich, Chem. Ber. 92, 1406 (1959).

<sup>2</sup> R. Abeles und F. H. Westheimer, J. Amer. Chem. Soc. 80, 5459 (1958); D. Mauzerall und F. H. Westheimer, J. Amer. Chem. Soc. 77, 2261 (1955).

<sup>3</sup> K. Wallenfels, D. Hofmann und H. Schüly, Liebigs Ann. 621, 188 (1959).

$N_1$ -(2,6-Dichlorbenzyl)-5-(2,4-dinitrophenylsulfenyl)-1,4-dihydronicotinsäureamid (I) als Wasserstoffdonator benutzt wird.

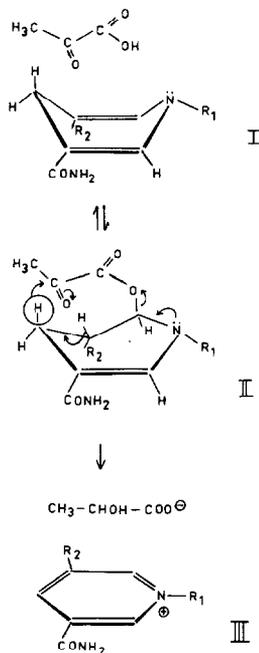
Wir erhitzen das Dihydropyridin 24 Std. lang mit Brenztraubensäure im geschlossenen Rohr auf 80° und bestimmten anschliessend die gebildete Milchsäure mit Hilfe der DPN<sup>+</sup>-unabhängigen Milchsäuredehydrogenase nach Wieland.<sup>4</sup> Hierbei stört, wie wir uns überzeugt haben, auch ein grosser Überschuss von Brenztraubensäure nicht. Die Ausbeute betrug, auf Dihydropyridin berechnet, 5-7%. Ausserdem wurde die Milchsäure papierchromatographisch aus dem Reaktionsgemisch abgetrennt und nachgewiesen. Ein Kontrollversuch unter gleichen Bedingungen ohne Dihydropyridin, liess keine Spur von Milchsäurebildung erkennen. Wir sind daher sicher, dass auch in unserem Falle ein H-Transfer vom Dihydropyridin zur Ketosäure stattgefunden hat.

Die Primärreaktion dürfte in einer Addition von Brenztraubensäure an die C<sub>5</sub>,C<sub>6</sub>-Doppelbindung des Dihydropyridins bestehen. Ein derartiges Addukt, das ein Tetrahydropyridinderivat darstellt, lässt sich präparativ durch gelindes Erwärmen des roten Dihydropyridins (I) mit Brenztraubensäure gewinnen. Es kristallisiert in gelben Nadeln (Fp:140-143°C Zers.) und spaltet beim Erwärmen in Methanol 1 Mol Brenztraubensäure ab, die mit Milchsäuredehydrogenase und DPNH<sup>5</sup> bestimmt wurde. Das rote Dihydropyridin (I) wird quantitativ zurückerhalten.

---

<sup>4</sup> O. Wieland, Biochem. Z. 329, 568 (1958).

<sup>5</sup> F. Kubowitz und P. Ott, Biochem. Z. 314, 94 (1943).



$R_1 = 2,6\text{-Dichlorbenzyl}$

$R_2 = 2,4\text{-Dinitrophenylsulfenyl}$

Wir formulieren daher die beschriebene Wasserstoffübertragung, die als Modellfall für die enzymatische Reduktion von  $\alpha$ -Ketosäuren angesehen werden kann, als intramolekulare Hydridwanderung vom  $C_4$ -Atom des Tetrahydropyridinringes zur polarisierten Carbonylgruppe im Addukt (II).<sup>6</sup>

Durch Abspaltung des Lactatrestes bildet sich unmittelbar das durch Resonanz bevorzugte Pyridiniumlactat (III). Die Isolierung des kristallisierten Intermediärproduktes (II) stellt somit eine neue Stütze für die Annahme eines polaren Mechanismus der Wasserstoffübertragung mit Pyridinnucleotiden dar.<sup>7</sup>

Wir danken Herrn Professor Dr. O. Wieland, München, für die Überlassung der Milchsäuredehydrogenase und Herrn F. Kubowitz für die Ausführung der enzymatischen Tests.

---

<sup>6</sup> Wir formulieren das Addukt in der angegebenen Weise auf Grund von Studien am Stuart-Briegleb-Kalotten-Modell.

<sup>7</sup> Siehe dazu: K. Wallenfels in Steric Course of Microbiological Reactions S. 10-36. Churchill, London (1959).