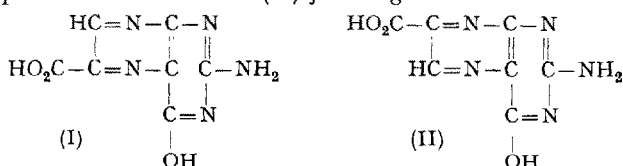


ein Vorgang, der in der organischen Chemie wohl noch kein Analogon haben dürfte. Die skizzierten Reaktionen werden zur Zeit zum Abbau und Aufbau von Naturprodukten der Indolklasse benutzt.

### Papierchromatographische Trennung von 2-Amino-6-oxy-pteridin-carbonsäure-8 und 2-Amino-6-oxy-pteridin-carbonsäure-9

Bei der Synthese von 2-Amino-6-oxy-pteridinen mit Seitenketten in 8- oder 9-Stellung kann die Stellung der Seitenkette durch deren Oxydation zur Carboxylgruppe erkannt werden, wobei die in der Überschrift genannten Säuren entstehen<sup>1</sup>. Auch 2,6-Diamino-pteridine mit Seitenketten in 8- oder 9-Stellung geben bei der mit alkalischem Permanganat durchgeführten Oxydation die gleichen Carbonsäuren, wobei die 6ständige Amino-Gruppe gegen eine OH-Gruppe ausgetauscht wird<sup>2</sup>. Die Identifizierung der durch Umkristallisieren der Natriumsalze gereinigten Säuren erfolgt durch das UV-Spektrum. Liegt ein Gemisch der beiden Säuren vor, so wird das Mengenverhältnis bei dieser Reinigung verschoben<sup>3</sup>. Insbesondere können so kleine Anteile einer Säure vollständig verschwinden.

Die beiden Säuren unterscheiden sich auch durch Fluoreszenz in verdünnter, schwach alkalischer Lösung. Das Natriumsalz der 2-Amino-6-pteridin-carbonsäure-8 (I) fluoresziert himmelblau, das der 2-Amino-6-oxy-pteridin-carbonsäure-9 (II) jedoch grün<sup>3</sup>.



Um auch in den *Rohsäuren* I und II bzw. in Gemischen von beiden die Säuren identifizieren zu können, haben wir die papierchromatographische Trennung herangezogen. Entscheidend war die Auffindung eines geeigneten Lösungsmittels. Bewährt hat sich ein Gemisch von 80 Vol. sek. Butanol, 20 Vol. 90%iger Ameisensäure und 50 Vol. Wasser. Die Säuren wurden in 0,5-n Ammoniak gelöst, je ein Tropfen (0,0025 cm<sup>3</sup>) einer fallenden Konzentrationsreihe wurde auf Whatman-Papier Nr. 1 gebracht. Nach dem Trocknen der Flecken mit warmer Luft wurde 6–10 Stunden lang mit dem oben angegebenen Gemisch aufsteigend (im Exsikkator) entwickelt. Nach dem Trocknen des Papiers im Vakuumtrockenschrank bei 100° wurde mit 2-n Sodalösung besprüht, wodurch die Fluoreszenz der Flecken im gefilterten Licht der Quarzlampe verstärkt wurde. Die blau fluoreszierende 8-Carbonsäure (I) wandert schneller (R<sub>F</sub>-Wert z. B. 0,39–0,40) als die grün fluoreszierende 9-Carbonsäure (R<sub>F</sub>-Wert z. B. 0,26–0,31). Die verwendeten Säurekonzentrationen in Prozent waren: 0,05, 0,01, 0,001 und 0,0001. Bei der zuletzt genannten Konzentration waren die Säuren gerade noch erkennbar. Bei der Konzentration von 0,001% wandern beide Säuren sehr gut sichtbar nach oben, während bei den größeren Konzentrationen ein Teil der Säuren sitzenbleibt. Bei 0,01%iger Lösung wandert I noch nach oben, während die Säure II zum größten Teil nicht wandert. Sie ergibt sich an der Startstelle außer durch die grüne Fluoreszenz im UV-Licht nach dem Besprühen des Papiers mit ver-

dünnter Sodalösung auch als gelber Fleck im Tageslicht zu erkennen. In Gemischen der beiden Säuren kann man noch 2% der Säure I neben 98% von II und umgekehrt noch etwa 5% der Säure II neben 95% von I erkennen. Durch Vergleich mit Gemischen bekannten Gehaltes kann man in unbekannten Gemischen eine Abschätzung der Isomergehalte vornehmen.

Die reinen Säuren I und II wurden folgendermaßen erhalten. Säure I: Reinste Folsäure wurde mit alkalischem Permanganat oxydiert. Schon die Rohsäure gab bei der Papierchromatographie nur einen himmelblau fluoreszierenden Flecken. Säure II: Sie wurde aus 2-Amino-6-oxy-9-methyl-pteridin (aus Methylglyoxal) durch Oxydation mit alkalischem Permanganat in der Hitze erhalten. Erst mehrmaliges Umkristallisieren als Natriumsalz aus Natronlauge lieferte die reine 9-Säure, die nur einen grün fluoreszierenden Flecken ergab.

Von den beiden Carbonsäuren I und II unterscheiden sich alle anderen geprüften 2-Amino-6-oxy-8- oder 9-Methyl-, Oxymethyl-, Formyl- und Carboxymethyl-pteridine durch größere R<sub>F</sub>-Werte. Folsäure, die nicht fluoresziert, wandert ebenfalls schneller. Man erkennt sie als dunklen Fleck bei der Durchstrahlung des Papiers infolge Absorption von UV-Licht.

Um festzustellen, ob reine Säure I bzw. II oder ein Gemisch bei der Oxydation der zugrunde liegenden Pteridine erhalten worden ist, darf natürlich eine Fraktionierung der Säuren nicht vorgenommen werden. Wir gehen so vor, daß nach der Oxydation der Permanganatüberschuß mit wenig Alkohol zerstört wird, worauf nach Abtrennung des Braunsteins mit Essigsäure angesäuert wird. Die äußerst schwer löslichen Säuren fallen beim Stehen im Eisschrank praktisch vollständig aus. Sie werden aus verdünntem Ammoniak und Essigsäure einmal umgefällt, gewaschen und getrocknet. Bei dieser Arbeitsweise findet keine Verschiebung in der Zusammensetzung statt. Man stellt 0,5%ige Lösungen in Ammoniak her und verdünnt diese mit 0,5-n Ammoniak weiter.

Mit der hier beschriebenen Methodik hat sich gezeigt, daß keines der Kondensationsprodukte von 2,4,5-Triamino-6-oxy-pyrimidin mit C<sub>3</sub>-Körpern vollständig einheitlich ist. Insbesondere konnte der schon von KARRER und SCHWYZER<sup>1</sup> auf andere Weise erhobene Befund bestätigt werden, daß bei der Kondensation von Triamino-oxy-pyrimidin mit Methylglyoxal neben 2-Amino-6-oxy-9-methyl-pteridin auch erhebliche Mengen der 8-Methyl-Verbindung mit entstehen.

Bezüglich der in einer früheren Mitteilung<sup>2</sup> angeführten Kondensationsprodukte von Dioxyceton-diacetat und Aceton-1,3-di(p-formylaminobenzoessäure) mit Triamino-oxy-pyrimidin hat sich mit dem hier geschilderten Verfahren ergeben, daß sie in der Hauptsache aus 2-Amino-6-oxy-9-methyl-pteridin mit einigen Prozenten der isomeren 8-Methyl-Verbindung bestehen.

F. WEYGAND, A. WACKER und V. SCHMIED-KOWARZIK

Chemisches Institut der Universität Heidelberg, den 9. Februar 1950.

#### Summary

By using a solvent mixture of 80 vol. sec. butanol, 20 vol. formic acid (90%), and 50 vol. water, the separation of 2-amino-6-hydroxy-pteridin-carboxylic acid-8 and -9 by paper partition chromatography is possible. In mixtures both acids can readily be distinguished by their different fluorescence (blue and green) after chromatographic separation. By condensation of 2,4,5-triamino-6-hydroxy-pyrimidine with C<sub>3</sub>-compounds mixtures of 8- and 9-isomers (sometimes containing only a few percent of one isomer) are always obtained.

<sup>1</sup> J. H. MOWAT *et al.* J. Amer. Chem. Soc. 70, 14 (1948).

<sup>2</sup> D. R. SEEGER *et al.* J. Amer. Chem. Soc. 71, 1753 (1949).

<sup>3</sup> H. S. FORREST und J. WALKER, J. Chem. Soc. (London) 1949, 2077.

<sup>1</sup> P. KARRER und R. SCHWYZER, Helv. chim. acta 32, 423 (1949).

<sup>2</sup> F. WEYGAND, A. WACKER und V. SCHMIED-KOWARZIK, Exper. 4, 427 (1948).