

*Lactobacillus helveticus* are commercially available. Besides the satisfactory yields of purine and pyrimidine deoxyribosides another advantage of the described method is the application of non-buffered chromatographic solvents. This makes it possible to obtain deoxyribosides without significant amounts of salts.

The authors are indebted to Dr. Havelka from the Institute for Dairy Cultures in Prague for useful information dealing with this work.

Z. NEJEDLÝ, J. EKL and J. FÍLÍP

Institute for Research, Production and Application of Radioisotopes  
Prague, Czechoslovakia

#### REFERENCES

1. CARDINAUD, R. and VISWANATHAN, K. V. — *J. Labelled Compounds*, Vol. II, 1 (1966).
2. NEJEDLÝ, Z., FÍLÍP, J. and EKL, J. — *Radioisotopy (Prague)*, Vol. 6, 125 (1965).
3. ROUSH, A. H. and BETZ, R. F. — *J. Biol. Chem.*, **233** : 261 (1958).
4. LOWRY, O. H., ROSENBOUGH, N. I., FARR, A. L. and RANDALL, R. J. — *J. Biol. Chem.*, **193** : 265 (1951).
5. WILLIAMS, D. L. — *Can. J. Chem.*, **40** : 1742 (1962).

## Isotopenaustausch des Sauerstoffheteroatoms in Pyryliumsalzen

Empfangen am 23. November 1966

#### EINLEITUNG

In früheren Arbeiten <sup>(1)</sup> wurde der Isotopenaustausch von Ringen und Seitenketten Wasserstoffatomen der Pyryliumsalze eingehend studiert. Auch <sup>14</sup>C-markierten Pyryliumsalzen wurden synthetisiert <sup>(2)</sup>.

Die Literatur enthält keine experimentelle Hinweise auf einen Sauerstoff — Isotopenaustausch des Ringen Sauerstoffatoms der Pyryliumsalze, obwohl die Vermutung eines solchen Austausches aus theoretischen Gründen ausgesprochen wurde <sup>(3)</sup>. Deshalb beschlossen wir, den Isotopenaustausch zwischen dem 2,4,6-Trimethylpyryliumperchlorat (I) und H<sub>2</sub><sup>18</sup>O zu untersuchen. Es wurde bewiesen <sup>(4)</sup> dass das Perchlorat-Ion in unseren Versuchsbedingungen keinen Isotopenaustausch mit H<sup>218</sup>O nachweist.

## ERGEBNISSE

Zur Markierung des 2,4,6-Trimethylpyrylium-ions (I) durch Austausch mit  $\text{H}_2^{18}\text{O}$ , 0,2 g I wurden auf dem siedenden Wasserbad mit 2 ml  $\text{H}_2^{18}\text{O}$  ( $3,99 \pm 0,04\%$   $^{18}\text{O}$ -Gehalt) erhitzt, nach bestimmter Zeit die Lösung im Eiswasser abgekühlt, das wieder ausgeschiedene I abfiltriert und in Vakuum über  $\text{P}_2\text{O}_5$  getrocknet (Methode A).

Für präparative Zwecke wurden 10 g I mit 20 ml  $\text{H}_2^{18}\text{O}$  in Bombenrohr eingeschmolzen und für längere Zeit auf  $90-95^\circ$  gehalten. Nach der Auskühlung wurde der Rohrinhalt abfiltriert, und da I während des längeren Erhitzens gewisse Zersetzung erleidet, (es bilden sich dunkelfarbige harzige Produkte), wurde es mehrmals mit siedendem absolutem Alkohol ausgezogen, bis die abfiltrierte Flüssigkeit fast farblos durchfloss. Dadurch entsteht reines I (Schmp.  $242^\circ$ ) ohne jedwede Verminderung seines  $^{18}\text{O}$ -Gehaltes, wie aus Kontrollversuchen ersichtlich (Methode B).

Die Ergebnisse der Markierungsversuche sind in der Tabelle 1 zusammengestellt.

TABELLE 1. Markierung des 2,4,6-Trimethylpyryliumperchlorats durch Austausch mit reinem  $\text{H}_2^{18}\text{O}$  (4%  $^{18}\text{O}$ ) bei  $100^\circ$ .

| Methode | Austauschzeit St. | $^{18}\text{O}$ -Gehalt (Atom-%) |   |
|---------|-------------------|----------------------------------|---|
|         |                   | in der $\text{CO}_2$ -Probe      | in der 1-Stellung<br>des Pyryliumringes |
| A       | 0,17              | $0,256 \pm 0,003$                | 0,72                                    |
|         | 3,0               | $0,490 \pm 0,005$                | 3,06                                    |
| B       | 24                | $0,518 \pm 0,005$                | 3,35                                    |
|         | 30                | $0,560 \pm 0,006$                | 3,76                                    |

Um ein Pyryliumsalz ohne sauerstoffhaltiges Anion zu erhalten, wurden 2 g I mit einem  $^{18}\text{O}$ -Gehalt von 3,76% wie beschrieben <sup>(5)</sup> ins 2,4,6-Trimethylpyryliumjodid umgewandelt, dessen  $^{18}\text{O}$ -Gehalt 2,58% betrug. Dadurch wurde endgültig bewiesen, dass die Markierung beim Ring-Sauerstoff vorkommt.

Zum Nachweis des Einflusses des pH-Wertes auf der Austauschgeschwindigkeit wurden Rücktauschversuche auf das 3,76%  $^{18}\text{O}$ -enthaltende I durchgeführt: 0,2 g I wurden mit 2 ml Pufferlösung 30 Min. auf  $100^\circ$  erhitzt, dann wie in der Methode A isoliert. Die Analysenangaben sind in der Tabelle 2 enthalten.

TABELLE 2. Rücktauschversuche von 2,4,6-Trimethyl-1-<sup>18</sup>O-Pyryliumperchlorat (3,76%<sup>18</sup>O) mit H<sub>2</sub>O natürlicher <sup>18</sup>-Häufigkeit in Pufferlösungen von verschiedenen pH-Werten, 30 Min. bei 100°.

| Nr. | pH   | <sup>18</sup> O-Gehalt (Atom-%) |   |
|-----|------|---------------------------------|---|
|     |      | in der CO <sub>2</sub> -Probe   | in der 1-Stellung<br>des Pyryliumringes |
| 1   | 0,65 | 0,541 ± 0,005                   | 3,58                                    |
| 2   | 1,24 | 0,524 ± 0,005                   | 3,40                                    |
| 3   | 2,20 | 0,453 ± 0,005                   | 2,69                                    |
| 4   | 3,20 | 0,258 ± 0,003                   | 0,77                                    |
| 5   | 4,00 | 0,236 ± 0,002                   | 0,52                                    |

Die Pufferlösungen für pH 0,65 und 1,24 wurden aus 1 M-Natriumacetat und 1 M-Salzsäure, die anderen aus 0,1 M-Zitronensäure und 0,2 M-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> hergestellt.

Der Sauerstoff der markierten Proben wurde durch eine Variante der Methode von Unterzaucher zum <sup>18</sup>OC<sup>18</sup>O umgewandelt; der Sauerstoff der Substanz wurde durch Pyrolyse in Stickstoffstrom bei 950° über einen Katalysator von Pt und Pd auf Aktivkohle zu CO umgesetzt, das CO mittels I<sub>2</sub>O<sub>5</sub> zu CO<sub>2</sub> oxydiert. Die CO<sub>2</sub>-Proben wurden massenspektrometrisch analysiert mittels einem Atlas CH-3 Massenspektrometer. Jede Angabe ist ein Mittelwert von mindestens drei Pyrolysen. Die Berechnung des Sauerstoffgehaltes (y) in Stellung 1 des Pyryliumsalzes aus dem gefundenen <sup>18</sup>O-Sauerstoffgehalt des Kohlendioxids (x) wurde durch die Beziehung

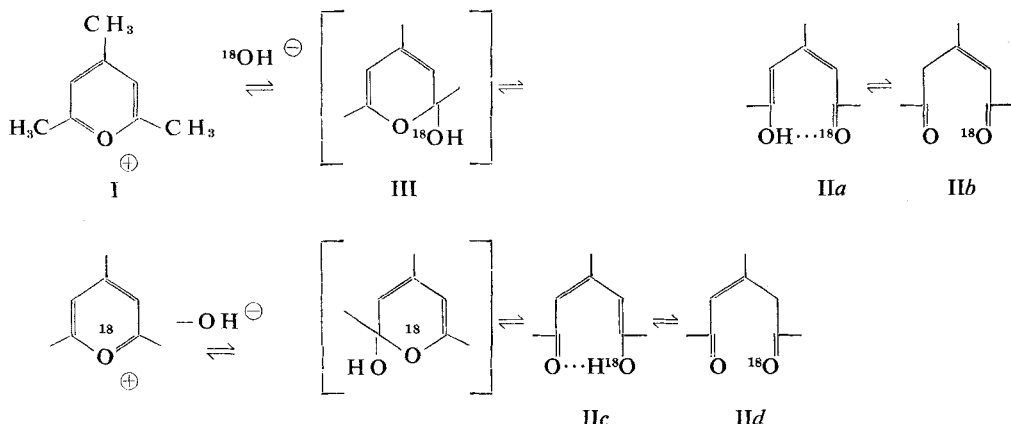
$$y = 10(x - 0,204) + 0,204$$

erledigt, wo 0,204 die Häufigkeit des <sup>18</sup>O im natürlichen Sauerstoff darstellt. Der Faktor 10 kommt aus einem Pyryliumsauerstoff für vier Perchlorat-Sauerstoffatomen und aus der <sup>16</sup>OC<sup>18</sup>O-Formel des Kohlendioxids.

## DISKUSSION

Tabelle 1 beweist deutlich, dass das Sauerstoffheteroatom der Pyryliumsalze mit dem Wassersauerstoff bei 100 °C leicht austauscht. Tabelle 2 zeigt dass die Austauschgeschwindigkeit bei höheren pH-Werten zunimmt. Es ist bekannt, dass zwischen Pyryliumsalzen und *cis*-1,5-Endionen (Pseudobasen II) ein Gleichgewicht bei pH-Werten zwischen 1-6 besteht (bei höheren pH-

Werten treten Kondensationen der Pseudobase auf, und bei grösseren Aciditäten ist die Konzentration der Pseudobase zu gering).



Im Vergleich mit verschiedenen Ketonen, die mit  $\text{H}_2^{18}\text{O}$  einen Sauerstoffaustausch durch Auftreten eines  $\alpha$ -Glykols ergeben können <sup>(6)</sup>, ergibt sich bei Pseudobasen II noch eine zweite Möglichkeit für den Sauerstoffaustausch; wegen der Chelatbildung im Ketoneol IIa kann es zu einer Gleichwertigkeit der zwei Sauerstoffatome kommen.

Herrn Dr. H. Hübner und Dr. M. Wahren danken wir herzlich für die Unterstützung und Überlassung von Institutsmitteln.

E. GARD,<sup>o</sup> A. RUNGE,<sup>•</sup> A. BARABAS<sup>'</sup> und A. T. BALABAN<sup>o</sup>

Inst. de Fizica Atomica,  
Casuta Postală 35, Bucuresti, Romania

<sup>o</sup> Institut für Atomphysik, Postfach 35, Bukarest, Rumänien.

<sup>•</sup> Institut für Stabile Isotope, 705 Leipzig, Permoserstr 15, Deutsche Demokratische Republik.

#### LITERATUR

1. GARD, E., VASILESCU, A., MATEESCU, G. D. und BALABAN, A. T. — *J. Labelled Comp.* (im Druck) und frühere Mitteilungen.
2. BALABAN, A. T., MARCULESCU-FRANGOPOL, M. und FRANGOPOL, P. T. — *Isotopentechnik*, **2** : 235 (1962).
3. BALABAN, A. T. und NENITZESCU, C. D. — *Rev. Chim. Acad. R. P. Roumaine*, **6** : 269 (1961).
4. HOERING, T. C., ISHIMORI, F. T. und McDONALD, H. O. — *J. Amer. Chem. Soc.*, **80** : 3876 (1958); BRODSKII, A. I. und VYSSOTSKAIA, N. A. — *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, **101** : 869 (1955).
5. BALABAN, A. T., MOCANU, M. und SIMON, Z. — *Tetrahedron*, **20** : 119 (1964); BALABAN, A. T., *Compt. Rend.*, **256** : 4041 (1963).
6. SAMUEL, D. und SILVER, B. L. — "Advances in Physical Organic Chemistry" (Gold V., editor), **3** : 123 (1965); BYRN, M. und CALVIN, M. — *J. Amer. Chem. Soc.*, **88** : 1916 (1966).