

Papierchromatographie der Pyridin-polycarbonsäuren sowie einiger anderer heterocyclischer Carbonsäuren

Von

F. Schindler und F. Kuffner*

Aus dem Organisch-chemischen Institut der Universität Wien

(Eingegangen am 12. September 1962)

Mit Hilfe eines neuartigen Solvenssystems und zweier neuer Farbreaktionen, insbesondere einer für bestimmte heterocyclische Carbonsäuren spezifischen, gelingt die papierchromatographische Charakterisierung der Pyridin-tri- und z. T. auch der -tetracarbonsäuren.

Heterocyclische Carbonsäuren, vor allem die des Pyridins, spielen eine wichtige Rolle bei der Konstitutionsermittlung alkylierter oder kondensierter Heterocyclen, z. B. auch von Alkaloiden.

Da die Darstellung mancher Pyridincarbonsäuren, besonders aber ihre Reinigung und Identifizierung, verhältnismäßig mühselig und zeitraubend ist, haben papierchromatographische Methoden, wenn sie auf kurzem und bequemem Wege die Identifizierung ermöglichen, beträchtlichen Wert.

Während dieses Problem hinsichtlich der Pyridin-mono- und -dicarbonsäuren durch Arbeiten von *Jerchel* und *Jacobs*¹ sowie von *Kuffner* und *Faderl*² als gelöst gelten kann, wurden von uns erst in der vorliegenden Abhandlung vor allem die Pyridintricarbonsäuren und Pyridintetracarbonsäuren untersucht. Es zeigte sich bald, daß die für die einfacheren Analogen verwendeten Lösungsmittelgemische bei unseren amphoteren Stoffen keine befriedigenden Ergebnisse liefern. Wir haben deshalb eine Vielzahl von Systemen durchprobiert, angefangen von stark basischen bis zu stark sauren, doch nur *eines* davon gab wirklich gute Resultate, wobei eine durchaus unklassische Komponente, der cyclische Äther Cineol (Eucalyptol), herangezogen wurde.

* Herrn Dr. *Karl Stosius* zum 80. Geburtstage in aufrichtiger Wertschätzung gewidmet.

¹ *D. Jerchel* und *W. Jacobs*, *Angew. Chem.* **65**, 342 (1953).

² *F. Kuffner* und *N. Faderl*, *Mh. Chem.* **86**, 995 (1955).

Unser stark saures System, Butanol-(2)—Cineol—konz. HCl (1:1:1), trennt zunächst nicht alle Mono- und Dicarbonsäuren sauber voneinander, doch lassen sich in diese mit Hilfe der unten zu besprechenden Farbreaktionen auch dann voneinander unterscheiden bzw. nebeneinander nachweisen, wenn sie im Chromatogramm nahe beieinanderliegen. Die Tricarbonsäuren zeigen sehr gut voneinander abgesetzte R_F -Werte, auch die 2,3,4,6-Pyridin-tetracarbonsäure unterscheidet sich deutlich von ihren Isomeren.

Zur zahlenmäßigen Angabe eignen sich wegen der Reproduzierbarkeit besser als die üblichen R_F -Werte solche Zahlen, welche man erhält, wenn man die Wanderungsstrecke einer Pyridincarbonsäure durch die von mitgelaufener Pyridin-2,3-dicarbonsäure dividiert.

Wir nennen diese Verhältniszahlen R_χ -Werte, da die genannte Dicarbonsäure den Trivialnamen Chinolinsäure führt. Überblickt man in Tab. 1

Tabelle 1. R_χ -Werte und Reaktionen der Pyridin-carbonsäuren †

Stellung der COOH-Gruppen	R_χ	König- Rkt.	Skraup- Rkt.	Pb- Rkt.	Ag- Rkt.
2	0,90	—	g	—	+
3	0,81	r	—	—	—
4	0,80	v	—	—	—
2,3	1,00	—	g	—	+
2,4	0,82	—	o	—	+
2,5	0,54	—	o—r	—	+
2,6	1,40	—	o	—	+
3,4	0,93	v*	—	—	+
3,5	0,73	g*	—	+	+
2,3,4	0,94	—	r	+	+
2,4,5	1,53	—	r	+	+
2,3,6	1,80	—	r	—**	+
2,4,5	2,12	—	r	+	+
2,4,6	2,10	—	rv	—	+
3,4,5	0,75	g*	—	+	+
2,3,4,5	2,22	—	r	+	+
2,3,4,6	2,09	—	v	+	+
2,3,5,6	2,23	—	r	+	+

* Schwache Reaktion. ** Sehr schwache Reaktion.

† g = gelb, o = orange, r = rot, v = violett; + bzw. — bedeuten positive bzw. negative Reaktion.

die R_χ -Werte, so sieht man, daß eine Tricarbonsäure, die 3,4,5-Pyridin-tricarbonsäure, einen R_χ -Wert aufweist, welcher dem der 3,5-Dicarbonsäure sehr ähnlich ist; da diese beiden Säuren auch bei allen von uns zur Sichtbarmachung herangezogenen Reaktionen identisches Verhalten zeigen, können sie mit unserer Methode nicht auseinandergelassen werden.

Die 2,4,5-Pyridin-tricarbonsäure hat einen der 3,4-Dicarbonsäure ähnlichen R_χ -Wert: Hier kann aber in manchen Fällen das verschiedene Verhalten bei der Skraup-Reaktion zur Unterscheidung dienen, außerdem

haben *Kuffner* und *Faderl*² Lösungsmittel gefunden (dort als A 2 und D 3 bezeichnet), welche diese beiden Säuren sehr gut trennen.

Eine Tricarbonsäure, (2,4,6-), hat einen ähnlichen R_f -Wert wie eine der Tetracarbonensäuren, doch sind hier Unterschiede — wenn auch geringe — in der *Skraup*-Reaktion vorhanden; außerdem gibt die genannte Tricarbonsäure keine „Bleireaktion“ (s. u.). Ein nicht unterscheidbares Paar bilden schließlich die 2,3,4,5- und die 2,3,5,6-Pyridin-tetracarbonensäure.

Da die Salzsäure kaum ganz aus dem Papier entfernt werden kann, konnten zum Nachweis der Carbonsäuren die auf Proton ansprechenden Nachweismethoden (Indikatoren, Fluoreszenzlösung usw.) nicht benützt werden.

Für die Sichtbarmachung der Pyridin-carbonsäuren zogen wir daher zunächst die *Königsche* Reaktion (Einwirkung von Bromcyan und aromatischem Amin, in unserem Falle Benzidin) heran, welche aber nur von jenen Säuren gegeben wird, in welchen in den α -Stellungen keine Substituenten (also auch keine Carboxylgruppen) vorhanden sind.

Gerade jene Pyridincarbonensäuren, welche in α -Stellung Carboxyl tragen, geben aber eine andere Reaktion, die von *Skraup* gefunden wurde, nämlich Bildung farbiger Komplexe mit Ferrosalzen; wir haben die Reaktion durch Verwendung eines in organischen Medien löslichen Eisen(II)-Salzes modifiziert.

Wesentlich verlässlicher und (zum Unterschied von der *Skraup*-reaktion) ganz unabhängig von Salzsäurespuren im Papier ist aber eine gänzlich neue Reaktion, die „Silberreaktion“, welche von der Pyridin-2-carbonsäure sowie von allen Pyridin-di-, -tri- und -tetracarbonensäuren gegeben wird; sie beruht auf der Behandlung der Chromatogramme mit Silberacetat und Hydrazin + Eisessig, wobei die Säureflecken weiß auf dunklem Grund erscheinen; sie müssen fixiert werden.

Schließlich geben eine Anzahl von Tri- und Tetracarbonensäuren, ferner die Pyridin-3,5-dicarbonsäure, schwarze Flecken, wenn man die Chromatogramme erst mit Blei(II)-acetat, dann mit Natriumsulfid unter von uns ermittelten Bedingungen behandelt („Bleireaktion“).

Die „Silberreaktion“ geben auch eine Anzahl heterocyclischer Carbonsäuren, welche keinen Pyridinring enthalten, sondern z. B. Indol-, Furan-, Thiophen- oder Imidazolskelette.

Solche Säuren werden u. a. durch die Carboxyl-Wanderungsreaktion nach *Raecke*³ dargestellt; Herrn Dr. *B. Raecke* sind wir für die Überlassung von Proben der von uns verwendeten Säuren zu herzlichem Dank verpflichtet.

³ *B. Raecke*, *Angew. Chem.* **70**, 1 (1958).

Für die Unterstützung unserer Arbeiten danken wir der Austria Tabakwerke AG sowie den Österr. Stickstoffwerken.

Experimenteller Teil

Wir chromatographierten aufsteigend, ohne Kammersättigung und ohne Maßnahmen zur Konstanthaltung der Temperatur, auf Schleicher & Schüll-Papier 2043b mgl. Die Proben wurden 3 cm über dem unteren Rand des Papiers aufgetragen, das Papier tauchte 10 mm tief in das Solvens ein. Für Laufstrecken von 20—23 cm waren Laufzeiten von 40—48 Stdn. erforderlich. Wegen der bisweilen schwierigen Erkennbarkeit der Solvensfront wurden die Laufstrecken der untersuchten Proben auf die Laufstrecke von zum Vergleich mitlaufender Pyridin-2,3-dicarbonsäure bezogen und dadurch sog. R_x -Werte erhalten.

Das Papier wird durch das Solvenssystem (sek. Butylalkohol—Cineol—konz. HCl 1:1:1, frisch bereitet) zwar angegriffen, kann aber trotzdem eine Zeitlang aufbewahrt werden. Die R_x -Werte sind vom Kation unabhängig und auch bei Gegenwart von Fremdsalzen reproduzierbar (Tab. 1, 2, 3).

Für die Durchführung der Reaktion von König wurde das Chromatogramm mindestens 12 Stdn. im warmen Luftstrom (durch Aufhängen über einem 300-W-Infrarotstrahler [Elsteinrohr, 200 mm]) getrocknet, dann mit einer alkohol. Lösung von Diisopropylamin besprüht, getrocknet, mit 0,5proz. alkohol. Benzidinlösung besprüht, getrocknet und in einen Zylinder über äther. Bromcyanlösung gehängt. Die Reaktion wird von allen Pyridincarbonsäuren gegeben, deren beide α -Stellungen frei sind, ist aber bei den Di- und der 3,4,5-Tricarbonsäure weit weniger empfindlich als bei den Monocarbonsäuren.

Statt des für die Skraupreaktion (auf α -carboxylierte Pyridine) gebräuchlichen Möhrschen Salzes verwendeten wir zum Besprühen des wie oben getrockneten Chromatogrammes eine 0,5proz. Lösung des Fe(II)-Salzes der Benzolsulfonsäure in Methanol, dem wir nach einem Vorschlage von Feigl⁴ zur Maskierung der störenden Fe(III)-Ionen etwas NaF und eine Spur Eisessig zusetzten. Nach dem Sprühen wurde das Papier kurz (über dem Elsteinrohr) angewärmt. Unsere Variante der Skraupreaktion ist etwas empfindlicher als die klassische.

Als erste der von uns neu eingeführten Reaktionen wurde die „Blei-reaktion“ an einem mindestens 12 Stdn. wie oben getrockneten Chromatogramm durchgeführt, indem das Blatt 30 Min. in eine filtrierte 4proz. Lösung von neutralem Pb(II)-Acetat eingelegt, gründlich mit Filtrierpapier abgepreßt, 3mal je 10—15 Min. in viel destill. Wasser unter etwas Umschwenken gewässert und dann in 2proz. Na₂S-Lösung gelegt wurde. Nicht alle Pyridincarbonsäuren geben die Reaktion, schwarze oder braune Flecken auf weißem Grunde (s. Tab. 1). Die Empfindlichkeit ist nicht in allen Fällen gleich, doch sind 10 μ g stets noch erfassbar.

Alle Pyridindi-, -tri- und -tetracarbonsäuren und die Picolinsäure geben unsere neugefundene „Silberreaktion“, welche bei richtiger Durchführung schon weniger als 1 μ g jeder der genannten Säuren zu erkennen gestattet. Das wie oben getrocknete Chromatogramm wird unter Ausschluß von direktem Tageslicht 30 Min. in eine gesättigte (ca. 0,7proz.) Lösung von Silberacetat gelegt, dann sorgfältig mit Filtrierpapier abgepreßt

⁴ F. Feigl, Spotttests (Verlag Elsevier).

und unter Schwenken mit einer Lösung von 10,0 ml 100proz. Hydrazinhydrat und dem genau gleichen Volumen reinen Eisessigs in 1 l Wasser entwickelt. Die Säuren erscheinen als weiße Flecken auf graubraunem bis dunkelgrauem Grund. Ehe sie ebenfalls dunkel zu werden beginnen, wird der Entwickler schnell abgegossen, das Papier kurz und schnell in der Schale unter der Wasserleitung gewaschen und die Fixierlösung (25 g Ammoniumthiosulfat, 15 g Ammoniumalaun, 1,5 l Wasser) sofort darübergegossen, schließlich gewässert.

Eine Anzahl von Methylpyridin-carbonsäuren kann in ähnlicher Weise chromatographiert werden (Tab. 2).

Andere heterocyclische Carbonsäuren s. Tab. 3.

Tabelle 2. R_{χ} -Werte einiger Methylpyridin-carbonsäuren

	R_{χ}	Ag-Rkt.
2-Methylpyridin-3,4-dicarbonensäure	1,08	+
2-Methylpyridin-3,5-dicarbonensäure	1,13	+
4-Methylpyridin-3,5-dicarbonensäure	2,05	+
2-Methylpyridin-3,5,6-tricarbonensäure	2,18	+
2,6-Dimethylpyridin-3-carbonsäure	?	—
2,6-Dimethylpyridin-3,4-dicarbonensäure	1,46	+
2,6-Dimethylpyridin-3,5-dicarbonensäure	1,24	**
2,4-Dimethylpyridin-3,5,6-tricarbonensäure	1,38	+
2,4,6-Trimethylpyridin-3,5-dicarbonensäure	1,72	**

* Schwache Reaktion. ** Sehr schwache Reaktion.

† g = gelb, o = orange, r = rot, v = violett; + bzw. — bedeuten positive bzw. negative Reaktion.

Tabelle 3. R_{χ} -Werte einiger heterocyclischer Carbonsäuren, welche keine Pyridinringe enthalten, aber unsere „Silber-Reaktion“ geben

	R_{χ}
Thiophen-2,5-dicarbonensäure	2,24
Indol-2-carbonsäure	2,34
Indol-3-carbonsäure	2,29
Imidazol-4,5-dicarbonensäure	0,52
3-Aminotriazol-(1,2,4)-5-carbonsäure	0,86
Pyrazin-2,3-dicarbonensäure	1,95
Furan-2,5-dicarbonensäure	1,98*
Indazol-3-carbonsäure	2,00
Benzoessäure gibt keine Ag-Reaktion	

* Kl. Schwanz.

Herstellung der Pyridinpolycarbonensäuren

Die Pyridin-2,3,4-tricarbonensäure wurde durch Permanganatoxydation von Cinchonin erhalten, die Pyridin-2,3,5-tricarbonensäure aus 2,6-Dimethylpyridin-3,5-dicarbonensäure⁵ durch entsprechende Oxydation und

⁵ Org. Syntheses, Coll. Vol. 2, 214.

Decarboxylierung⁶, die Pyridin-2,3,6-pyridintricarbonsäure aus dem Äthylester der 2,6-Dimethyl-pyridin-3-carbonsäure durch Verseifung und Permanganatoxydation⁷, die Pyridin-2,4,5-tricarbonsäure durch Decarboxylierung von Pyridin-2,3,4,6-tetracarbonsäure⁸; letztere aus 2,6-Dimethylpyridin-3,4-dicarbonsäure durch Permanganatoxydation⁸. Bei der Pyridin-2,4,6-tricarbonsäure hatten wir ein Präparat der Fa. Henkel zur Verfügung. Die Pyridin-3,4,5-tricarbonsäure stellten wir durch Decarboxylierung der Pyridin-pentacarbonsäure her^{9, 10}. Die Pyridin-2,3,4,5-tetracarbonsäure wurde durch entsprechende Oxydation und Decarboxylierung aus 2,4,6-Trimethylpyridin-3,5-dicarbonsäure dargestellt^{9, 10}, die Pyridin-2,3,5,6-tetracarbonsäure durch Permanganatoxydation von 2,6-Dimethylpyridin-3,5-dicarbonsäure⁵.

⁶ *F. Bohlmann, A. Englisch, J. Politt, H. Sander und W. Weise*, Ber. dtsh. chem. Ges. **88**, 1835 (1955).

⁷ *W. Franke und R. Kraft*, Angew. Chem. **67**, 397 (1955).

⁸ *O. Mumm und H. Hüneke*, Ber. dtsh. chem. Ges. **51**, 150 (1918).

⁹ *A. Hantzsch*, Ann. Chem. **215**, 52 (1882).

¹⁰ *J. Weber*, Ann. Chem. **241**, 20 (1887).