

abzentrifugiert und das in Lösung befindliche Salz durch Zusatz von Äthylalkohol fraktioniert gefällt. Aber auch diese umgefällten Präparate besitzen einen etwas zu hohen Stickstoffgehalt.

$C_8H_8O_6NPMg \cdot 3H_2O$	Ber.	C 29,7	H 4,33	N 4,33	P 9,6 %
	Gef.	„ 30,4	„ 4,43	„ 5,49	„ 8,45%

Zur Überführung des Magnesiumsalzes in das Calciumsalz wird ersteres in sehr wenig Wasser gelöst, die Lösung filtriert und hierauf tropfenweise mit einer konz. Lösung von Calciumacetat versetzt, wobei ein Überschuss des Calciumacetats zu vermeiden ist. Das Calciumsalz des Pyridoxal-5'-phosphates fällt sofort aus. Es wird abzentrifugiert, mehrmals mit wenig Wasser ausgewaschen und hierauf durch Waschen mit Alkohol und Äther getrocknet.

Ein so bereitetes Präparat des Calciumsalzes des Pyridoxal-5'-phosphates enthält keine freien Phosphationen. Seine Analyse entspricht ungefähr der Formel $C_8H_8O_6NPCa \cdot 3H_2O$. Die Verbindung ist in Wasser schwer löslich.

$C_8H_8O_6NPCa \cdot 3H_2O$	Ber.	C 28,8	H 4,2	N 4,2	P 9,3%
	Gef.	„ 28,6	„ 4,0	„ 5,0	„ 9,0%

Zusammenfassung.

Es wird eine etwas vereinfachte Darstellung für Pyridoxal-5'-phosphat und dessen Magnesium- und Calciumsalze beschrieben.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

269. Synthese des Pyridoxamin-5'-triphosphorsäureesters und Pyridoxamin-5'-monophosphorsäureesters

von M. Viscontini, C. Ebnöther und P. Karrer.

(26. IX. 51.)

Pyridoxamin lässt sich mit meta-Phosphorsäure in ähnlicher Weise wie Thiamin¹⁾ und Pyridoxal-N-(1-methyl-glycyl-hydrazon²⁾) verestern, wobei der Pyridoxamin-5'-triphosphorsäureester I erhalten wird. Diese in Wasser sehr leicht lösliche, hygroskopische Substanz unterliegt beim Erhitzen ihre wässrigen Lösung der partiellen Hydrolyse; unter Abspaltung von 2 Mol H_3PO_4 bildet sich Pyridoxamin-5'-monophosphat (II), eine Verbindung, die kürzlich auf anderem Wege von D. Heyl, E. Luz, St. A. Harris & K. Folkers³⁾ erhalten wurde und als Wachstumsfaktor für Milchsäurebakterien bekannt ist⁴⁾. Die Ausbeute nach unserer Synthese übertrifft diejenige, welche die amerikanischen Autoren erzielten, wesentlich.

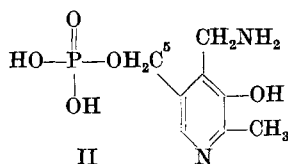
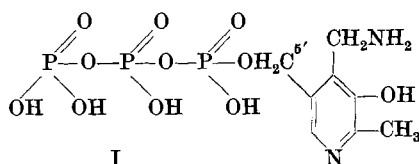
¹⁾ M. Viscontini, G. Bonetti & P. Karrer, *Helv.* **32**, 1478 (1949); P. Karrer & M. Viscontini, *Helv.* **29**, 711 (1946).

²⁾ M. Viscontini, C. Ebnöther & P. Karrer, *Helv.* **34**, 1834 (1951).

³⁾ D. Heyl, E. Luz, St. A. Harris & K. Folkers, *Am. Soc.* **73**, 3436 (1951).

⁴⁾ McNutt & Snell, *J. Biol. Chem.* **182**, 557 (1950); Hendlin, Caswell, Peters & Wood, *J. Biol. Chem.* **186**, 647 (1950).

Den Monophosphorsäureester II haben wir zuerst als phosphorsäures Salz, hierauf als Magnesiumsalz abgeschieden und dieses dann in das Calciumsalz übergeführt. Dieses besass die ungefähre Zusammensetzung $C_8H_{11}O_5N_2PCa, 3H_2O$ oder $C_8H_{11}O_5N_2PCa, 4H_2O$. Es ist in Wasser beträchtlich löslich und zeigt mit Eisen(III)-chlorid und diazotierter Sulfanilsäure analoge Farbreaktionen wie Pyridoxamin selbst. Man kann dasselbe Calciumsalz aus dem Phosphat des Pyridoxamin-5'-phosphorsäureesters auch direkt herstellen, ohne den Umweg über das Magnesiumsalz.



Durch Verseifen des Triphosphorsäureesters des Pyridoxamins mit verdünnter Salzsäure erhält man das Chlorhydrat des Pyridoxamin-5'-monophosphorsäureesters, das ausgezeichnet kristallisiert und in völlig reinem Zustande erhalten wird.

Experimenteller Teil.

Zur Herstellung der meta-Phosphorsäure wurde ortho-Phosphorsäure über der freien Flamme langsam erhitzt, bis sich alles Wasser verflüchtigt hatte und die Lösung trüb zu werden begann.

Nach dem Abkühlen einer aus $1,5\text{ cm}^3$ ortho-Phosphorsäure in vorbeschriebener Weise hergestellten meta-Phosphorsäure wurden 200 mg Pyridoxamin-dihydrochlorid eingetragen und das Gemisch im Ölbad langsam auf $60-70^\circ$ Badtemperatur erwärmt. Zuerst erfolgte Chlorwasserstoff-Entwicklung, die nach $\frac{1}{2}$ Std. beendet war. Hierauf wurde das Gemisch mit Eis gekühlt, mit sehr wenig Eiswasser zu einer homogenen, dickflüssigen Masse verrieben und mit einer grösseren Menge abs. Alkohols versetzt, wobei sich ein Niederschlag des Pyridoxamin-5'-triphosphorsäureesters bildete. Diesen haben wir abzentrifugiert, mit Alkohol, hierauf mit Äther gewaschen und getrocknet; Ausbeute 350 mg.

$C_8H_{15}O_{11}N_2P_3, H_2O$	Ber. C 22,5	H 4,0	N 6,57	P 21,8 %
(426,1)	Gef. „ 22,91	„ 4,84	„ 6,37	„ 20,35%

Dieser Triphosphorsäureester wird durch Erhitzen in wässriger Lösung allmählich hydrolysiert. Zur Verfolgung des Hydrolysenvorganges haben wir 200 mg Pyridoxamin-5'-triphosphat in 20 cm^3 Wasser gelöst und im Wasserbad erhitzt, wobei der Lösung von Zeit zu Zeit Proben entnommen und die in Freiheit gesetzte Menge an PO_4''' bestimmt wurde:

Hydrolysen-Zeit	0	30	45	75	105	120 Min.
Gefundene Menge P als PO_4'''	1	6,5	8,1	10,2	12,6	13,0%

Nach zweistündigem Erhitzen waren somit zwei Drittel des im Pyridoxamin-5'-triphosphat enthaltenen Phosphors als Phosphationen abgespalten. Daraufhin haben wir die Lösung im Vakuum bei 30° eingedampft, den Rückstand mehrmals mit Alkohol verrieben, wobei die anfangs klebrige Masse allmählich fest und pulverisierbar wurde. Dieses Pulver wurde nochmals in wenig Wasser gelöst und unter Zusatz von abs. Alkohol wieder ausgefällt. Den mit Alkohol gut gewaschenen Niederschlag haben wir abzentrifugiert, mit Alkohol und schliesslich mit Äther gewaschen und getrocknet. Ausbeute 130 mg.

Nach der Analyse handelt es sich im wesentlichen um ein ortho-phosphorsaures Salz des Pyridoxamin-5'-monophosphates. Die Analysen gaben für ein Salz der Zusammensetzung $C_8H_{13}O_5N_2P \cdot H_3PO_4$ folgende Näherungswerte:

$C_8H_{13}O_5N_2P \cdot H_3PO_4$ Ber. N 8,1 P 17,9% Gef. N 9,0 P 16,0%

Ungefähr die Hälfte der in der Verbindung nachgewiesenen Menge Phosphor ist als Phosphation darin enthalten. Beim Umfällen der Substanz durch Auflösen in Wasser und Zusatz von Alkohol nimmt der Phosphorgehalt etwas ab, vermutlich infolge teilweiser hydrolytischer Spaltung des Salzes.

Pyridoxamin-5'-monophosphat (Calciumsalz). 200 mg Pyridoxamin-5'-triphosphat wurden in 20 cm³ Wasser 2 Std. auf 100° erwärmt. Eine Bestimmung des nach dieser Zeit gebildeten Phosphations entsprach 14% P, so dass somit 2 Mol H_3PO_4 abgespalten worden waren. Hierauf hat man die Lösung im Vakuum bei 30° eingedampft, den farblosen Rückstand in 5 cm³ Wasser gelöst und dazu eine Aufschlammung von kolloidem Magnesiumhydroxyd gefügt, bis das pH der Flüssigkeit 6–7 erreicht hatte. Dann wurde Ammoniak bis zur stark alkalischen Reaktion zugesetzt, der entstandene Niederschlag abzentrifugiert, mehrmals mit Wasser extrahiert und das Filtrat der Fällung zusammen mit den Waschwassern auf ein kleines Volumen eingedampft. Wir fügten dann nochmals eine kleine Menge der Magnesiumhydroxyd-Aufschlammung hinzu, bis das pH auf 8–9 gestiegen war, zentrifugierten den geringen Niederschlag ab und versetzten das Filtrat mit abs. Alkohol, wobei eine ölige Fällung erfolgte, welche nach öfterem Verreiben mit Alkohol zu einem Pulver zerfiel. Dieses haben wir mit Alkohol und Äther gewaschen und getrocknet. Ausbeute 45–50 mg. Aus der Mutterlauge konnten durch Einengen und Wiederholung der Fällung noch ca. 35 mg gewonnen werden. Es handelt sich bei der isolierten Substanz um ein Magnesiumsalz des Pyridoxamin-5'-monophosphates. Das rohe Magnesiumsalz (60 mg) wurde in wenig Wasser gelöst, die Flüssigkeit durch Zusatz von geringen Mengen kolloidem Magnesiumhydroxyd auf pH 7–8 eingestellt, Spuren eines Niederschlags abzentrifugiert und die klare Lösung mit einer gesättigten wässrigen Calciumacetatlösung versetzt, bis kein Niederschlag mehr entstand (ca. 1 cm³). Den Niederschlag haben wir abzentrifugiert, mit Wasser, Alkohol und Äther gewaschen und getrocknet (15 mg). Er enthält noch nennenswerte Mengen von Phosphation und wurde daher nicht weiter untersucht. Die wässrige Lösung, die nach Abtrennung des Niederschlags anfiel, hat man mit der dreifachen Menge abs. Äthanol versetzt, wobei ein Niederschlag ausfiel, der zuerst mit 50-proz. Alkohol, hierauf mit abs. Alkohol und Äther gewaschen und eine Std. bei 15°/112 mm getrocknet wurde. Ausbeute 25 mg.

Die Verbindung enthielt nur Spuren von Phosphation. Nach der Analyse lag ein Calciumsalz des Pyridoxamin-5'-monophosphates der ungefähren Zusammensetzung $C_8H_{11}O_5N_2PCa \cdot 3H_2O$ oder $C_8H_{11}O_5N_2PCa \cdot 4H_2O$ vor.

$C_8H_{11}O_5N_2PCa \cdot 3H_2O$	Ber.	C 28,20	H 5,0	N 8,25	P 9,1 %
$C_8H_{11}O_5N_2PCa \cdot 4H_2O$	Ber.	„ 26,8	„ 5,3	„ 7,82	„ 8,65%
	Gef.	„ 28,21	„ 5,12	„ 7,5	„ 8,3 %

Das Absorptionsspektrum des Calciumsalzes in 1-proz. wässriger Natriumacetatlösung (pH 6,3) zeigte folgende Absorptionsmaxima und -minima:

Minimum	235 mμ	$\epsilon \cdot 10^{-3} = 1,67$
Maximum	252 mμ	$\epsilon \cdot 10^{-3} = 3,34$
Minimum	272 mμ	$\epsilon \cdot 10^{-3} = 0,64$
Maximum	325 mμ	$\epsilon \cdot 10^{-3} = 6,75$

Direkte Herstellung des Calciumsalzes des Pyridoxamin-5'-monophosphates. 700 mg Pyridoxamin-5'-triphosphat wurden in der vorbeschriebenen Weise durch Erhitzen in wässriger Lösung (70 cm³ H_2O) zum Pyridoxamin-5'-monophosphat hydrolysiert, die Lösung bei 30° im Vakuum auf 10 cm³ eingengt, hierauf festes Calciumhydroxyd in kleinen Portionen eingetragen, bis das pH der Lösung 5–6 erreicht hatte, und schliesslich durch vorsichtigen Zusatz von Calciumhydroxyd-Lösung das pH auf 8 gebracht. Den entstandenen Niederschlag haben wir abzentrifugiert, mehrmals mit warmem Wasser

extrahiert, die vereinigten filtrierten Lösungen und Extrakte im Vakuum bei 30° stark eingengt, nochmals filtriert und hierauf mit abs. Alkohol versetzt, wobei sich das Calciumsalz des Pyridoxamin-5'-monophosphats ausschied. Die Mutterlaugen dieser ersten Fällung wurden bei 30° auf 2—3 cm³ eingengt und nach der Filtration durch Alkoholzusatz eine zweite Fällung des Calciumsalzes des Pyridoxamin-5'-phosphates erzeugt. Ausbeute 150 mg.

Der Phosphorgehalt der Verbindung betrug 8,0%.

Hydrochlorid des 5'-Monophosphates. 600 mg Pyridoxamin-5'-triphosphat wurden in 60 cm³ n.-HCl gelöst, diese Lösung 10 Min. im kochenden Wasserbad erhitzt, hierauf schnell abgekühlt und bei 30° im Vakuum zur Trockene eingedampft. Den Rückstand verrieb man mit Alkohol, wobei eine farblose, zunächst klebrige Masse entstand, die nach mehrmaligem Verreiben mit Alkohol fest wurde. Nach dem Abzentrifugieren dieses Niederschlags haben wir diesen mit Alkohol und Äther gewaschen und getrocknet. Ausbeute 300 mg Pyridoxamin-5'-monophosphat-hydrochlorid. Zur Kristallisation wurde dieses Salz in sehr wenig Wasser gelöst, die Lösung mit einem Tropfen HCl versetzt und in Alkohol gegossen. Dabei bildete sich zunächst eine kolloide Lösung, aus der sich nach einigen Std. das chlorwasserstoffsäure Salz in grossen Kristallen ausschied. Die Verbindung stellt nach dem Abnutschen und Trocknen ein farbloses Kristallpulver dar. Es ist in Wasser mit saurer Reaktion leicht löslich. Smp. unter Zersetzung 222—224°. Die Analyse des nochmals in gleicher Weise umkristallisierten und im Hochvakuum bei 70° getrockneten Präparates ergab:

$C_8H_{14}O_5N_2PCl, H_2O$	Ber. C 31,7	H 5,3	N 9,3	P 10,3%
(302,6)	Gef. „ 31,7	„ 5,3	„ 9,7	„ 10,9%

Zusammenfassung.

Aus Pyridoxamin wurde durch Einwirkung von meta-Phosphorsäure in der Wärme der Pyridoxamin-5'-triphosphorsäureester erhalten, der beim Erhitzen in Wasser 2 Mol H₃PO₄ verliert und in Pyridoxamin-5'-monophosphat übergeht. Pyridoxamin-5'-monophosphat wurde einerseits als phosphorsaures und chlorwasserstoffsäures Salz, andererseits als Calciumsalz isoliert.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

270. Überführung optisch aktiver α -Aminocarbonsäuren in optisch aktive Amine mit gleichem Kohlenstoffskelett

von P. Karrer und K. Ehrhardt.

(26. IX. 51.)

Über Konfigurationen einfach gebauter Amine ist noch wenig bekannt. Wir haben daher einige Versuche ausgeführt, welche solche optisch aktive Amine relativ leicht zugänglich machen und ihre Zuordnung zu den sterischen Reihen der α -Aminocarbonsäuren erlauben.

D(+)-Phenylalanin wurde nach früher beschriebener Methode¹⁾ zu D(+)-Phenylalaninol reduziert und dieses mittels Toluolsulfonsäure-

¹⁾ P. Karrer, P. Portmann & M. Suter, Helv. 31, 1617 (1948).