

$\alpha$ - und  $\beta$ -carotene fed in oily solution are absorbed unchanged only in very small quantities and are transformed only to a low extent into vitamin A. The latter reaction takes place even in the practically sterile intestine of rats treated with chloromycetin. The transformation of carotenes into vitamin A is effected enzymatically in the intestinal wall and is apparently independent of bacterial activity.

A large part of the  $\alpha$ - and  $\beta$ -carotene administered was found in the large intestine. All experiments, i. e. feeding rats with carotene as well as with vitamin A proved that considerable quantities could not be detected neither in the lymph nor in the intestinal tract, liver or blood.

Physiologisch-chemisches Institut der Universität und  
Schweizerisches Vitamininstitut, Basel.

## 241. Darstellung eines krystallisierten Acridinsalzes des Pyridoxal-5'-phosphorsäureesters (Codecarboxylase)

von M. Viscontini und P. Karrer.

(22. VIII. 52.)

Die nach unserer Methode<sup>1)</sup> hergestellte Pyridoxal-5'-phosphorsäure kann leicht in ein Acridinsalz übergeführt werden, welches in langen, feinen, zitronengelben Nadeln kristallisiert. Es enthält 1 Mol Acridin auf 1 Mol Pyridoxal-5'-phosphorsäureester. Die Verbindung kann auch zur Reinigung von rohen Pyridoxal-5'-phosphorsäureester-Präparaten dienen.

Im weiteren geben wir eine Vorschrift, um das (nicht kristallisierte) Bariumsalz des Pyridoxal-5'-phosphorsäureesters in sehr reiner Form herzustellen.

In einer Mitteilung betitelt: An unambiguous synthesis of codecarboxylase haben *J. Baddiley & A. P. Mathias*<sup>2)</sup> über eine weitere Synthese des Pyridoxal-5'-phosphorsäureesters berichtet. Wir möchten bemerken, dass die von uns früher beschriebene Synthese<sup>1)</sup> in ihrem Verlauf ebenfalls eindeutig war; denn da der erhaltene Phosphorsäureester von dem früher auf eindeutige Art dargestellten Pyridoxal-3-phosphorsäureester verschieden ist, kommt für ihn nach dem Gang der Synthese nur die Formel des Pyridoxal-5'-phosphorsäureesters in Frage.

Bariumsalz der Pyridoxal-5'-phosphorsäure. 4 g Pyridoxal-(N-dimethylglycyl)-hydrazon<sup>1)</sup> wurden in der früher beschriebenen Weise<sup>1)</sup> bei 50–60° mit meta-Phosphorsäure phosphoryliert. Die Ausbeute an Triphosphorsäureester betrug 7,7 g.

<sup>1)</sup> Helv. **34**, 1834 (1951).

<sup>2)</sup> Soc. **1952**, 2583.

Diesen Ester hat man entsprechend der früher gegebenen Vorschrift<sup>1)</sup> bei 100° während 10 Min. in 200 cm<sup>3</sup> n. Salzsäure und bei Gegenwart von 7,7 g Silbernitrit hydrolysiert.

Nach dem Verdampfen der Lösung im Vakuum wurde der Rückstand mehrmals mit wasserfreiem Aceton behandelt und hierauf über Nacht in Aceton aufbewahrt. Dann löste man den fest gewordenen Niederschlag in 50 cm<sup>3</sup> Wasser, vertrieb die letzten Spuren von Aceton durch Einengen im Vakuum und entfärbte die Lösung durch Behandeln mit etwas Adsorptionskohle. Nach der Filtration wurde sie durch eine Säule von Amberlite IRA 400 (155 mm lang, 25 mm Ø) laufen gelassen und während der Filtration gegen Licht geschützt. Die erste, etwas gefärbte Fraktion des Durchlaufs enthielt neben wenig Phosphorsäure die gesamte Menge des Pyridoxalphosphates. Durch Nachwaschen der Kolonne mit Wasser wurde ein Teil der adsorbierten Phosphorsäure eluiert, worauf durch 0,5-n. Salzsäure neben dem Rest der Phosphorsäure noch ca. 200 mg Pyridoxal-polyphosphorsäureester ausgewaschen wurden, die der Hydrolyse entgangen waren.

Die Lösung des Pyridoxal-5'-phosphates haben wir in der Kälte nach und nach mit kleinen Mengen fein pulverisiertem Bariumhydroxyd versetzt. Es bildete sich dabei ein Niederschlag von Bariumphosphat, der noch geringe Mengen von Pyridoxalphosphat und die Hauptmenge der farbigen Begleitsubstanzen adsorbierte. Nachdem das pH der Lösung 5–6 erreicht hatte, wurde der Niederschlag abzentrifugiert. Die klare Lösung darf nach dieser Behandlung kein freies Phosphat-ion enthalten. Sie besitzt eine reine, gelbe Farbe. Aus dieser Lösung haben wir das Bariumsalz des Pyridoxal-phosphates durch Zusatz von 2 Volumen Äthanol gefällt. Es wurde abgenutscht, gewaschen und bei 80° im Vakuum getrocknet. Ausbeute 2 g.

$C_8H_8O_6NPBa \cdot 2H_2O$  Ber. C 22,95 H 2,89 N 3,35  $PO_4'''$  0 P 7,40 Ba 32,82%  
(636,5)

$C_8H_8O_6NPBa \cdot 3H_2O$  Ber. „ 22,01 „ 3,23 „ 3,23 „ 0 „ 7,10 „ 31,4 %  
Gef. „ 22,77 „ 3,08 „ 3,83 „ 0 „ 7,11 „ 30,26 %

Die Verbindung enthielt keine leicht hydrolysierbaren Phosphorsäureester (Abwesenheit von Di- bzw. Triphosphorsäureestern des Pyridoxalphosphates).

Acridinsalz des Pyridoxal-5'-phosphorsäureesters. 200 mg roher Pyridoxal-5'-phosphorsäureester wurden in 3 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst. Die Lösung wurde durch eine Spur Tierkohle entfärbt und hierauf tropfenweise mit einer Lösung von 200 mg Acridin in 3 cm<sup>3</sup> Alkohol versetzt. Wenn das verwendete Pyridoxal-5'-phosphat noch etwas freie Phosphorsäure enthielt, fiel das in Wasser und Alkohol fast unlösliche Acridinphosphat sofort aus, während das Acridinsalz des Pyridoxal-5'-phosphates in Lösung blieb. Nachdem der Niederschlag durch Zentrifugieren abgetrennt worden war, haben wir etwas Wasser hinzugefügt, das ausgefallene Acridin abgetrennt, die klare Lösung im Vakuum auf 1 cm<sup>3</sup> eingengt und in den Eisschrank gestellt, worauf sich innerhalb 24 Std. das Acridinsalz des Pyridoxal-5'-phosphorsäureesters in makroskopischen Nadeln abschied. Da es durch geringe Mengen von Acridin verunreinigt war, haben wir es nach der Filtration mit sehr wenig Äthanol gewaschen und hierauf ein zweites Mal aus heissem Wasser umkristallisiert. Es bildet feine, zitronengelbe Nadeln, die in Wasser und Äthanol ziemlich leicht, in Äther unlöslich sind. Das Salz kristallisiert mit einer Molekel Wasser, welche durch Trocknen im Vakuum während 1 Std. bei 80° nicht entwich.

$C_{21}H_{19}O_6N_2P \cdot H_2O$  Ber. C 56,75 H 4,76 N 6,30  $PO_4'''$  0 P 6,97%  
(444,4) Gef. „ 56,76 „ 4,55 „ 6,25 „ 0 „ 7,21 %

### Zusammenfassung.

Es wird die Darstellung eines kristallisierten Acridinsalzes des Pyridoxal-5'-phosphorsäureesters beschrieben, sowie eine verbesserte Herstellung eines reinen Bariumsalzes derselben Verbindung.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

<sup>1)</sup> Helv. 34, 1834 (1951).