

Herstellung von Derivaten des Pyridoxins, insbesondere dessen Schwefelanaloga

Von

Selma Kreisky

Institut für klinische Chemie der Universität Göteborg, Göteborg,
Schweden

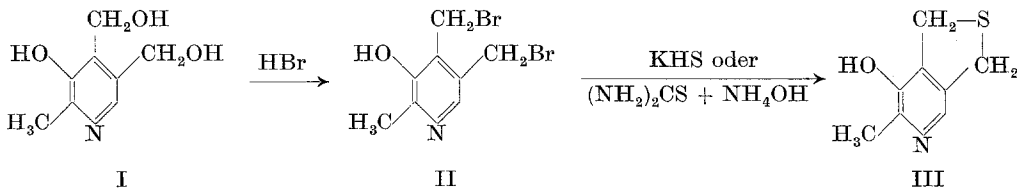
Mit 2 Abbildungen

(Eingegangen am 24. September 1958)

Durch Einwirken von Thioharnstoff, Phosphorpentasulfid bzw. thioessigsäurem Kalium auf Pyridoxin oder dessen Derivate wurden Schwefelanaloga von Pyridoxol, Pyridoxamin und 4-Desoxypyridoxin hergestellt und die Ultraviolett-absorptionsspektren dieser Derivate in saurer und alkalischer Lösung gemessen.

Als Teil eines Programms, das biologische Untersuchungen auf dem Gebiet von Vitamin B₆ umfassen sollte, wurden verschiedene neue Derivate von Pyridoxin hergestellt und einige Synthesen und Reindarstellungsmethoden schon bekannter Derivate verbessert.

Von besonderem Interesse waren die Schwefelanaloga dieser Substanzen. So wurde 6-Methyl-7-hydroxy-thieno [3,4-c]-pyridin entsprechend der Reaktionsfolge I bis III hergestellt.



Unterwarf man 2,4-Dimethyl-3-hydroxy-5-hydroxymethylpyridin dieser Behandlung, so erhielt man 2,4-Dimethyl-3-hydroxy-5-mercapto-

methylpyridin. Bei der Verwendung von Pyridoxamin als Ausgangssubstanz konnte hingegen kein einheitliches Reaktionsprodukt erhalten werden.

Ließ man Phosphorpentasulfid auf Pyridoxol einwirken, so entstand eine Substanz, deren Analysenwerte dem Bis-(2-methyl-3-mercapto-4,5-lutidyl)-pentathiopyrophosphorsäureester (IV) entsprachen. Wurde dieser Ester mit Natronlauge gekocht, so bildete sich 2-Methyl-3-mercapto-4,5-di-(hydroxymethyl)-pyridin, das zum Unterschied vom Ausgangsprodukt nicht nur in Alkali, sondern auch in Säure löslich ist.

Eine sehr geeignete Methode, um zu Mercaptomethylanalogen von Pyridoxin zu gelangen, war über die Acetylthiomethylderivate, welche man durch Behandeln der entsprechenden Bromderivate mit thioessigsaurem Kalium erhielt. Diese Ester wurden dann hydrolysiert, wobei die Mercaptomethylverbindungen entstanden; dabei zeigte es sich, daß bei 2-Methyl-3-hydroxy-4-aminomethyl-5-acetylthiomethylpyridin nur die saure Verseifung zu dem gewünschten 2-Methyl-3-hydroxy-4-aminomethyl-5-mercaptomethylpyridin führte.

Ferner wurde bemerkt, daß das 2-Methyl-3-hydroxy-4,5-di-(mercaptomethyl)-pyridin in alkalischer Lösung unter Luftzutritt nicht haltbar ist, was an einem Absinken der Absorption von ultraviolettem Licht beobachtet wurde.

Außer diesen Schwefelverbindungen wurden auch noch das Magnesiumsalz von Pyridoxamin-5-phosphat sowie diverse acetylierte Pyridoxinderivate synthetisiert.

Experimenteller Teil

6-Methyl-7-hydroxy-thieno[3,4-c]-pyridin (III) (M-PIN)

Methode A: 1,25 g 2-Methyl-3-hydroxy-4,5-di-(brommethyl)-pyridinhydrobromid werden in 5 ml Äthanol gelöst, 0,52 g Thioharnstoff hinzugefügt und 5 Stdn. unter Rückflußkühlung gekocht. Nach dem Erkalten wird mit 2,8 ml konz. Ammoniaklösung versetzt und 6 Tage stengelassen. Hierauf wird unter vermindertem Druck weitgehend eingeeengt. Der Rückstand wird mit 25 ml destill. Wasser versetzt, am nächsten Tag abgesaugt und mit destill. Wasser nachgewaschen. Ausb. 0,54 g. Schmp. 196—197,5° C (u. Zers.).

C₈H₇NOS. Ber. S 19,2. Gef. S 19,2, 19,1.

Methode B: 10 g KHS werden in 25 ml Wasser gelöst, 3,7 ml dieser Lösung werden im Vak. zur Trockne eingedampft, der Rückstand in 5 ml absol. Methanol gelöst und in kleinen Portionen mit 2 g 2-Methyl-3-hydroxy-4,5-bis-(brommethyl)-pyridinhydrobromid versetzt. Die Lösung wird 20 Min. bei Zimmertemp. geschüttelt, hierauf werden 15 ml Wasser hinzugefügt und über Nacht in den Kühlschrank gestellt. Der Niederschlag wird abgesaugt, mit Wasser nachgewaschen und in 5 n HCl wieder gelöst. Es wird von ev. Ungelöstem abfiltriert und mit 5 n NH₃ gefällt. Ausb. 0,64 g. Schmp. 197—199° C (u. Zers.).

C₈H₇NOS. Ber. S 19,2. Gef. S 19,6.

2,4-Dimethyl-3-hydroxy-5-mercaptopmethylpyridin-hydrochlorid (M-Des)

0,3 g 2,4-Dimethyl-3-hydroxy-5-brommethylpyridin-hydrobromid werden in 1,5 ml Äthanol gelöst, 0,16 g Thioharnstoff hinzugefügt und 5 Stdn. unter Rückflußkühlung gekocht. Hierauf wird mit 1 ml konz. NH_3 versetzt. Nach 6 Tagen wird die Lösung unter vermindertem Druck zur Trockne eingedampft, der Rückstand in 0,5 n NaOH gelöst, die Lösung filtriert und das Filtrat mit 5 n HCl neutralisiert. Die ausgefallene Mercaptoverbindung wird abzentrifugiert, mit Eiswasser nachgewaschen und in 5 ml absol. Äthanol und 1 ml 7 n alkohol. HCl gelöst. Die Lösung wird filtriert und durch Zusatz von absol. Äther zum Filtrat das Hydrochlorid gefällt. Ausb. 0,1 g. Schmp. 236—238° C (u. Zers.).

$\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NOS} \cdot \text{HCl} \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$. Ber. C 44,7, H 6,04, N 6,53.

Gef. C 44,6, H 5,81, N 6,04.

Bis-(2-methyl-3-mercapto-4,5-lutidylen)-pentathiopyrophosphorsäureester (IV)

1,1 g Pyridoxolbase werden mit 2,5 g gepulv. P_2S_5 innig verrieben, mit 40 ml trockenem Pyridin versetzt und 5½ Stdn. unter Rückflußkühlung und Umrühren im Ölbad bei einer Badtemperatur von 120° C erhitzt. Hierauf wird das Reaktionsgemisch in 200 ml Eiswasser gegossen. Diese Lösung wird im Vak. bei einer Badtemperatur von 50° C vom Pyridin und ca. 100 ml Wasser befreit, die übriggebliebene Flüssigkeit abdekantiert, das entstandene Öl zweimal mit je 10 ml Wasser nachgewaschen und dann in 50 ml 2 n NH_3 gelöst. Es wird von Schwefel abfiltriert und aus dem Filtrat durch tropfenweises Hinzufügen von ca. 54 ml 2 n HCl unter gutem Umrühren das Reaktionsprodukt gefällt. Nach dem Absaugen und Trocknen erhält man 1,65 g Substanz, Schmp. 250° C (u. Zers.).

$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2\text{P}_2\text{S}_7 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$. Ber. C 32,3, H 3,7, N 4,74, S 37,7, P 10,4.

Gef. C 32,1, H 3,7, N 5,3, S 37,3, P 9,82.

2-Methyl-3-mercapto-4,5-di-(hydroxymethyl)-pyridin-hydrochlorid (Sp)

Zu 30 ml n NaOH werden unter Einleiten von Stickstoff 5 g (IV) in kleinen Portionen hinzugefügt. Die Lösung wird, weiterhin unter Einleiten von Stickstoff, 4 Stdn. unter Rückflußkühlung gekocht. Nach dem Erkalten wird mit 5 n HCl genau neutralisiert. Die Fällung wird abzentrifugiert, gut mit destill. Wasser gewaschen und in 50 ml absol. Alkohol gelöst. Die Lösung wird mit 10 ml 7 n äthylalkohol. HCl versetzt und filtriert. Durch Zusatz von 100 ml absol. Äther zum Filtrat wird das Hydrochlorid gefällt (1,2 g).

$\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{S} \cdot \text{HCl}$. Ber. C 43,5, H 5,42, S 14,5. Gef. C 43,2, H 5,15, S 14,9.

2-Methyl-3-hydroxy-4,5-di-(acetylthiomethyl)-pyridin-hydrochlorid (M-PIC)

0,3 g 2-Methyl-3-hydroxy-4,5-di-(brommethyl)-pyridin-hydrobromid werden in 3,5 ml Methanol gelöst und eine Lösung von 0,33 g Kaliumthioacetat in 2 ml Methanol hinzugefügt. Die Mischung wird 30 Min. unter Rückflußkühlung gekocht, hierauf wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert und der Rückstand in 4 ml 0,5 n HCl gelöst. Aus dieser Lösung wird die Base durch Neutralisation mit n NaOH ausgefällt; dann schüttelt man dreimal mit je 10 ml Äther aus, trocknet diese Ätherlösung mit Natriumsulfat, filtriert und säuert das Filtrat mit 7 n alkohol. HCl an, wobei nach Kratzen an der Glaswand des Gefäßes das Hydrochlorid der Base kristallinisch ausfällt. Man stellt über Nacht in den Kühlschrank, zentrifugiert am

nächsten Tag ab und wäscht mit Äther nach. Ausb. 0,2 g. Schmp. 173—176° C.

$C_{12}H_{15}NO_3S_2 \cdot HCl \cdot \frac{1}{2} H_2O$. Ber. C 43,57, H 5,14. Gef. C 43,8, H 5,21.

2,4-Dimethyl-3-hydroxy-5-acetylthiomethyl-pyridin-hydrochlorid (M-DAC)

Es werden 0,3 g 2,4-Dimethyl-3-hydroxy-5-brommethylpyridin-hydrobromid in 3 ml Methanol gelöst, mit 0,25 g Kaliumthioacetat, gelöst in 2 ml Methanol, versetzt und weiter wie bei der Synthese von 2-Methyl-3-hydroxy-4,5-di-(acetylthiomethyl)-pyridin-hydrochlorid verfahren. Man erhält 0,07 g Substanz, die bei 184—187° C schmilzt.

$C_{10}H_{13}NO_2S \cdot HCl$. Ber. C 48,5, H 5,65. Gef. C 48,3, H 5,89.

2-Methyl-3-hydroxy-4-aminomethyl-5-acetylthiomethyl-pyridin-hydrochlorid (M-PAC)

0,4 g 2-Methyl-3-hydroxy-4-aminomethyl-5-brommethylpyridin-dihydrobromid werden in 4 ml Methanol gelöst, mit einer Lösung von 0,4 g Kaliumthioacetat in 3 ml Methanol versetzt und weiter wie bei der Synthese von 2-Methyl-3-hydroxy-4,5-di-(acetylthiomethyl)-pyridin-hydrochlorid verfahren. Man erhält 0,11 g Substanz, die bei 179—181° C schmilzt.

$C_{10}H_{14}N_2O_2S \cdot HCl$. Ber. C 45,7, H 5,7. Gef. C 45,7, H 5,56.

2-Methyl-3-hydroxy-4,5-di-(mercaptomethyl)-pyridin-hydrochlorid (SpIC)

Methode A: In 18 ml 2 n NaOH wird bei Zimmertemp. Stickstoff eingeleitet und 0,3 g 2-Methyl-3-hydroxy-4,5-di-(acetylthiomethyl)-pyridin-hydrochlorid portionsweise hinzugefügt. Das Durchleiten von Stickstoff wird 20 Stdn. fortgesetzt, hierauf wird, weiterhin unter Stickstoff, mit konz. HCl neutralisiert und dann dreimal mit je 20 ml und zweimal mit je 10 ml Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wird nach dem Trocknen mit Natriumsulfat filtriert, und aus dem Filtrat wird durch Zusatz von 7 n alkohol. HCl das Hydrochlorid des 2-Methyl-3-hydroxy-4,5-di-(mercaptomethyl)-pyridins gefällt. Ausb. 0,19 g. Schmp. 170—170,5° C (u. Zers.).

$C_8H_{11}NOS_2 \cdot HCl$. Ber. C 40,3, H 5,04. Gef. C 40,5, H 5,19.

Methode B: Zu einer Lösung von 0,33 g 2-Methyl-3-hydroxy-4,5-di-(acetylthiomethyl)-pyridin-hydrochlorid in 6 ml Methanol, durch die Stickstoff durchgeleitet wird, fügt man 0,6 ml konz. HCl hinzu und kocht hierauf 3,5 Stdn. unter Rückflußkühlung. Man läßt 2 Tage bei Zimmertemp. verschlossen stehen, entfernt unter Stickstoff das Lösungsmittel bei vermindertem Druck und einer Badtemperatur von 50° C, löst den Rückstand in 3 ml Methanol und fällt aus dieser Lösung durch Zusatz von 40 ml Äther 0,23 g 2-Methyl-3-hydroxy-4,5-di-(mercaptomethyl)-pyridin-hydrochlorid aus. Schmp. 171—171,5° C (u. Zers.).

$C_8H_{11}NOS_2 \cdot HCl$. Ber. C 40,3, H 5,04. Gef. C 40,6, H 5,13.

2-Methyl-3-hydroxy-4-aminomethyl-5-mercaptomethylpyridin-hydrochlorid (SpAC)

Eine Lösung von 0,33 g 2-Methyl-3-hydroxy-4-aminomethyl-5-acetylthiomethyl-pyridin-hydrochlorid in 7 ml Methanol wird unter Einleiten von Stickstoff mit 0,7 ml konz. HCl versetzt und 4 Stdn. unter Rückflußkühlung

gekocht. Man läßt 2 Tage bei Zimmertemp. verschlossen stehen, hierauf wird unter vermindertem Druck und Durchleiten von Stickstoff bei einer Badtemperatur von 50° C nahezu zur Trockne eingedunstet und der Rückstand mit 30 ml Aceton verrieben. Ausb. 0,22 g. Schmp. 133—135° C (u. Zers.).

$C_8H_{12}N_2OS \cdot HCl \cdot \frac{1}{2} H_2O$. Ber. C 42,0, H 6,13. Gef. C 42,1, H 6,33.

2,5-Dimethyl-3-hydroxy-4-aminomethylpyridin-hydrochlorid

0,15 g Palladiumchlorür werden in 165 ml Wasser unter Zusatz von 10 bis 12 Tropfen 5 n HCl gelöst. Zu dieser Lösung gibt man 0,8 g Tierkohle,

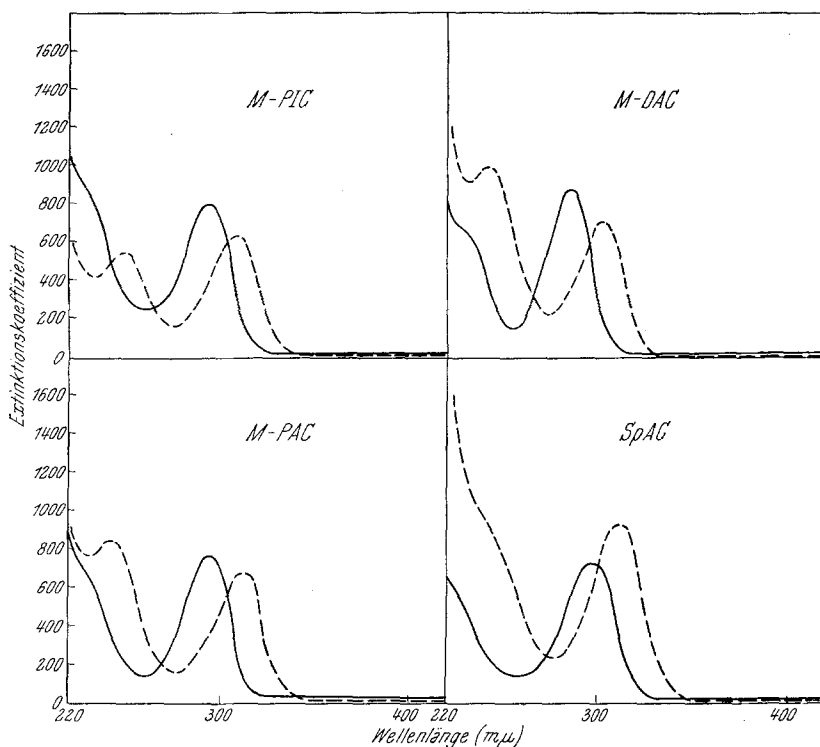


Abb. 1. Die Spektren wurden in Lösungen bestimmt, die ca. 20 γ/ml enthielten. Zur Anwendung gelangte ein Beckmann DU-Spektrophotometer. — in 0,1 n HCl, ---- in 0,1 n NaOH.

die nach Mozingo¹ mit Salpetersäure vorbehandelt wurde, und schüttelt 2 Stdn. mit Wasserstoff bei ca. 2,5 atü. Nun fügt man 3 g 2-Methyl-3-hydroxy-4-aminomethyl-5-brommethylpyridin-dihydrobromid und 45 ml Wasser hinzu und hydriert bei gleichem Druck 5 Stdn. Nach dem Filtrieren wird die Lösung unter vermindertem Druck auf ca. 30 ml eingengt und 5 Stdn. mit AgCl, das man aus einer Lösung von 5,1 g AgNO₃ in 30 ml Wasser und 30 ml n HCl bereitet hat, geschüttelt. Danach wird abgesaugt, das Filtrat unter vermindertem Druck zur Trockne eingedampft, der Rückstand in 75 ml Methanol

¹ R. Mozingo, Org. Synth. 26, 78 (1946).

gelöst und die Lösung mit Kohle behandelt. Nach dem Abfiltrieren der Kohle wird die Lösung auf ca. 30 ml eingengt und das Hydrochlorid durch Zusatz von 75 ml Äthyläther ausgefällt. Ausb. 1,38 g. Schmp. 266—268° C (u. Zers.).

$C_8H_{12}ON_2 \cdot 2 HCl$. Ber. C 42,6, H 6,20, Cl 31,5. Gef. C 42,2, H 6,30, Cl 31,4.

2-Methyl-3-hydroxy-4-aminomethyl-5-acetoxymethylpyridin-hydrochlorid

0,78 g 2-Methyl-3-hydroxy-4-aminomethyl-5-brommethylpyridin-dihydrobromid, 1 g Silberacetat und 3,3 g Kaliumacetat werden gut miteinander verrieben, 15 ml Eisessig hinzugefügt und 2 Stdn. auf dem Wasserbad erwärmt.

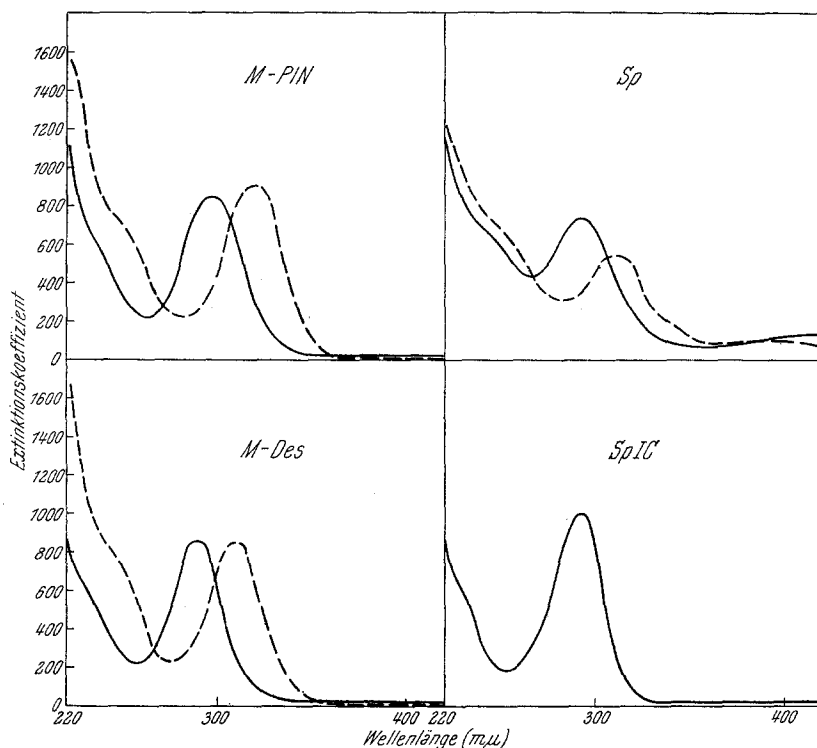


Abb. 2. Die Spektren wurden in Lösungen bestimmt, die ca. 20 γ/ml enthielten. Zur Anwendung gelangte ein Beckmann DU-Spektrophotometer. — in 0,1 n HCl, ---- in 0,1 n NaOH.

Es wird dann unter vermindertem Druck, ev. unter Zusatz von absol. Äthanol, zur Trockne eingedunstet. Der Rückstand wird fünfmal mit je 10 ml absol. Äther digeriert, die Ätherlösung filtriert und mit Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Filtrieren wird aus der Lösung das Hydrochlorid des acetylierten Pyridoxamins durch Zusatz von 7 n alkohol. HCl gefällt. Die Fällung wird abzentrifugiert, mit absol. Äther gewaschen und in wenig absol. Äthanol gelöst. Die Lösung wird mit Kohle behandelt, filtriert, und durch Zusatz von absol. Äther das Hydrochlorid aus der Lösung ausgefällt. Ausb. 0,11 g. Schmp. 227—229° C (u. Zers.).

$C_{10}H_{14}N_2O_3 \cdot HCl$. Ber. Cl 14,4. Gef. Cl 14,8.

2,4-Dimethyl-3-hydroxy-5-acetoxymethylpyridin-hydrochlorid

0,6 g 2,4-Dimethyl-3-hydroxy-5-brommethylpyridin-hydrobromid, 0,7 g Silberacetat und 2,2 g Kaliumacetat werden miteinander gut gemischt, 10 ml Eisessig hinzugefügt und weiter wie bei der Synthese von 2-Methyl-3-hydroxy-4-aminomethyl-5-acetoxymethylpyridin-hydrochlorid verfahren. Ausb. 0,15 g. Schmp. 209—210° C (u. Zers.).

$C_{10}H_{13}NO_3 \cdot HCl$. Ber. Cl 15,35. Gef. Cl 15,3.

Pyridoxamin-dihydrochlorid

1,2 g Adamskatalysator werden in 80 ml 91-proz. Äthanol und 3,3 ml konz. HCl gelöst und mit Wasserstoff bei 1 atü reduziert. Hierauf fügt man 2,32 g Pyridoxal-oxim und weitere 200 ml Äthanol hinzu und schüttelt nun bei 1 atü und Zimmertemp. so lange, bis die entsprechende Menge Gas absorbiert ist, was gewöhnlich 5—6 Stdn. in Anspruch nimmt. Nach beendeter Hydrierung wird vom Katalysator abgesaugt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck durch Erwärmen auf dem Wasserbad bei einer Badtemperatur von 50° C entfernt. Der Rückstand wird in 50 ml Methanol gelöst, die Lösung mit Kohle behandelt und nach dem Filtrieren auf ca. das halbe Volumen eingeeengt. Nachdem einige Tropfen 7 n alkohol. HCl hinzugefügt worden sind, fällt man das Pyridoxamin-dihydrochlorid durch Zusatz von ca. 90 ml absol. Äther aus. Ausb. 2,95 g.

$C_8H_{12}N_2O_2 \cdot 2 HCl$. Ber. Cl 29,4. Gef. Cl 29,6.

Das bei der Synthese von Pyridoxamin verwendete Oxim wurde nach der Methode von *Viscontini*, *Ebnöther* und *Karrer*² hergestellt, wobei aber statt der Pyridoxolbase die entsprechende Menge des Hydrochlorides mit gleichem Erfolg verwendet werden konnte.

Pyridoxaminbase

2 g Pyridoxamin-dihydrochlorid werden in 8 ml Wasser gelöst. Diese Lösung wird mit 1,2 ml konz. NH_3 -Lösung stark alkalisch gemacht und über Nacht in den Kühlschrank gestellt. Nach dem Absaugen wird mit wenig Eiswasser nachgewaschen. Ausb. 1,34 g.

Magnesiumsalz des Pyridoxamin-5-phosphats

0,3 g Pyridoxaminphosphat werden in 10 ml destill. Wasser gelöst und mit soviel kolloidaler Lösung von Magnesiumhydroxyd, bereitet aus Magnesiumäthylat, versetzt, bis das pH der Mischung 8 ist. Hierauf wird abfiltriert und das Salz durch Zusatz von 50 ml absol. Äther zum Filtrat ausgefällt. Es wird abzentrifugiert und zweimal mit je 20 ml absol. Äther nachgewaschen. Ausb. 0,26 g.

$C_8H_{11}MgN_2O_5P \cdot 4 H_2O$. Ber. C 28,1, H 5,56, N 8,2. Gef. C 28,1, H 5,52, N 8,13.

Diese Arbeit wurde auf Grund eines Vorschlages Laborator med. Dr. *Gunnar Jungners* in Angriff genommen und durch die materielle Unterstützung der *Riksförening mot Polio* und *Statens Medicinska Forskningsråd* ermöglicht, wofür ich hier meinen aufrichtigen Dank zum Ausdruck bringen will.

² *M. Viscontini, C. Ebnöther und P. Karrer*, *Helv. Chim. Acta* **34**, 1839 (1951).