

Chemia Pirydoksyny

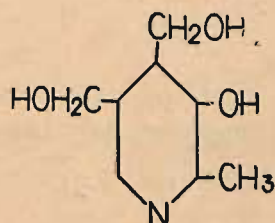
(Witaminy B 6)

T. URBĄŃSKI

W s t ę p.

Pirydoksyna, inaczej Adermina, czyli Witamina B 6 jest jednym z najmłodszych członków wielkiej rodziny, obejmującej grupę witamin B. Mimo to zyskuje coraz większe znaczenie w leczeniu pewnych przypadków anemii i zaburzeń nerwowych. Miara zainteresowania się Witaminą B 6 jest np. fakt, że w 1946 r. firma amerykańska Merck & Co, Inc. buduje w Elkton, Virginia, USA, fabrykę tej witaminy kosztem ok. 1,5 miliona dolarów (*Science* **104**, 54, 1946).

W pracach opisanych niżej udowodniono budowę pirydoksyny jako 2-metylo- 3-hydroksy — 4,5- dwuhydroksymetylopirydyny (I).



I.

Jest to więc pochodna β - hydroksypirydyny.

Na fakt pokrewieństwa ogólnie „Witaminy B” z β -hydroksypirydyną wskazał po raz pierwszy R. R. Williams już w r. 1921 (*J. Ind. Eng. Chem.* **13**, 1107, 1921), a więc w czasie, gdy jeszcze nie rozdzielono zespołu witamin B na poszczególne człony.

Pierwszą wskazówkę o istnieniu witaminy B 6 w drożdżach, otrębach ryżowych i wątrobie, podaje amerykański biochemik P a u l G y ö r g y i współpracownicy w 1934 — 35 (*Nature*, **133**, 498, 1934; *Birch, P. György i Harris. Biochem. J.* **29**, 2830, 1935).

Autorzy ci określają Witaminę B 6, jako czynnik przeciw pelagrze (co później okaza-

ło się niesłuszne, gdyż czynnikiem tym jest Witamina B 2 i kwas nikotynowy).

Ten sam autor stwierdza w dalszej pracy (*Birch i P. György, Biochem. J.* **30**, 304, 1936), że Witamina B 6 ma własności zasady azotowej i tworzy chlorowodorek o temp. topn. 204—206° (z rozkładem). Następnie P. György podaje (*J. Am. Chem. Soc.* **60**, 983, 1939) sposób wyodrębniania witaminy B 6 z otręb ryżowych:

ekstrakt w HCl ($pH = 1,4$) przepuszcza się przez kolumnę z ziemią okrzemkową. Wymywa się z niej wolną zasadę roztworem $Ba(OH)_2$, roztwór wolnej zasady odsącza i przesącz zadaje się kwasem siarkowym, celem usunięcia Ba . Przesącz od $BaSO_4$ zobojętnia się $NaOH$, odparowuje do sucha. Wolną zasadę witaminową ekstrahuje się alkoholem, zadaje eterem, odsącza osad powstający od zamrożenia i przesącz odparowuje.

Witaminę B 6 wyciąga się wodą z osadu.

Budowa i synteza Pirydoksyny.

Prace nad budową Witaminy B 6 podejmuje następnie R i c h a r d K u h n i G. W e n d t. W serii prac (*Ber.* **71**, 780, 1118, 1534, 1938) podają opis pewnych własności chemicznych produktu wyodrębnionego z otręb ryżowych i drożdży. Autorzy ustalają wzór empiryczny chlorowodoru (t. topn. 204—205°) $C_5H_{12}O_3NCl$. Substancję tę działaniem bezwodnika octowego przeprowadzili w pochodną acetylową, a działaniem dwuazometanu w eter metylowy. Doświadczeniami tymi stwierdzili obecność 3 grup OH , z czego jedna grupa ma charakter fenolowy, a dwie pozostałe alkoholowy.

Dalszym poważnym krokiem naprzód było stwierdzenie przez tychże autorów (R. K u h n i W e n d t. *Ber.* **72**, 305, 1939) na podstawie widma absorpcji w ultrafiolecie, że Witamina B 6 jest pochodną β - hydroksypirydyny.

Utlenienie eteru metylowego witaminy B₆ daje według tych autorów kwas trójasadowy, który przez silne ogrzewanie tworzy bezwodnik, tracąc jednocześnie 1 mol. CO₂. Kwas trójasadowy daje z FeSO₄ krwiste zabarwienie, charakterystyczne dla kwasów pirydyno-karbonowych z grupą karboksylową w pozycji α.

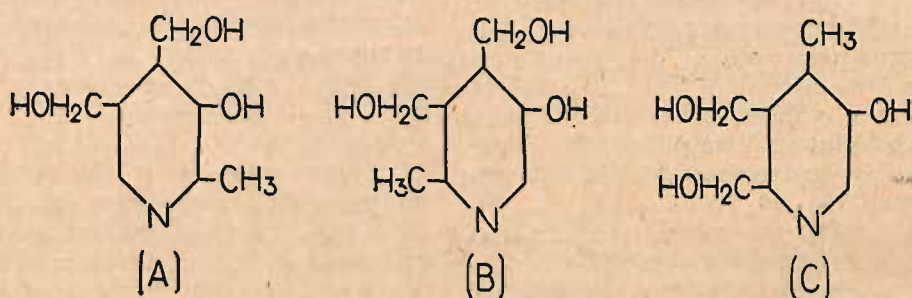
Po utracie jednej grupy karboksylowej (przez sublimowanie) tworzący się kwas dwuzasadowy reakcji tej nie daje, co dowodzi, że odszczepiona grupa CO₂ zajmowała pozycję α. Z faktu, że kwas dwuzasadowy tworzy bezwodnik, należy wnioskować, że obydwie pozostałe grupy zajmują pozycję orto względem siebie.

Kuhn i Wendt podają nast. możliwe trzy wzory witaminy B₆, oparte na tych spostrzeżeniach (II A, B i C):

dowego, posiadający wzór III A, identyczny z produktem otrzymanym poprzednio z witaminy B₆. Tą drogą udowodnili tę właśnie budowę (III A).

Następnie publikacja R. Kuhna z Wendtem i K. Westphalem. (Ber. 72, 310, 1939) podaje, że ostrożnie utlenienie metylowego eteru witaminy, w czasie którego metylowa grupa pozostaje niezmieniona, tworzy kwas dwuzasadowy (IV), który nie daje barwnej reakcji z FeSO₄. Stąd wniosek, że grupa metylowa jest w pozycji α. Wobec tego mogą być brane pod uwagę tylko wzory (II A) i (B). Natomiast wzór (C) odpada.

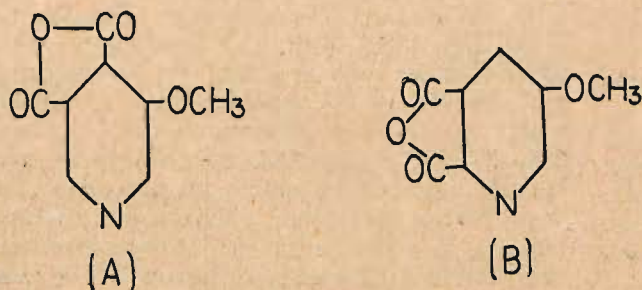
Kwas dwuzasadowy został przyrządzony syntetycznie. Na podstawie syntezy ustalili, że ma on budowę (IV), z czego wypływa,



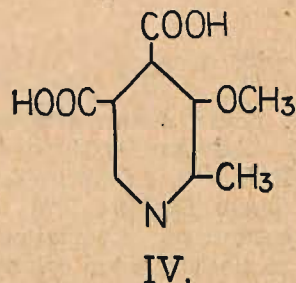
II.

Bezwodnik kwasu dwuzasadowego może zaś mieć wzór III A lub B:

że budowa Witaminy B₆ odpowiada wzorowi (II A).



III.

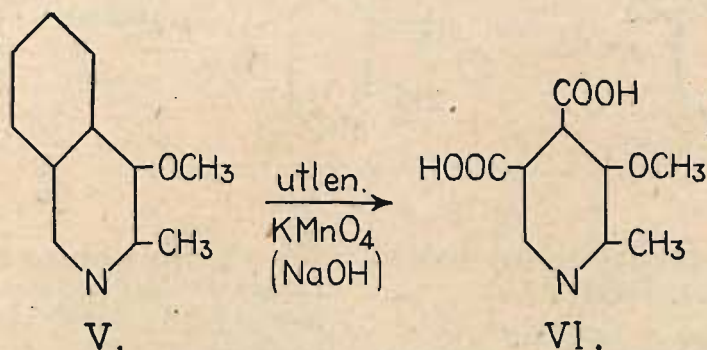


W następnej pracy R. Kuhn, Andersag, K. Westphal, Wendt (Ber. 72, 309, 1939) podają, że przyrządzili syntetycznie metylowy eter bezwodnika kwasu dwuzasa-

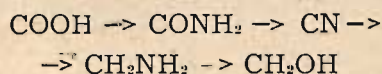
Dalsze potwierdzenie budowy Pirydoksyny zostało dostarczone przez R. Kuhna, K. Westphala, Wendta i O. Westphala. (Naturwiss. 27, 469, 1939) w drodze

następujących przemian 3-metylo-4-metoksy — izochinoliny (V) jako substancji wyjściowej:

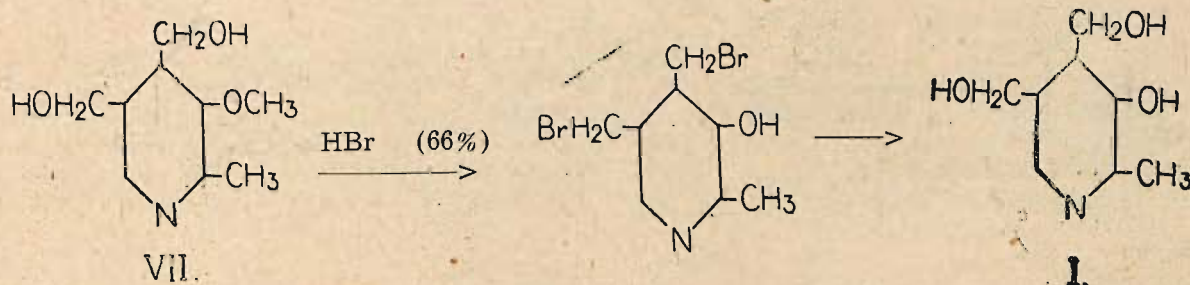
W tym samym czasie amerykańscy autorzy (z laboratorium badawczego Mercka w USA) — S. A. Harris, E. J. Stiller,



Tworzy się pochodna kwasu cynchomerowego (V), w której grupy karboksylowe można przeprowadzić w grupy hydroksymetylowe w drodze nast. szeregu przemian:



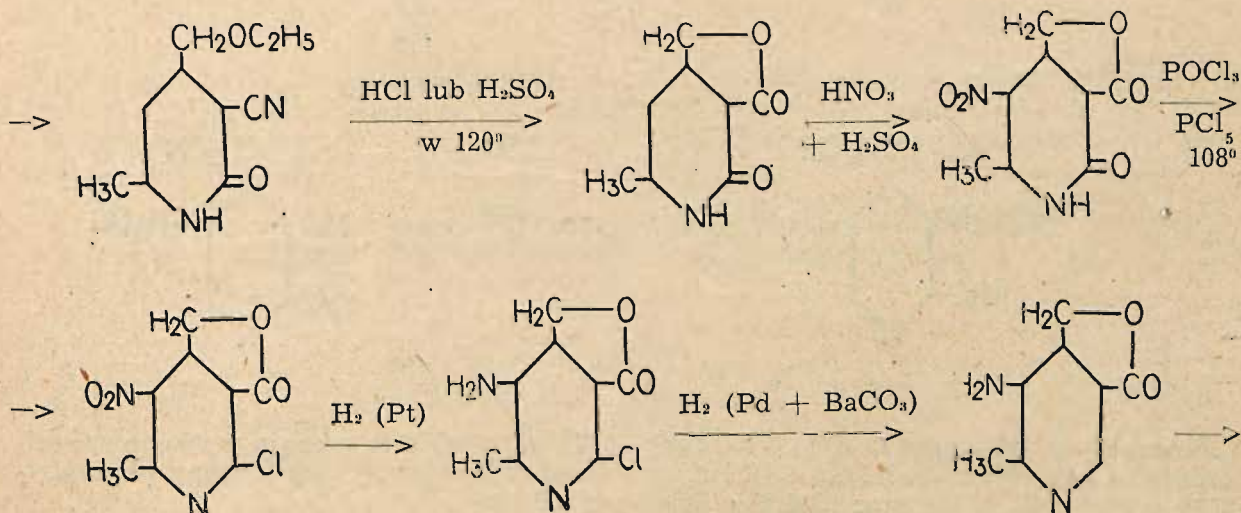
K. Folkers (J. Am. Chem. Soc. **61**, 1242, 1939; również E. J. Stiller, J. C. Keresztesy, J. R. Stevens, J. Am. Chem. Soc. **61**, 1237, 1939) podali inny dowód budowy kwasu dwuzasadowego (IV) otrzymanego przez utlenienie eteru metylowego pirydoksyny:

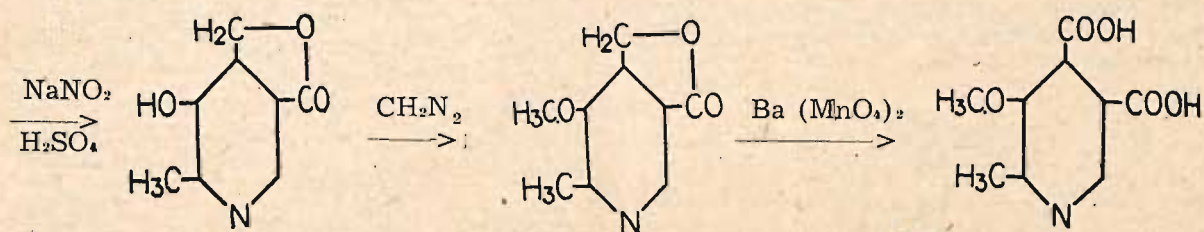


Utworzony eter metylowy witaminy B6 (VII) może być poddany hydrolizie stęż. HBr i daje właściwą witaminę: (również R. Kuhn i Wendt, Ber. **72**, 311, 1939).

$\text{CH}_3 \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COCH}_2 \cdot \text{OC}_2\text{H}_5$ +
etoksyacetyloaceton

+ $\text{CNCH}_2\text{CONH}_2$ $\xrightarrow{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} + \text{piperydyna}}$
cyjano-acetamid



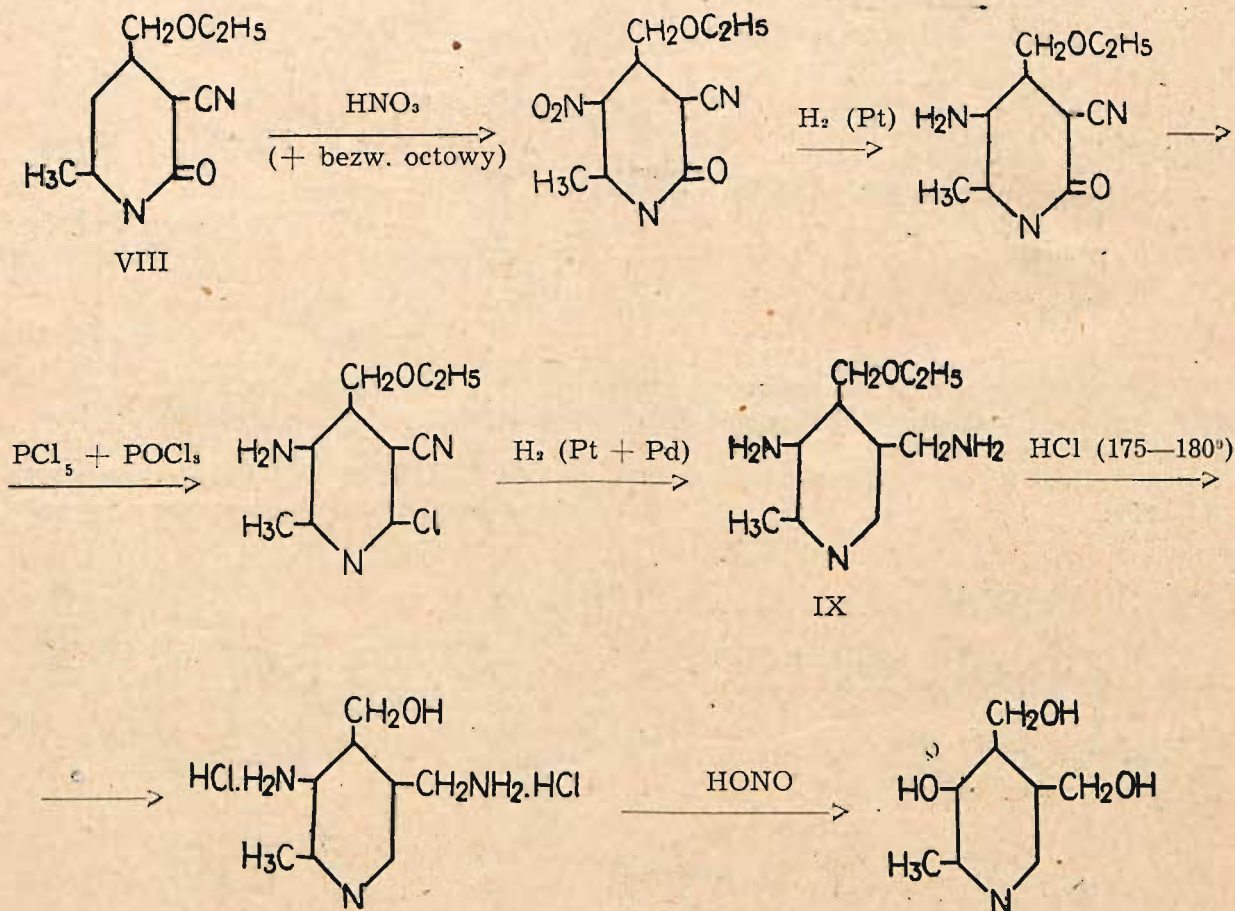


Na podstawie syntezy tej autorzy udowodnili więc budowę pirydoksyny (I).

Następnie S. A. Harris i K. Folkers ogłaszają prace nad syntezą tej substancji (J. Am. Chem. Soc. **61**, 1245, 3307, 1939), wychodząc z przyrządzonego przez siebie poprzednio: 3-cyano-4-etoksymetylo-5-nitro-6-metylo-2-pirydonu (VIII). Oto synteza tych autorów w postaci przez nich udoskonalonej:

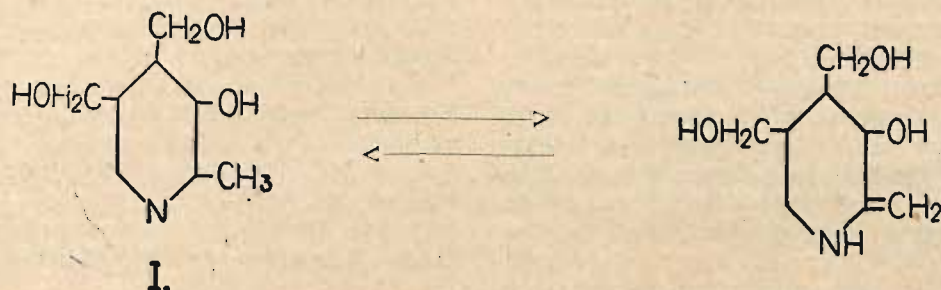
które kończą syntezą Witaminy B₆, identyczną w zasadzie z syntezą, dokonaną przez K u h n a z kwasu 2-metylo-3-metoksynchomerowego.

Autorzy japońscy spostrzegają nadto ciekawe zjawisko: metylowanie pirydoksyny dwuazometanem prowadzi nie tylko do utworzenia się eteru, lecz również pewnej ilości N-metylowej pochodnej.



Wreszcie w tym samym roku japońscy autorzy Akivoshi Ichiba i Kimyo Michi ogłosili szereg prac (Sci. Pap. Inst. phys. chim. Res. **35**, 73, 1938; **36**, 1, 173, 1939),

Spostrzeżenie to próbują wytłumaczyć istnieniem tautomerycznej odmiany pirydoksyny (I A):



Nie wydaje się, aby pogląd ten był słuszny. Natomiast spostrzeżenie autorów japońskich nabiera specjalnego znaczenia w świetle nowych prac nad tzw. Ψ - Pirydoksyną, czyli Pirydoksamina, o której mowa dalej. Możliwe, że autorzy mieli pewną ilość pirydoksaminy w pirydoksynie. Grupa aminowa pirydoksaminy ulec może z metylowaniem pod wpływem dwuazometanu.

Biosynteza Pirydoksyny.

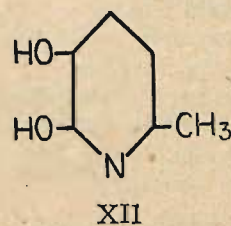
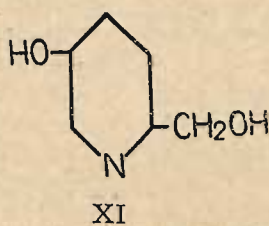
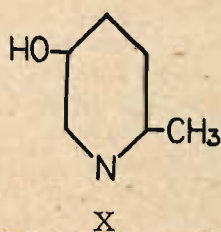
Japoński badacz K. A s o ogłosił szereg prac (J. Agric. Chem. Soc. Japan **16**, 249, 253, 1940), w których rozmaite heksozy poddawał ogrzewaniu z solami amonowymi w autoklawie w 150—160°. Z produktów reakcji wyodrębnił on następujące zasady pirydynowe:

zblizonych do Witaminy B₆ i poddaje myśl, że właśnie tego rodzaju synteza zachodzi w żywych organizmach, produkujących tę Witaminę.

Autor artykułu niniejszego w pracy swej (T. U r b a ń s k i J. Chem. Soc. 1946, 1104) wyszedł z założenia, że grupy —CH₂OH mogą tworzyć się przez przyłączenie formaldehydu do węgla, związanego z ruchliwym wodorem:



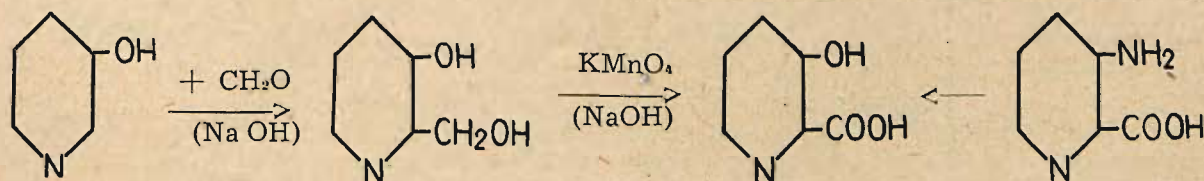
(np. powstawanie saligeniny z fenolu i formaldehydu, M a n a s s e. Ber. **27**, 2409, 1894, przyłączenie formaldehydu do nitrometanu H e n r y, Bull. Roy Belg. (3), **32**, I, 36, 1896, **33**, 412, 1897; **37**, 162, 1901; Ber. **38**, 2027, 1905).



Wszystkie te zasady są pochodnymi β - hydroksy-pirydyny. Nadto związek (XI) zawiera grupę hydroksymetylową, charakterystyczną dla pirydoksyny.

Praca ta udowadnia możliwość przejścia od cukrów i soli amonowych do związków

Ogrzewając β - hydroksypirydynę z formaldehydem w roztworze 10%-wego NaOH wyodrębnił on istotnie produkt, który zawiera grupę —CH₂OH w pozycji α (XIII). Budowę substancji udowodnił przez utlenienie jej do odpowiedniego kwasu (3-hydroksypikolinowego), znanego w literaturze (XIV)



przyrządzonego z kwasu 3-aminopikolinowego przez dwuazowanie.

(T. U r b a ń s k i ibid.).

Na podstawie tej reakcji oraz doświadczeń K. A s o autor pracy niniejszej pragnie wypowiedzieć hipotezę, że **pirydoksyna** w żywym **organizmie tworzy się z formaldehydu** (dającego ewent. przejściowo **cukry**), oraz **związków azotu przy współudziale procesów utlenienia**.

Hipoteza ta jest oczywiście szczególnym przypadkiem teorii A l f r e d a B a e y e r a (1870) o asymilacji węgla przez redukcję CO_2 z przejściowym utworzeniem formaldehydu.

Szereg autorów rozwija tę teorię w zastosowaniu do przyswajania azotu i biosyntezy związków azotowych. Tak więc B a u d i s c h (Ber. 44, 1009, 1911) przypuszcza, że pierwszym krokiem asymilacji azotu w roślinach jest tworzenie się kwasu formhydroksamowego (z formaldehydu i obecnych w roślinach azotynów).

Kwas formhydroksamowy miałby następnie reagować z formaldehydem, tworząc szereg zasad azotowych, w tej liczbie zasady pirydynowe, występujące w roślinach (Ber. 46, 113, 1913; 49, 1159, 1167, 1176, 1916; 50, 652, 1917; 51, 793, 1918; Z. angew. Ch. 26, 612, 1913).

Doświadczenia te potwierdził E. C. C. B a l y ze współpracownikami (B a l y, Photosynthesis, p. 131 — 164, London 1940). W szczególności wspólnie z M i s s M o r r i s o n stwierdził obecność pirydyny w produktach fotoreakcji formaldehydu z amoniakiem.

W obecności metylo i dwu-metyloaminy autorzy otrzymali produkty bardziej skomplikowane, np. **koninę**.

W świetle tych doświadczeń hipoteza powstawania **pirydoksyny** w drodze biosyntezy z formaldehydu i związków azotu wydaje się mieć pewne uzasadnienie.

Przypuszczenie współudziału procesów utlenienia jest uzasadnione na podstawie stwierdzonego przez H. F i s c h e r a, T. Y o s h i o k a i P. H a r t m a n n a (Z. Physiol. Chem. 212, 152, 1932) faktu, że pirydyna ulega utlenieniu na β —hydroksypirydynę pod wpływem H_2O_2 . Autor pracy niniejszej stwierdził, że ślady β —hydroksypirydyny tworzą się już pod wpływem dłuższego kontaktu pirydyny z tlenem powietrza.

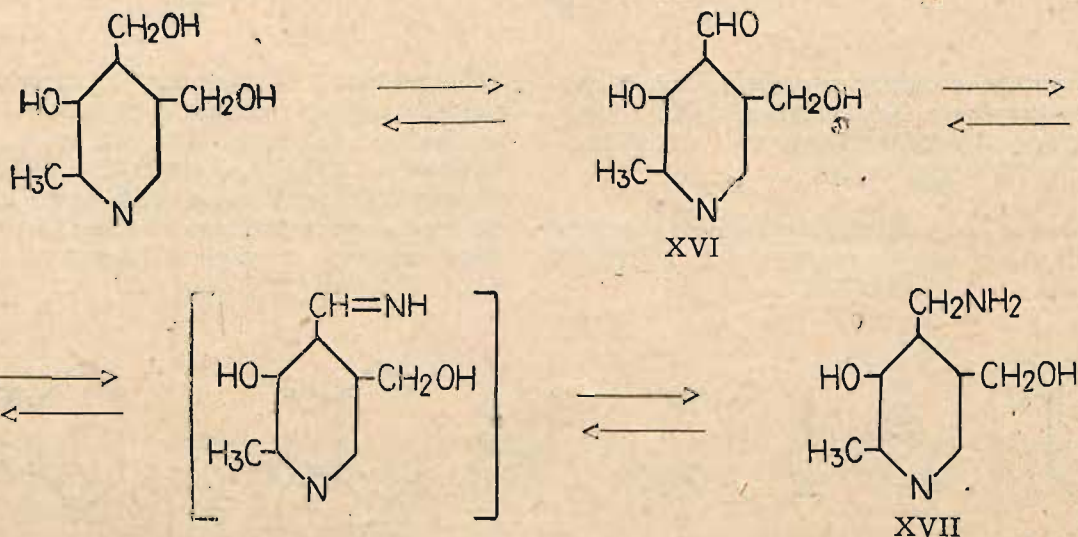
Pirydoksamina, czyli Ψ — Pirydoksyna

Amerykańscy autorzy E. E. S n e l l, G u i r a r d i R. J. W i l l i a m s (J. Biol. Chem. 143, 519, 1942) spostrzegli, że **Streptococcus lactis R** rozwija się szybko na pożywce, do której dodano pirydoksynę. Rozwój ten zachodzi jednak znacznie szybciej niż wyphywałoby to z obecności pirydoksyny. Poddąło to myśl, że pirydoksyna pod wpływem bakterii ulega przemianie na inną substancję — Ψ — **pirydoksynę**. Różne organizmy w różnym stopniu wpływają na pirydoksynę np. **Streptococcus lactis R** silnie przemienia pirydoksynę, natomiast **Saccharomyces cerevisiae** przemienia ją znacznie słabiej. Oczywiście komplikuje to biologiczne próby nad samą pirydoksyną.

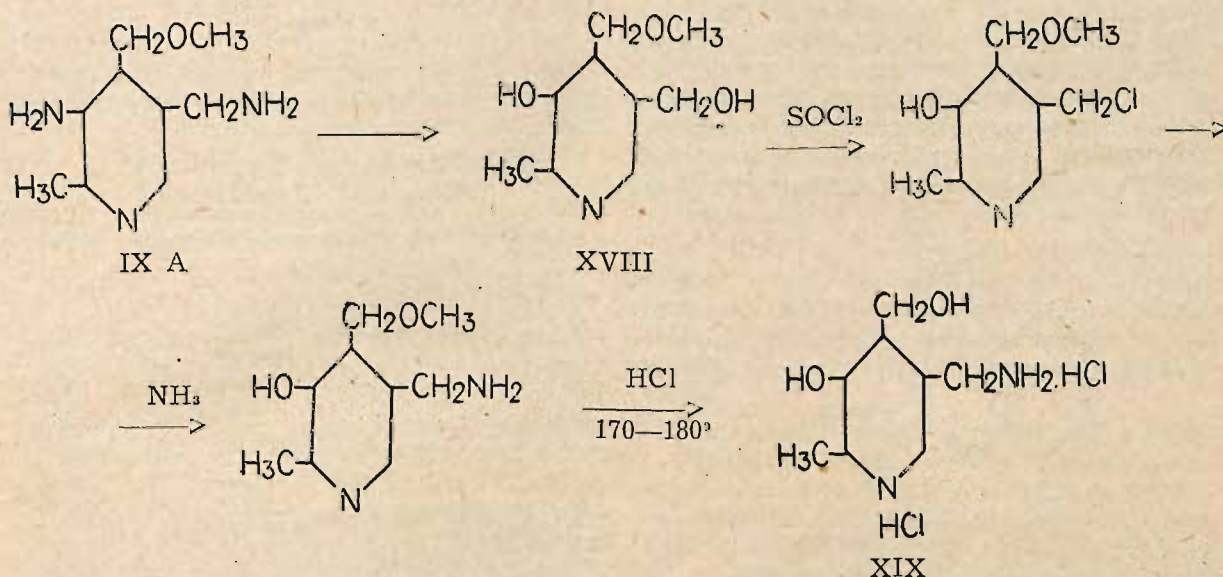
Następnie E. E. S n e l l znalazł, że ogrzewanie pirydoksyny w autoklawie z amoniakiem powoduje utworzenie się nowej substancji ok. 140 razy aktywniejszej, niż pirydoksyna (J. Biol. Chem. 154, 313, 1944; J. Amer. Chem. Soc. 66, 2082, 1944). Również utlenienie Pirydoksyny (za pomocą MnO_2 daje produkt ok. 50 razy silniejszy.

Produkt działania amoniaku na pirydoksynę S n e l l nazywa **Pirydoksamina**, a produkt utlenienia **Pirydoksałem**.

Autor tłumaczy przemianę na Pirydoksamina (XVII) i Pirydoksał (XVI) za pomocą następującego schematu:

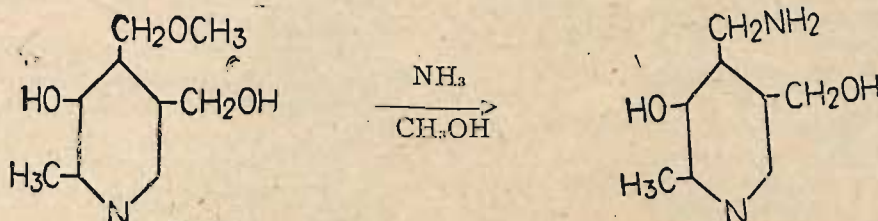


Budowę Pirydoksaminy i Pirydoksalu ustalili autorzy amerykańscy: S. A. H a r r i s, D. H e y l i K. F o l k e r s (J. Amer. Chem. Soc. **66**, 2088, 1944) w drodze następn. syntezy z metylowego homologu substancji (IX) — stanowiącego produkt pośredni w syntezie pirydoksyny:



Otrzymany produkt jest izomerem pirydoksaminy, (XVII) którą otrzymano działaniem amoniaku na pirydoksynę:

wyjaśnił niezależnie od autorów amerykańskich (według sprawozdania Combined Intelligence Objectives Sub-Committee XXIV-13).

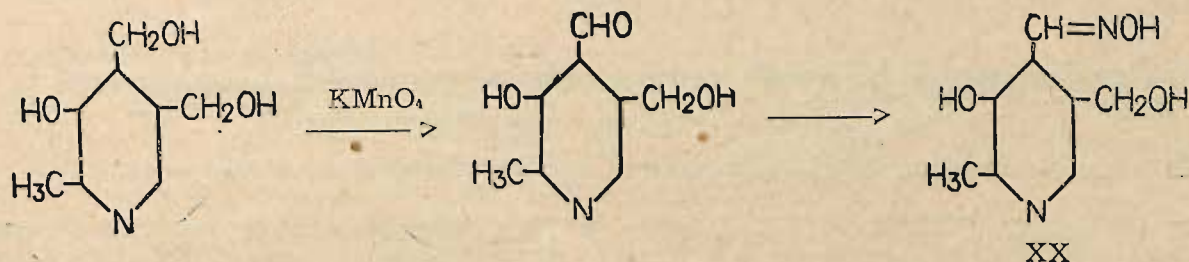


Substancja ta silnie sprzyja rozwojowi *Lactobacilli casei* i *Streptococcus lactis* R i różni się znacznie od (XIX).

Pirydoksal (XVI) autorzy otrzymali w sposób następujący:

Znaczenie Pirydoksyny w lecznictwie.

Znaczenie pirydoksyny w przyrodzie było przez długi czas nieznane. Ostatnie badania (1938—41) wykazały, że pirydoksyna odgrywa dużą rolę w metabolizmie żelaza. Dzięki



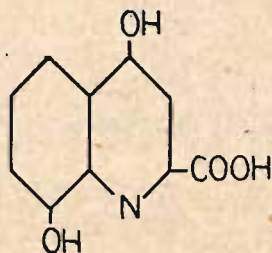
Budowa jest udowodniona w ten sposób, że kontaktowe uwodornienie substancji (XX) dało substancję (XVII).

temu można stosować ją do leczenia pewnych przypadków anemii, których nie można wyleczyć żelazem i miedzią. Są to przy-

padki anemii zbliżone do anemii złośliwej, jednak charakteryzujące się tym, że nie reagują na zastrzyk wyciągu wątrobianego.

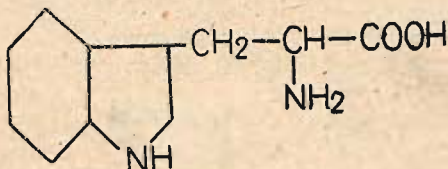
Inne zastosowanie znajduje pirydoksyna w leczeniu pewnych zaburzeń nerwowych.

Ciekawe jest spostrzeżenie szeregu autorów amerykańskich na wpływ pirydoksyny na metabolizm azotu. Według spostrzeżenia S. L e p k o w s k i e g o i innych (J. Biol. Chem. 149, 195, 1943; 155, 299, 1944) szczury cierpiące na brak pirydoksyny wydzielają w moczu pochodną chinoliny (XXI) w postaci zielonego pigmentu, stanowiącego kompleks z żelazem. W ten sposób zachodzi wydalanie żelaza z organizmu. Związek ten przestaje występować z chwilą zażycia pirydoksyny.



XXI

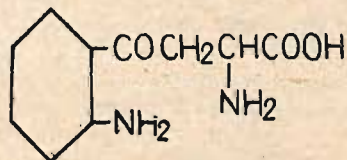
Obecność poch. chinoliny (XXI) jest szczególnie znaczna, gdy w diecie znajduje się **tryptofan** (XXII) stanowiący źródło pochodnych indolu w wydzielinach zwierząt.



XXII

Pominięcie tryptofanu w diecie ma podobny skutek jak i dodanie pirydoksyny — zespół żelaza z (XXI) przestaje występować w moczu. W braku pirydoksyny, w moczu zwierząt ukazuje się również **kinurenina** (XXIII) stanowiąca prawdopodobnie jeden z produktów przejściowych w metabolizmie

tryptofanu. Wydaje się, że brak pirydoksyny uniemożliwia dalszy zapas kinureniny.



XXIII

Są to dopiero pierwsze prace, które wskazują na duże znaczenie, jakie pirydoksyna posiada w metabolizmie azotu.

Zakład Technologii Organicznej II Politechniki Warszawskiej

Chemistry of Pyridoxine (Vitamin B 6)

by T. U r b a ń s k i
S u m m a r y.

After describing the present state of our knowledge of the chemistry of pyridoxine, the author advanced a suggestion on biosynthesis of pyridoxine from formaldehyde and nitrogen compounds. The experiments by K. A s o (J. Agric. Chem. Soc. Japan, 1940, 16, 249, 253) on formation of β -hydroxypyridine derivatives, e. g. 3-hydroxy-5-hydroxymethyl-pyridine, from sugars and ammonium salts and the experiments by the author of the present paper (J. C. S. 1946, 1104) on condensation of β -hydroxypyridine with formaldehyde to 3-hydroxy-2-hydroxymethyl-pyridine are quoted to support his suggestion.

Some oxidation reactions can also play certain part in the formation of β -hydroxypyridine in the living organisms. This suggestion is based on the experiment by H. F i s c h e r, Y o s h i o k a and H a r t m a n (Z. Physiol. Chem. 1932, 212, 152) on oxidation of pyridine with hydrogen peroxide to β -hydroxy-pyridine, and on the observation by the author of the present paper, that certain amount of β -hydroxy pyridine is formed, when pyridine is subjected to an action of the air-oxygen.

2-and Laboratory of Organic Technology,
Institute of Technology, Warsaw.

Porównanie benzoli surowych z gazowni i koksowni

Inż. JADWIGA GEPNERÓWNA-SZPAKOWSKA

Laboratorium Fabryki Chemicznej Gazowni Miejskiej m. st. Warszawy.

WSTĘP.

Produktem wstępnym nazywać będę destylat, otrzymywany przy odsycaniu oleju płuczkowego, służącego do odbenzolowywania gazu węglowego; benzolem surowym —

surową frakcję produktu wstępnego, która podczas destylacji na aparacie S p i l k e r a daje około 95% destylatu, wrzącego poniżej 180°.

Celem badań niniejszych było określenie i porównanie składu benzoli surowych róż-