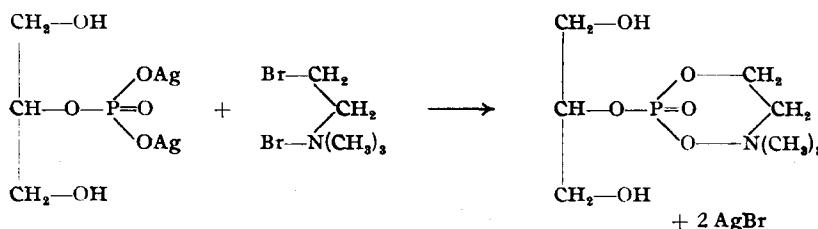


16. Herbert Arnold: Synthese des Cholinesters der β -Glycerin-phosphorsäure.

[Aus d. chem. Abteil. d. „Forschungs-Instituts für Chemotherapie“, Frankfurt a. M.]
(Eingegangen am 15. Dezember 1939.)

Nach Untersuchungen von A. Contardi und A. Ercoli¹⁾ werden die beiden Fettsäurereste des Lecithins unter der Einwirkung der Lecithasen stufenweise abgespalten. Es tritt durch Lecithase A zunächst Zerlegung in Lysocithin und ungesättigte Fettsäure ein. Das Lysocithin wird durch Lecithase B weiter in gesättigte Fettsäure und den Cholinester der Glycerin-phosphorsäure zerlegt. Dieser fettsäurefreie Lecithinbaustein konnte von den genannten Autoren nur in unreiner Form aus dem enzymatischen Hydrolysengemisch isoliert werden. Es war daher zum Studium seiner physiologischen Eigenschaften die Reindarstellung durch Synthese wünschenswert.

Diese erfolgte durch Umsetzung des Di-Silbersalzes der β -Glycerinphosphorsäure mit Trimethyl-(β -brom-äthyl)-ammoniumbromid in heißem Alkohol. Dem nachstehenden Formelbild entsprechend entsteht dabei das Endosalz des β -Glycerinphosphorsäure-cholinesters:

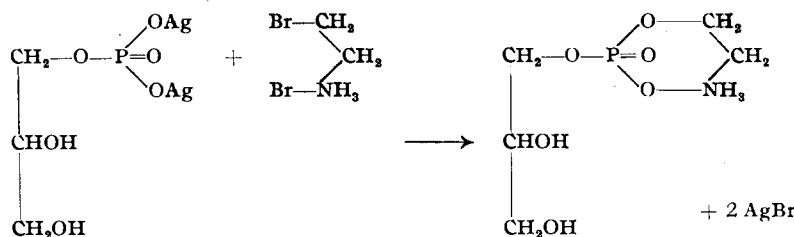


Das Produkt krystallisiert aus absolutem Alkohol nach Zusatz von wenig trocknem Äther bis zur Trübung im Eisschrank in strahlenartig angeordneten, farblosen Nadeln und zeigt nach sorgfältigem Trocknen den Schmelzpunkt 104—105°. Die chemischen und physikalischen Eigenschaften bleiben auch bei längerem Erhitzen im Hochvakuum auf 100° erhalten. Der Ester ist stark hygroskopisch und gibt in alkohol. Lösung mit methylalkohol. Chlorcadmiumlösung eine sich rasch absetzende weiße Fällung. Diese enthält keinen Stickstoff mehr und stellt ein Cadmiumsalz der β -Glycerinphosphorsäure dar; bei der Einwirkung von Chlorcadmium kommt es demnach zu einer Aufspaltung des Cholinesters. Auf die Fällung mit Chlorcadmium und das hygroskopische Verhalten des durch Fermentwirkung aus dem Lysocithin gewonnenen Esters weisen auch die italienischen Forscher (1. c.) hin.

Es sei noch erwähnt, daß der von R. Feulgen und Th. Bersin²⁾ durch katalytische Spaltung des Acetalphosphatids „Plasmalogen“ erhaltene Colaminester der Glycerinphosphorsäure bei 86—87° schmilzt, also 28° tiefer als der oben beschriebene Cholinester. Auch die Synthese des Colaminesters der α -Glycerinphosphorsäure wurde in Angriff genommen. Durch Umsetzung des Di-Silbersalzes der α -Glycerinphosphorsäure mit Bromäthylamin-hydrobromid in Alkohol:

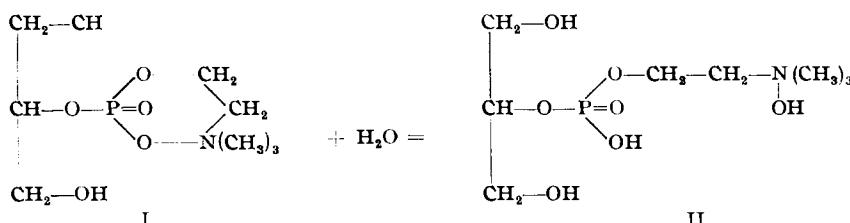
¹⁾ Biochem. Ztschr. **261**, 275 [1933].

²⁾ Ztschr. physiol. Chem. **260**, 241 [1939].



gelangte ich zu einem Produkt, das hinsichtlich Löslichkeit, Schmelzpunkt und hygroskopischer Eigenschaft dem von Feulgen und Bersin aus dem Plasmalogen isolierten recht ähnlich war, das aber nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte und dessen Analyse daher unbefriedigend ausfiel.

Die pharmakologische Untersuchung des synthetischen β -Glycerinphosphorsäure-cholinesters hatte folgendes Ergebnis: Er ist am Froschherzen und am Katzenblutdruck 1000-mal schwächer wirksam als Acetylcholin und besitzt somit die Wirksamkeit des freien Cholins. Auch am Darm und am Skelettmuskel ist seine Wirksamkeit qualitativ nicht von der des Acetylcholins zu unterscheiden, quantitativ ihr jedoch beträchtlich unterlegen³⁾. In Übereinstimmung damit ergab die von Hrn. Prof. v. Muralt (Bern) mit der beschriebenen Substanz am Blutegel durchgeföhrte Untersuchung, daß die Wirkung in einer Konzentration von 10^{-5} ebenso stark ist wie diejenige des Acetylcholins in einer Konzentration von 10^{-8} . Aus der gleichen Quelle stammt auch eine interessante Beobachtung hinsichtlich der Veränderung der Wirksamkeit beim Erhitzen. Danach nimmt diese nach 2 Min. langem Erwärmten auf 100° um das 3—4-fache zu und fällt nach weiterem Erhitzen von 15—30 Min. stark ab. Die anfängliche Aktivierung läßt sich vielleicht durch den Übergang der Endosalz-Form I in die hydratisierte Form II deuten. Gegen Alkalisierung ist die Substanz bezüglich der pharmakologischen Wirkung relativ resistent.



Nach Untersuchungen von v. Muralt⁴⁾ tritt bei der Nervenerregung eine acetylcholinähnliche Substanz auf. Der Glycerinphosphorsäureester des Cholins stellt ein acyliertes Cholin dar, das aus den in Nerven enthaltenen Lecithinen durch enzymatischen Abbau entstehen kann. Daher erhebt sich die Frage, ob diesem Ester für den chemischen Ablauf der Nervenerregung nicht eine gewisse Bedeutung zukommt. Es sei noch auf die von R. Kuhn

³⁾ Diese Untersuchungsergebnisse verdanken wir der Chem.-Pharmaz. u. Sero-Bakteriol. Abteil. Höchst der I.-G. Farbenindustri. -G.

⁴⁾ Angew. Chem. **52**, 190 [1939].

und Mitarbeitern⁵⁾ veröffentlichte Arbeit über Acetylneurin als chemischen Vermittler im Nerven hingewiesen, in welcher die etwaige Rolle dieser Verbindung in der Physiologie der Nervenerregung diskutiert wird. Die Wirkung des Acetylneurins auf den isolierten Darm entspricht größtenteils der des Cholins, kommt also auch derjenigen des Glycerinphosphorsäurecholinesters gleich. Da das vom erregten Nerven abgegebene Aneurin durch Acetylierung in einen Stoff mit Acetylcholinwirkung übergeführt werden kann, wäre zu prüfen, ob nicht auch die Acetylierung des Glycerinphosphorsäurecholinesters eine Steigerung seines pharmakologischen Effektes bewirkt.

Beschreibung der Versuche.

Silbersalz der β -Glycerinphosphorsäure:

Eine Lösung von 50 g β -glycerinphosphorsaurem Natrium wird mit verd. Essigsäure neutralisiert und mit einer Lösung von 80 g Silbernitrat in der ausreichenden Menge Wasser versetzt. Die dabei entstehende voluminöse Fällung des Silbersalzes wird durch Zusatz des gleichen Volumens Alkohol vervollständigt. Nach mehrmaligem Waschen mit Wasser-Alkohol 1:1 wird das Silbersalz im braunen Exsiccator über P_2O_5 getrocknet und stellt dann eine weiße pulverisierbare lichtempfindliche Masse dar.

14.821, 17.469 mg Sbst.: 3.82, 4.51 ccm n_{50} NaCl.

$C_8H_{10}O_6P\bar{A}g_2$ (385.78). Ber. Ag 55.70. Gef. Ag 55.61, 55.70.

Cholinester der β -Glycerinphosphorsäure:

Ein Gemisch von 6.7 g β -glycerinphosphorsaurem Silber und 4.9 g Trimethyl-(β -bromäthyl)-ammoniumbromid wird in einem mit Rückflußkühler und Rührwerk versehenen Dreihalskolben mit 200 ccm trocknem Alkohol übergossen. Es wird unter gutem Turbinieren und Einleiten von Stickstoff 3 Stdn. im Ölbad zum Sieden erhitzt und nach dieser Zeit die erkaltete Reaktionslösung vom Silberbromid abfiltriert. Das alkohol. Filtrat ist schwach gelblich gefärbt und wird unter vermindertem Druck bei 40° eingeeengt. Der Rückstand stellt eine gallertartige, gelb gefärbte Masse dar. Zur Reinigung wird diese in der ausreichenden Menge trocknen Methanols gelöst, filtriert und durch Zusatz der 5-fachen Menge trocknen Äthers zur Fällung gebracht. Danach ist das Produkt halogenfrei und wird beim wiederholten Verreiben mit trocknem Äther fest. Es wird in der ausreichenden Menge absol. Alkohol gelöst und mit absol. Äther bis zur schwachen Trübung tropfenweise versetzt. Beim Stehenlassen im Eisschrank krystallisiert es in farblosen, kräftigen Aggregaten und schmilzt nach sorgfältigem Trocknen über P_2O_5 in der mit siedendem Methylenchlorid geheizten Pistole bei 104—105°. An der Luft ziehen die Krystalle leicht Wasser an; sie sind in Äther, Aceton, Chloroform, Benzol, Pyridin und Anisol unlöslich, leicht löslich in Methanol oder Äthanol sowie in Wasser. Die wässr. Lösung besitzt ein $p_H = 4.2$.

4.671 mg Sbst.: 6.26 mg CO_2 , 3.23 mg H_2O . — 15.590 mg Sbst.: 125.87 mg NH_4PO_4 , 14 MoO_3 . — 5.578 mg Sbst.: 0.265 ccm N bei 24°/746 mm.

$C_8H_{22}O_6NP$ (275.2). Ber. C 34.99, H 8.00, P 11.28, N 5.09.

$C_8H_{20}O_6NP$ (257.18). Ber. „, 37.33, „, 7.84, „, 12.06, „, 5.45.

Gef. „, 36.55, „, 7.74, „, 11.79, „, 5.36.

⁵⁾ R. Kuhn, Th. Wieland u. H. Hübschmann, Ztschr. physiol. Chem. **259**, 48 [1939].

Versuch zur Darstellung des Colaminesters der α -Glycerinphosphorsäure:

Es werden 6 g Di-Silbersalz der α -Glycerinphosphorsäure und 3.2 g β -Bromäthylaminhydrobromid in 150 ccm absol. Alkohol unter Einleiten von Stickstoff, Turbinieren und Erhitzen auf 90° zur Reaktion gebracht. Diese tritt schon nach wenigen Min. unter sichtbarer Abscheidung von Silberbromid ein. Nach 5-stdg. Reaktionsdauer erfolgt die Isolierung des Produktes folgendermaßen: es wird zentrifugiert, und nach Abgießen der überstehenden Lösung der Rückstand, der aus Silberbromid und dem Colaminester der α -Glycerinphosphorsäure besteht, mit absol. Alkohol gewaschen. Beim Verreiben des Rückstandes mit Wasser geht der Colaminester in Lösung und wird nach dem Verdampfen des wäsr. Filtrates im Vak. als zähe Masse erhalten. Beim wiederholten Verreiben mit absol. Alkohol wird die Substanz schließlich harzig und haftet dann nach dem Trocknen über P_2O_5 im Vak. fest an den Wandungen des Zentrifugenglases. Sie läßt sich dann mit dem Spatel absprengen und pulverisieren. Schmelzpunkt im zugeschmolzenen Röhrchen: Sintern ab 60°, Schmelzen bei 80–90°.

Das Produkt ist stark hygroskopisch, leicht löslich in Wasser, unlöslich in Methanol, Äthanol und allen organischen Solventien. Zur Analyse wurde die Substanz über P_2O_5 und siedendem Methylchlorid getrocknet.

10.717 mg Sbst.: 0.613 ccm N bei 21°/752 mm. — 9.432 mg Sbst.: 81.49 mg NH_4PO_4 , 14 MoO_3 .

$C_6H_{14}O_6NP$ (215). Ber. P 14.42, N 6.52.

$C_6H_{14}O_6NP + H_2O$ (233.1). Ber. „, 13.32, „, 6.01. Gef. P 12.55, N 6.57.

17. Herbert Arnold: Über Chaulmoogra-Phosphatide.

[Aus d. chem. Abteil. d. „Forschungs-Instituts für Chemotherapie“, Frankfurt a. M.]
(Eingegangen am 15. Dezember 1939.)

Die heute in der Behandlung und in der experimentellen Chemotherapie der Lepra zur Anwendung gelangenden Chaulmoogra-Präparate stellen in der Hauptsache wasserunlösliche Ester der im Chaulmoograöl enthaltenen Chaulmoograsäure und Hydnocarpussäure dar. Zur Verbesserung der Resorptionsverhältnisse war es wünschenswert, Substanzen herzustellen, die in ihrem chemischen Aufbau körpereigenen Stoffen ähnlich sind. Im Hinblick darauf haben Th. Wagner-Jauregg und H. Arnold¹⁾ sowie H. Arnold²⁾ Phosphatidsäuren synthetisiert, deren Di-Natriumsalze kolloidale wäsr. Lösungen geben. Die durch Einführung von Chaulmoograsäureresten in das Molekül der β -Glycerinphosphorsäure entstandenen Chaulmoographosphatidsäuren II und III ließen einen gut feststellbaren chemotherapeutischen Effekt erkennen. So bewirkte das Natriumsalz der 1,3-Dichaulemoogroyl- β -glycerinphosphorsäure (III) bei Lepraratten einen milderden Verlauf der Leprome³⁾. Hr. Prof. R. Kudicke⁴⁾ konnte feststellen, daß sich von allen Derivaten der Chaulmoograsäure, die hier an Lepra-infizierten Mäusen zur Untersuchung gelangten, das Natriumsalz der Monochaulemoogroyl- β -glycerinphosphorsäure (II) am besten bewährte. Eine von Hrn. Prof. R. Prigge vorgenommene Wirkungsprüfung des gleichen Salzes (II) an Tuberkelkulturen ergab, daß dieses schon in 4-fach

¹⁾ B. 70, 1459 [1937].

²⁾ B. 71, 1505 [1938].

³⁾ Siehe dazu auch Emerson, Anderson u. Leake, Proceed. Soc. exper. Biol. Med. 31, 274 [1933]; Arch. int. Pharmacodynam. Thérap. 48, 247 [1934].

⁴⁾ Med. Welt, im Druck.