

noch 0.8 ccm *n* HCl; dadurch werden die Substrat-Lösungen auf ein pH von etwa 1.5 gebracht. Die Orthophosphorsäure-Bildung haben wir mit Hilfe der colorimetrischen Bestimmungsmethode nach C. H. Fiske und Y. Subbarow¹⁹⁾ in der Modifikation von K. Lohmann und L. Jendrassik²⁰⁾ und unter Berücksichtigung unserer Erfahrungen über den Einfluß der Säurekonzentration²¹⁾ unter Entnahme einer Probe von 1 ccm (oder weniger) verfolgt.

76. Eugen Bamann und Elfriede Nowotny: Darstellung des Lanthansalzes der Glycerin- β -phosphorsäure. Auffallende Unterschiede der Ester-Stabilität des Lanthan- und des Natriumsalzes*).

[Aus dem Pharmazeut. Institut der ehemaligen Deutschen Karls-Universität Prag.]
(Eingegangen bei der Redaktion der Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft am 29. Januar 1945.)

Es wird die Darstellung eines Salzes der Glycerin- β -phosphorsäure, des Lanthan-glycerinphosphats, beschrieben.

Dieses in der Literatur bisher nicht erwähnte Salz unterscheidet sich von den schon bekannten Salzen dieses Esters dadurch, daß die Esterbindung, die im Natrium-glycerinphosphat besonders gegenüber der Einwirkung von Hydroxyl-Ionen sehr stabil ist, sich beim Lanthansalz als äußerst instabil erweist, indem schon bei Zimmer-temperatur und geringster Hydroxyl-Ionen-Konzentration verhältnismäßig rasche Verseifung eintritt.

Das hinsichtlich der Darstellung und der Eigenschaften bisher nicht untersuchte Lanthansalz der Glycerin- β -phosphorsäure weist ein sehr merkwürdiges Verhalten auf: In wäßrigem Medium schwach saurer, neutraler oder alkalischer Reaktion suspendiert, erleidet es unter Bildung von Glycerin und Lanthan-phosphat Verseifung. Es unterscheidet sich durch diesen bereits bei Zimmer-temperatur mit recht beträchtlicher Geschwindigkeit verlaufenden Vorgang von dem Natriumsalz des Esters, das bei guter Löslichkeit in Wasser sehr stabil ist.

Unter verschiedenen Darstellungsbedingungen haben wir Präparate von zwar verschiedenartigem, vor allem mehr oder weniger gelartigem Aussehen, in trockenem Zustand jedoch gleicher Zusammensetzung erhalten. Unabhängig z. B. von der Reaktion des Fällungsmilieus (sauer bzw. alkalisch), von der Reihenfolge bei der Fällung (Eintragen der Glycerinphosphat-Lösung in die Lanthansalz-Lösung oder umgekehrt) und von dem gegenseitigen Konzentrationsverhältnis entsteht immer das neutrale Salz $\text{La}_2(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_6\text{P})_3$. Es ist schwer löslich in wäßr. neutralem oder sehr schwach saurem Medium; löslich in verd. Säure. Von den Gewinnungs-Verfahren eignet sich am besten die Fällung in schwach alkalischem Medium, indem man in die Natriumglycerinphosphat-Lösung (pH 8.4) unter Rühren eine sauer reagierende Lanthannitrat-Lösung einträgt (molares Verhältnis Glycerinphosphat : Lanthansalz = 3 : 2). Ein geringerer Überschuß an Natriumglycerinphosphat dürfte günstig sein, ein erheb-

¹⁹⁾ Journ. biol. Chem. (Am.) 66, 375 [1925].

²⁰⁾ Biochem. Ztschr. 178, 419 [1926].

²¹⁾ E. Bamann, E. Nowotny u. L. Rohr, B. 81, 438 [1948].

* VI. Mitteil. der in B. 71, 1711, 1980, 2086, 2233 [1938] und B. 81, 442 [1948] veröffentlichten Untersuchungsreihe.

licher (6 : 2) schadet nicht. Die Darstellung des Präparats ist im Versuchsteil beschrieben.

Die Geschwindigkeit der Verseifung des Estersalzes hängt von der Wasserstoff-Ionen-Konzentration, von der Temperatur und wohl auch vom Verteilungsgrad (Pulverfeinheit) des Präparats ab. Im Falle zweier nach den unten angegebenen Verfahren gewonnener, bei Zimmertemperatur getrockneter und fein pulverisierter Präparate betrug die Verseifung bei 37° im Ansatz 0.091 g La₂(C₃H₇O₆P)₃ auf 100 ccm:

	bei pH 1 (in n ₁₀ / ₁₀ HCl; gelöst)	pH 5.5 (in dest. H ₂ O; suspendiert)	pH 9.5 (in NH ₄ OH-NH ₄ Cl-Puffer; suspendiert)	Präp. S	Präp. A	Präp. S	Präp. A	Präp. S	Präp. A
in 5 Stdn.	0%	0%	0.6%	0.4%		6.3%	4.9%		
in 24 "	0.1%	0.1%	2.0%	1.3%		19.1%	13.5%		
in 5 Tagen....	0.4%	0.3%	7.8%	6.4%		46.2%	35.6%		
in 14 "	0.5%	0.4%	14.5%	13.0%		63.3%	—		

Als Endpunkt der Verseifung muß der Verbrauch des vorhandenen La³⁺ gelten. Bei vollständigem La³⁺-Verbrauch unter Bildung von LaPO₄ ist das Estersalz zu 66.7% verseift. Unsere %-Zahlen beziehen sich auf den La³⁺-Verbrauch.

Demgegenüber ist das wasserlösliche Natrium-Salz der Glycerin-β-phosphorsäure bei schwach saurer, neutraler und alkalischer Reaktion sehr beständig¹⁾. Selbst beim Kochen in stark alkalischer Lösung tritt weder Verseifung noch sonstige Veränderung des Estersalzes ein.

Diese eigenartigen Verhältnisse regen an, auch andere Metallsalze der Glycerinphosphorsäure in den Kreis der Untersuchung mit einzubeziehen und unsere Befunde in Beziehung zu der von uns entdeckten Erscheinung der „phosphatatischen Wirkung von Hydrogelen“ zu bringen, die darin besteht, daß Ester der Phosphorsäure in Anwesenheit von kolloidalen Hydroxyden bestimmter Metalle gespalten werden²⁾.

Beschreibung der Versuche.

I) Fällung, Trocknung und Analyse der Lanthanglycerinphosphat-Präparate.

Von den Bedingungen bei der Fällung, denen ein Einfluß auf die Zusammensetzung der Präparate zukommen könnte, haben wir mehrere auf ihre Auswirkung untersucht. In erster Linie könnte die Reihenfolge der Zugabe der Lanthan- und Glycerinphosphat-Ionen und damit die Wasserstoff-Ionen-Konzentration im Fällungsmilieu eine Bedeutung haben.

1.) Fällung im schwach sauren Milieu (Präparate S; Eintragen der Glycerinphosphat-Lösung in die sauer reagierende Lanthansalz-Lösung): Bei pH etwa 4.8 einer Lanthanmitrat-Lösung kommt es noch nicht zur Fällung; sie tritt erst bei schwächer saurer Reaktion, pH etwa 6.5, ein. Wählt man das Molverhältnis Lanthanmitrat:Natrium-

¹⁾ Über die Stabilität des Esters in saurem und alkalischem Medium siehe u.a. E. Mercks Jahrsber. 1894, S. 29; R. H. A. Plimmer, Biochem. Journ. 7, 72 [1913]; P. Fleury u. Z. Sutu, Bull. Soc. Chim. France [4] 39, 1716 [1926]; E. Bamann u. M. Meisenheimer, B. 71, 1711 [1938]; P. E. Verkade, J. C. Stoppelenburg u. W. D. Cohen, Rec. Trav. chim. Pays-Bas 59, 886 [1940]; vergl. a. R. Robison u. M. G. Macfarlane in E. Bamann u. K. Myrbäck, Die Methoden der Fermentforschung, Leipzig 1941, New York 1945, S. 296.

²⁾ E. Bamann u. M. Meisenheimer, I. u. II. Mitteil. dieser Untersuchungsreihe; E. Bamann, Angew. Chem. 52, 186 [1939].

glycerinphosphat = 2 : 3 (1.0 g $\text{La}(\text{NO}_3)_3 + 6\text{H}_2\text{O}$ in 50 ccm + 0.9356 g $\text{Na}_2\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_6\text{P} + 3\text{H}_2\text{O}$ in 50 ccm), so setzt die Fällung nach Zugabe von etwas mehr als der Hälfte der Glycerinphosphat-Lösung ein; nach Zugabe der gesamten Menge ist die Ausbeute befriedigend, das pH des Milieus = 6.5 bis 6.8. Bei einem Molverhältnis 4 : 3 (2.0 g $\text{La}(\text{NO}_3)_3 + 6\text{H}_2\text{O}$ in 50 ccm + 0.9356 g $\text{Na}_2\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_6\text{P} + 3\text{H}_2\text{O}$ in 50 ccm) unterbleibt auch nach Zugabe der ganzen Glycerinphosphatmenge die Ausfällung wegen zu saurer Reaktion (pH 5.5). Erst auf Hinzufügen von 1.885 g Natriumacetat, d.i. die für die Abstumpfung der bei der Umsetzung entstehenden Salpetersäure notwendige Acetatmenge, erfolgt Fällung (pH der abgetrennten Flüssigkeit 6.5).

Die so gewonnenen Fällungen sind häufig sehr gallertig und schwer auswaschbar. Nitratfrei werden sie erst bei oftmaligem Auswaschen unter erheblichen Substanzverlusten.

2.) Fällung In schwach alkalischem Milieu (Präparate A; Eintragen der Lanthansalz-Lösung in die alkalisch reagierende Natriumglycerinphosphat-Lösung): Dieses Verfahren verdient gegenüber dem zuvor beschriebenen zur präparativen Darstellung des Lanthanglycerinphosphats den Vorzug.

Zu der eiskühlten Lösung von 0.9356 g Natriumglycerinphosphat „Merck“ in 50 ccm Wasser (pH 8.4) gibt man unter Umrühren die ebenfalls gekühlte Lösung von 1.0 g Lanthannitrat „Merck“ in 50 ccm Wasser (pH 4.8). Nach etwa $\frac{1}{4}$ -stdg. Stehenlassen in Eiswasser trennt man das Lanthanglycerinphosphat ab, vorteilhaft in einer geeigneten Zentrifuge (pH der abgetrennten Flüssigkeit 6.5–6.8), wäscht den Niederschlag zur Vermeidung von Verseifung durch 4-maliges Versetzen mit je 20 ccm Eiswasser und Zentrifugieren gut aus. Dann bringt man den gelartigen, wasserreichen Niederschlag auf einen Tonteller. Nach einer ersten Trocknung (12–18 Std.) im evak. Schwefelsäure-Exsiccator entfernt man die weißen, hornartigen Schuppen vom Tonteller, pulverisiert und trocknet nochmals bis zur Gewichtskonstanz (i.evak. Schwefelsäure-Exsiccator 10 bis 20 Tage). Solche Präparate enthalten unter 1% freies Phosphat. Nimmt man die Endtrocknung bei 100° vor, so ist Gewichtskonstanz zwar schon nach 3–6 Std. erreicht, aber der Gehalt an freiem Phosphat beträgt dann 2–4%. Ausb. 0.7–0.8 g Lanthanglycerinphosphat (Tb. 0.91 g).

Die Fällungen sind meist weniger voluminös als die des unter 1) beschriebenen Verfahrens, setzen sich gut ab und sind leichter auswaschbar und nitratfrei zu erhalten.

3.) Trocknung der Präparate: Die Trocknung der scharf abzentrifugierten Präparate erfolgt zunächst bei Zimmertemp. auf Ton im evakuierten Schwefelsäure-Exsiccator. Nach feinster Pulverisierung kann dann die Trocknung bis zur Gewichtskonstanz entweder weiter im Exsiccator bei Zimmertemp. oder im Trockenschrank bei 100° beendet werden (s. oben); noch höhere Temperaturen sind wegen Zersetzung der Präparate (Gelbwärden und Zunahme des Gehalts an freiem Phosphat) ungeeignet. Im allgemeinen erhalten bei Zimmertemp. getrocknete Präparate unter 1% freies Phosphat, bei 100° getrocknete 2–4%, während 1.- bzw. 10.-stdg. Trocknen bei 150° den Gehalt auf etwa 6 bzw. 10% erhöht.

Lanthanglycerinphosphat enthält in trockenem Zustand kein Wasser in festerer Bindung, denn ein vollständiger Wasserentzug ist bereits im evak. Exsiccator möglich und die Wasseraabgabe geht kontinuierlich, nicht stufenförmig vor sich.

4.) Analyse der Präparate: Alle bisher analysierten Präparate ergaben unabhängig von den Bedingungen der Gewinnung die Zusammensetzung $\text{La}_2(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_6\text{P})_3$. Man erhält dieses Ergebnis, wenn man nach feuchter Veraschung der Substanz den Gehalt an La^{3+} und PO_4^{2-} bestimmt.

Für die Veraschung benutzen wir das von E. Heumüller³⁾ in unserem Laboratorium ausgearbeitete Verfahren: Etwa 200 mg Lanthanglycerinphosphat werden mit 5 ccm Salpetersäure (d 1.4) und 5 ccm Perhydrol „Merck“ (P_2O_5 -frei) im Kjeldahl-Kolben erhitzt, und zwar nur so stark, daß das Reaktionsgemisch sich in ständig sprudelnder Bewegung befindet. Bei Nachlassen der Reaktion werden nochmals 5 ccm Perhydrol zugegeben und das Ganze fast trocken gedampft. Den Rückstand nimmt man dann noch 3 mal mit je 5 ccm Perhydrol auf, dampft jedesmal bis wieder fast zur Trockne ein und versetzt nunmehr mit 10 ccm 25-proz. Salzsäure; diese Lösung wird auf etwa 1 ccm eingedampft, nochmals mit etwas Salzsäure (2–5 ccm zum Lösen des Ausgeschiedenen) und Wasser versetzt und nach 5–10 Min. Kochen mit Wasser auf ein bestimmtes Volumen (z.B. 100 ccm) ergänzt.

³⁾ Dissertat. Tübingen [1941].

Die Bestimmung der Phosphorsäure erfolgt colorimetrisch nach C. H. Fiske u. Y. Subbarow⁴⁾ in der Modifikation von K. Lohmann u. L. Jendrassik⁵⁾ und unter Berücksichtigung unserer Erfahrungen über den Einfluß der Säurekonzentration⁶⁾.

Die Lanthanbestimmung nehmen wir nach dem Verfahren von E. Bamann u. E. Heumüller⁷⁾ ebenfalls colorimetrisch vor. In Anbetracht dessen, daß die zu analysierende Lösung schon genügend PO_4^{3-} enthält ($\text{La}^{3+} : \text{PO}_4^{3-} = 1 : 1\frac{1}{2}$), erübrigts sich für die Fällung des La^{3+} als LaPO_4 die Zugabe von Phosphat. Es ist nur nötig, der salzauren Lösung Natriumacetat in einer für die Abpufferung der Mineralsäure notwendigen Menge zuzusetzen.

Analysen-Beispiel.

0.1000 $\text{La}_2(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_6\text{P})_3 \cdot \text{P}_2\text{O}_5$ Ber. P_2O_5 0.0270 g La^{3+} 0.0353 g $\text{P}_2\text{O}_5 : \text{La}^{3+} 3:4$
Gef. „ 0.0269 g „ 0.0366 g „ : „ 3:4.16.

Bei allen Analysen liegen die Verhältniszahlen $\text{P}_2\text{O}_5 : \text{La}^{3+}$ ähnlich wie in dem angeführten Beispiel, für La^{3+} um ein Geringes höher. Dies hat seine Ursache im Methodischen, nicht in der Abweichung der Zusammensetzung der Präparate von der zugrunde gelegten Formel.

II) Instabilität des Estersalzes in wäßrigem Medium.

Unsere Versuchsergebnisse gestatten über die bloße Feststellung der Instabilität des Estersalzes hinaus noch einige zusätzliche Aussagen. Aus der nachstehenden Tafel ist der zeitliche Verlauf der Verseifung eines Lanthanglycerinphosphat-Präparats (Darst.-Verf. A) zu erssehen. Ein Teil des Präparats wurde 48 Tage bei Zimmertemp., ein zweiter 6 Stdn. bei 100° und ein dritter 16 Stdn. bei 150° zu Ende getrocknet. Der Gehalt an freiem Phosphat beträgt 1.0 bzw. 3.5 bzw. 13.8%. Bringt man diese Werte von den in den ersten Stunden der Versuche (1 Stde., 5 Stdn.) erhaltenen in Abzug, so wird deutlich, daß die Anfangsgeschwindigkeit der Verseifung bei den drei Proben verschieden groß ist, am größten bei der bei Zimmertemp., am kleinsten bei der bei 150° getrockneten. Man wird diesen Gang auf Eigenschaftsänderungen physikalischer Art zurückzuführen haben, die mit der Trocknung bei höheren Temperaturen verbunden sind. Im Verlauf der Versuchsdauer gleichen sich die Werte einander langsam an. Die Verseifungsgeschwindigkeit nimmt gegen Ende der Reaktion in allen Versuchen stark ab. Zum Teil liegt dies im Reaktionsvorgang als solchem begründet, zum Teil dürfte es auf ungünstiger werdende rein äußere Reaktionsbedingungen (Einschluß des Estersalzes in sich bildendes LaPO_4) zurückzuführen sein. Bei $\text{pH} 8$ und $\text{pH} 9.5$ bestehen, wie weiter zu erkennen ist, keine erheblichen Unterschiede in der Reaktionsgeschwindigkeit; nur gegen Ende der Um-

Tafel. Verlauf der Hydrolyse von Lanthanglycerinphosphat bei alkalischer Reaktion und 37° .

(Der Vers.-Ansatz von 100 ccm enth. 0.091 g $\text{La}_2(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_6\text{P})_3$ (Präp. A) suspend., ferner 3 ccm bzw. 49.5 ccm 2.5 n $\text{NH}_4\text{OH-NH}_4\text{Cl}$ -Puffer, pH 9.5 bzw. 8.0. Die Zahlen bedeuten % Umsatz. In allen Werten sind die zu Beginn der Versuche (0 Stdn.) gef. Werte (= freies Phosphat) mit inbegriffen.)

Vers.-Dauer	48 Tage bei Zimmer-temp. getr.		6 Stdn. bei 100° getr.		16 Stdn. bei 150° getr.	
	pH 8	pH 9.5	pH 8	pH 9.5	pH 8	pH 9.5
0 Stdn. (= freies Phosphat)	1.0	1.0	3.5	3.5	13.8	13.8
1 Stde.	1.8	1.8	4.0	4.2	13.8	13.9
5 Stdn.	5.0	5.5	8.0	7.0	14.8	15.5
24 „	14.0	14.5	15.5	16.0	22.0	23.2
48 „	20.4	24.4	—	—	26.8	28.5
5 Tage	32.9	36.6	34.0	35.0	38.5	38.8
30 „	61.6	75.7	—	—	63.0	70.0
60 „	65.9	85.4	67.1	85.4	70.0	85.5
180 „	80.0	91.0	80.6	94.5	—	—

⁴⁾ Journ. biol. Chem. (Am.) **66**, 375 [1925].

⁵⁾ Biochem. Ztschr. **178**, 419 [1926].

⁶⁾ E. Bamann, E. Nowotny u. L. Rohr B. **81**, 438 [1948].

⁷⁾ B. **75**, 1514 [1942].

setzung haben die Versuche in stärker alkalischem Gebiet etwas Vorsprung (etwa 90% Verseifung gegenüber etwa 80%). Es mag dies auch an der durch eine andere Pufferzusammensetzung bedingten Milieuänderung liegen (im 100-ccm-Ansatz 3 ccm 2.5 n Puffer mit pH 9.5 bzw. 49.5 ccm 2.5 n Puffer mit pH 8, enthaltend 1.5 ccm 2.5 n NH_4OH und 1.5 ccm 2.5 n NH_4Cl -Lösg. bzw. 1.5 ccm 2.5 n NH_4OH und 48.0 ccm 2.5 n NH_4Cl -Lösg.).

Zum Schluß verweisen wir auf die bereits weiter oben belegte Tatsache, daß auch noch bei schwach saurer Reaktion (pH 5.5), bei der das Estersalz praktisch noch ungelöst ist, die Hydrolyse vor sich geht, wenn auch mit verminderter Geschwindigkeit. Ob der Geschwindigkeitsunterschied bei der Verseifung der Präparate S und A (24 Std.: 19.1% bzw. 13.5%) eine Folge des Darstellungsverfahrens ist und reproduziert werden kann oder ob zufällige Einflüsse bei der Darstellung und Entwässerung der Präparate die Ursache sind, ist nicht untersucht.

77. Eugen Bamann und Elfriede Nowotny: Über die Auswirkung der Salzbildung auf die Stabilität von Phosphorsäureestern (Zur Kenntnis induzierender Wirkungen auf die Stabilität von Estern)*).

[Aus dem Pharmazeut. Institut der ehemaligen Deutschen Karls-Universität in Prag.]
(Eingegangen bei der Redaktion der Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft am 13. Februar 1945.)

Die Untersuchung vermittelt neue Erkenntnisse über die Auswirkung der Salzbildung auf die Stabilität von Phosphorsäureestern. Sie klärt zugleich den Reaktionsmechanismus eines von E. Bamann und M. Meisenheimer im Jahre 1938 aufgefundenen Vorgangs auf, der darin besteht, daß Phosphorsäureester in Anwesenheit gewisser Metallsalze, besonders der seltenen Erden, in wäßrigem alkalischem Medium einer raschen Verseifung unterliegen. Dazu liefert sie einen allgemeinen Beitrag auf dem Gebiet der induzierten Reaktionen.

Diese Abhandlung soll den Mechanismus der von uns vor einigen Jahren als „phosphatatische Wirkung von Hydrogelen“ bezeichneten Erscheinung aufklären, daß Phosphorsäureester bei Anwesenheit gewisser Metallsalze, besonders der seltenen Erden, in alkalischem wäßrigem Medium einer raschen Verseifung unterliegen.

Daß es sich hierbei um einen katalytischen Vorgang handelt, war ein eindeutiges Ergebnis bereits der ersten Untersuchung. Als Katalysator faßten wir die unter den jeweiligen Bedingungen sich bildenden Hydroxyd-Gele bzw. -Sole auf. Die Erscheinung ist als Wirkung „kolloidaler Metallhydroxyde“ in die Literatur eingegangen¹⁾. Daß Änderungen der äußeren Reaktionsbedingungen zu Systemen oft beträchtlich veränderter Aktivität führen, erklärten wir mit der (in physikalischer oder chemischer Hinsicht) jeweils verschiedenen Zustandsform des Hydroxyds. Später hat die von E. Heumüller²⁾ in unserem Laboratorium durchgeführte Untersuchung Anhaltspunkte dafür erbracht, daß im Reaktionsablauf eine salzartige Verbindung aus dem Metallhydroxyd und dem Phosphorsäureester als Zwischenprodukt auftritt und wahrscheinlich auch das zerfallende Zwischenprodukt ist. Unser Bemühen, diese Verbindung zu gewinnen und in ihren Eigenschaften kennenzulernen, führte zu der präparativen Darstellung von Lanthanglycerinphosphat, dem unab-

*) VII. Mitteil. der in B. 71, 1711, 1980, 2086, 2233 [1938], B. 81, 442, 451 [1948] veröffentlichten Untersuchungsreihe.

¹⁾ G. M. Schwab u. F. Rost in G. M. Schwab, Handb. der Katalyse, III. Bd., Wien 1941, S. 545. ²⁾ Dissertat. Tübingen, 1941.