

# FRIEDRICH CRAMER und MANFRED WINTER

## Zur Chemie der „energiereichen Phosphate“, VIII<sup>1)</sup>

### Carbamylphosphate

Aus dem Chemischen Institut der Universität Heidelberg

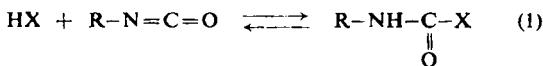
(Eingegangen am 19. Mai 1959)

Mono-Anionen der Phosphorsäure und ihrer Monoester I reagieren mit Isocyanaten II zu Phosphorsäure-carbaminsäure-anhydriden III, die in Form ihrer Salze beständig sind; sie reagieren mit Phosphorsäuren zu Pyrophosphaten V.

Bei der Synthese komplizierter organischer Naturstoffe mit Phosphorsäureesterruppen ist häufig die Aufgabe gestellt, freie Phosphorsäuren ohne den Umweg über eines ihrer Säurechloride in eine reaktionsfähige Form zu überführen. Man kann hierzu die Phosphorsäure an ein ungesättigtes System addieren, ein Prinzip, auf welchem die bekannte Carbodiimid-Methode<sup>2,3)</sup> beruht. Orthophosphorsäure reagiert nach LIPMANN<sup>4)</sup> mit Kaliumcyanat zum Carbamylphosphat IIIa, einem Coenzym der biologischen Citrullinsynthese<sup>5)</sup>.

#### I. DIE REAKTION VON PHOSPHORSÄUREN MIT ISOCYANATEN

Additionsreaktionen der Isocyanate werden in der Regel durch nucleophilen Angriff auf das C-Atom der Carbonylgruppe eingeleitet, die Reaktivität nach Gleichung I nimmt daher etwa mit steigender Basizität von HX bzw. X<sup>⊖</sup> zu in der Reihenfolge HCl < RCO<sub>2</sub>H < ROH und H<sub>2</sub>O < RNH<sub>2</sub> < RO<sup>⊖</sup>.



Bei Carbamylchloriden liegt das Gleichgewicht bei höheren Temperaturen weitgehend auf der Seite der Komponenten (Darstellung der Isocyanate). Die Reaktion mit Carbonsäuren ist in vielen Fällen unübersichtlich und führt unter CO<sub>2</sub>-Abspaltung teils zu Anhydriden, teils zu Amiden<sup>6–11)</sup>. Hierauf beruht die Peptidsynthese von ST. GOLDSCHMIDT<sup>12)</sup> über α-Isocyanato-carbonsäureester.

1) VII. Mitteil.: F. CRAMER und D. VOGES, Chem. Ber. **92**, 952 [1959].

2) A. R. TODD und H. G. KHORANA, J. chem. Soc. [London] **1953**, 2257; M. SMITH, J. G. MOFFAT und H. G. KHORANA, J. Amer. chem. Soc. **80**, 6204 [1958].

3) Vgl. auch Cyanamid-Methode: G. W. KENNER, C. B. REESE und A. R. TODD, J. chem. Soc. [London] **1958**, 546.

4) M. E. JONES, L. SPECTOR und F. LIPMANN, J. Amer. chem. Soc. **77**, 819 [1955].

5) F. LIPMANN, M. E. JONES, S. BLACK und R. M. FLYNN, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **12**, 141 [1953].

6) M. A. HALLER, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. **120**, 1326 [1895]; **121**, 189 [1895].

7) M. E. BENESH, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. **130**, 920 [1900].

8) W. DIECKMANN und F. BREEST, Ber. dtsch. chem. Ges. **39**, 3052 [1906].

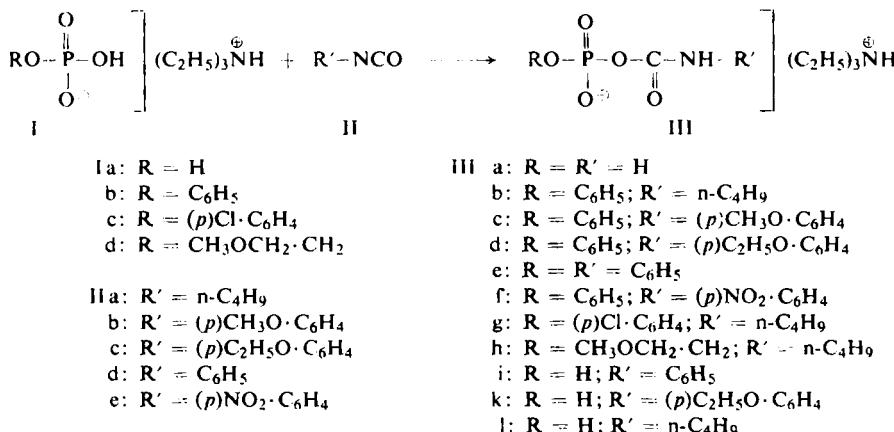
9) C. NÄGELI und A. TYABJI, Helv. chim. Acta **17**, 931 [1934]; **18**, 142 [1935].

10) S. PETERSEN, Liebigs Ann. Chem. **562**, 205 [1949].

11) R. G. ARNOLD, J. A. NELSON und J. J. VERBANC, Chem. Reviews **57**, 47 [1957].

12) ST. GOLDSCHMIDT und M. WICK, Liebigs Ann. Chem. **575**, 217 [1952].

Auf Grund dieser Überlegungen erschien eine glatte Reaktion von Isocyanaten mit den starken Phosphorsäurediestern ( $p_K$  1–2) unwahrscheinlich<sup>13)</sup>. Dibenzylphosphat reagiert in der Tat erst ab 120° mit Phenyl- oder Butylisocyanat, dann allerdings heftig und unter Zersetzungerscheinungen, wobei neben dem entsprechenden Harnstoff schlecht definierbare Verbindungen entstehen. Bei Phosphorsäuremonoestern bietet sich nun noch die zusätzliche Möglichkeit, mit der zweiten Dissoziationsstufe ( $p_K$  6–7) zu arbeiten; die Phosphorsäuremonoester-Anionen I sollten sich etwa mit der gleichen Leichtigkeit wie Wasser oder Alkohole an Isocyanate addieren.



Das *Mono*-Triäthylammoniumsalz des Monophenylphosphats Ib lagert sich augenblicklich in exothermer Reaktion an aliphatische und aromatische Isocyanate an, und man kann, häufig in fast quantitativer Ausbeute, die entsprechenden Mono-phenylphosphat-carbaminsäure-anhydride III isolieren<sup>14)</sup>. Auch bei Gegenwart von Isobutylalkohol in gleicher molarer Menge erhält man aus Ib mit IIa als Hauptprodukt IIIb neben nur 10% Urethan; Ib reagiert also wesentlich rascher mit IIa als mit dem Alkohol. Damit zeichnet sich die Möglichkeit ab, ungeschützte Zuckerphosphate in die Carbamylphosphate überzuführen. Das Triäthylammoniumsalz Ia der nicht veresterten Orthophosphorsäure reagiert gleichfalls mit aliphatischen und aromatischen Isocyanaten. Die dargestellten Verbindungen sind in Tab. 1 aufgeführt.

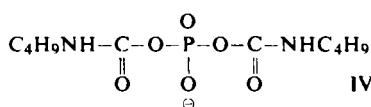
## 2. EIGENSCHAFTEN DER CARBAMYLPHOSPHATE

Die Triäthylammoniumsalze IIIa–h sind kristallisierte, unter Feuchtigkeitsausschluß beliebig haltbare Verbindungen, die in wäßriger Lösung erst nach einiger Zeit hydrolysiert werden. In saurer Lösung werden sie zersetzt, in alkalischer Lösung und bei höherer Temperatur ( $80-100^\circ$ ) wird die Bildungsreaktion offenbar rückläufig; es tritt Geruch nach Isocyanat auf. Beim Abkühlen vereinigen sich die Kom-

<sup>13)</sup> Vgl. auch A. N. PUDOVIK und A. W. KUSNETZOWA, J. allg. Chem. (russ.) **25**, 1369 [1955]; A. N. PUDOVIK, J. V. KONOVALOVA und R. E. KRIVONOSOVA, ebenda **26**, 3110 [1956]; C. A. **50**, 4808 [1956]; **51**, 8642 [1957].

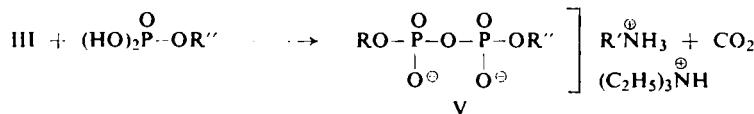
14) Vgl. auch Diplomarb. M. WINTER, Univ. Heidelberg 1957.

ponenten jedoch wieder, so daß z. B. nach 3 Stdn. in siedendem Toluol unter Rückfluß das [N-n-Butyl-carbamoyl]-O-phenylphosphat IIIb quantitativ zurückgewonnen werden kann. Erst ab 150° tritt Zersetzung, Abspaltung von CO<sub>2</sub> und u. a. Bildung von Diphenylpyrophosphat Va ein. Mit Aminen erhält man — auch in wäßriger Lösung — Harnstoffe, mit Alkoholen normalerweise Urethane; jedoch kann man die Reaktion unter bestimmten Voraussetzungen auch zur Bildung von Phosphorsäuremonoestern verwenden<sup>15)</sup>. Die Carbamylphosphate der Orthophosphorsäure IIIi—l sind zum Teil weniger stabil und zersetzen sich nach einigen Tagen. Sie können an ihrer sekundären, noch freien Säuregruppe mit einem zweiten Mol. Isocyanat zu Bis-carbamylphosphaten, wie z. B. IV, umgesetzt werden.



### 3. DARSTELLUNG VON PYROPHOSPHATEN

In der enzymatischen Reaktion<sup>16)</sup> ist das Anhydrid entspr. IIIa ein Überträger des Carbamyl-Restes. Unsere Anhydride III reagieren jedoch mit Phosphorsäuremonoestern unter Übertragung des Phosphat-Restes und Bildung von Pyrophosphat.



- |  |   |  |
|--|---|--|
| V  | a: R = R'' = C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>    | d: R = C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ; R'' = CH <sub>3</sub> OCH <sub>2</sub> ·CH <sub>2</sub> |
| b: R = R'' = (p)Cl·C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>                                 | e: R = H; R'' = C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> |  |
| c: R = C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ; R'' = (p)Cl·C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> |   |  |

Die Reaktion wird in Pyridin ausgeführt, ein Zusatz von 10% Wasser stört nicht. Die erhaltenen Verbindungen sind in Tab. 2 aufgeführt. Die symmetrischen Diarylpyrophosphate isoliert man am besten in Form ihrer Lithiumsalze, die sehr beständige Verbindungen sind. Bei der Bildung der unsymmetrischen Pyrophosphate (V, R ≠ R'') treten immer wie bei der Carboimid-Methode gewisse Mengen der symmetrischen Pyrophosphate auf, und wir untersuchen z. Zt. die Möglichkeit, diese Nebenreaktion zu unterdrücken. In Vorversuchen hat sich gezeigt, daß aus III und Adenosin-monophosphat das Adenosin-diphosphat gebildet wird.

Die Arbeit wurde von der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT, Bad Godesberg, der ROCKEFELLER-STIFTUNG, New York, und dem VERBAND DER CHEMISCHEN INDUSTRIE, Düsseldorf, in großzügiger Weise gefördert. Der BADISCHEN ANILIN- & SODA-FABRIK, Ludwigshafen, danken wir für viele Chemikalien, den FARBENFABRIKEN BAYER, Leverkusen, für Isocyanate.

<sup>15)</sup> Unveröffentlichte Versuche von M. WINTER und H.-J. BALDAUF.

<sup>16)</sup> M. L. HALL, R. L. METZENBERG und P. P. COHEN, J. biol. Chemistry 230, 1013 [1958].

## BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

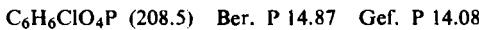
### A. Ausgangsmaterialien

1. *Monophenylphosphat (Ib)* wurde nach l. c.<sup>17)</sup> bereitet.
  2. *Mono-(p-chlor-phenyl)-phosphat (Ic)*
- a) *Phosphorsäure-[p-chlor-phenylester]-dichlorid*: 153.5 g *Phosphoroxychlorid* und 128.5 g *p-Chlor-phenol* wurden 12 Stdn. unter Rückfluß erwärmt. Nach Beendigung der HCl-Entwicklung wurde destilliert und das *Säurechlorid* bei 140°/12 Torr aufgefangen. Ausb. 111 g (45% d. Th.).



*Phosphorsäure-bis-[p-chlor-phenylester]-chlorid* siedet bei 228°/12 Torr.

- b) *Mono-(p-chlor-phenyl)-phosphat (Ic)*: Das *Säurechlorid* wurde unter Eiskühlung in Wasser eingetragen und danach das Wasser bei 40° i. Vak. abdestilliert. Der Rückstand wurde erst aus wenig Wasser und dann aus Benzol umkristallisiert. Schmp. 125°. Ausb. 86 g (90% d. Th.).



3. *Mono-(2-methoxy-äthyl)-phosphat (Id)*

- a) *Phosphorsäure-[2-methoxy-äthylester]-dichlorid*: 38.0 g *Äthylenglykolmonomethyläther* ließ man unter Feuchtigkeitsausschluß und Rühren langsam in 76.0 g *Phosphoroxychlorid* eintropfen. Nach Beendigung der HCl-Entwicklung wurde unter Stickstoff i. Vak. destilliert. Sdp.<sub>12</sub> 98°. Ausb. 74.2 g (38.5% d. Th.).



- b) *Mono-(2-methoxy-äthyl)-phosphat (Id)*: Frisch gefälltes Silberoxyd, das mit Wasser und anschließend mit Acetonitril gewaschen war, wurde in Acetonitril aufgeschwemmt und unter Rühren und Kühlung langsam mit dem *Säurechlorid* versetzt. Nach Beendigung der Reaktion wurde vom Silberchlorid abfiltriert, die klare, farblose Lösung i. Vak. eingedampft und der zurückbleibende Sirup im Exsikkator über Natriumhydroxyd und Calciumchlorid getrocknet. Ausb. 56.0 g (95% d. Th.).



### B. Darstellung der Carbamylphosphate

1. *Allgemeine Vorschrift, Beispiel: Triäthylammoniumsalz des [N-n-Butyl-carbamoyl]-O-phenylphosphats (IIIb)*: 8.70 g *Monophenylphosphat* wurden in 30 ccm Acetonitril gelöst und mit 5.05 g *Triäthylamin* versetzt. Danach wurden 4.95 g *n-Butylisocyanat* (IIa) zugefügt, wobei sich die Mischung erwärmte. Nach kurzer Zeit setzte Kristallisation ein, es wurde gekühlt, nach einiger Zeit abgesaugt und mit kaltem Acetonitril und Äther nachgewaschen. Die so dargestellten Substanzen sind in Tab. 1 aufgeführt.

2. *Triäthylammonium-bis-[N-n-butyl-carbamoyl]-phosphat (entspr. IV)*: 14.9 g IIIb wurden in 15 ccm Acetonitril gelöst und mit 4.95 g *n-Butylisocyanat* (IIa) versetzt. Nach 24 Stdn. setzte man 150 ccm Äther zu, brachte bei -20° zur Kristallisation und trocknete im Exsikkator über Phosphorpentoxid. Ausb. 13.6 g (69% d. Th.).



<sup>17)</sup> P. BRIGL und H. MÜLLER, Ber. dtsch. chem. Ges. **72**, 2121 [1939].

Tab. I. Übersicht über die dargestellten Triäthylammoniumsalze der Carbamylphosphate

Ausgangsmaterial Verb. Menge in g	Reaktionsbedingungen Reakt.- Dauer	Reaktionsprodukt III Aust. g	Summenformel (Mol.-Gew.)	Analysendaten		Bemerkungen					
				N	P						
Ib	8.7 IIa	4.9	Acetonitril (30)	30 Min.	IIIb	33.4	89.3 $C_6H_{16}N[C_{11}H_{15}NO_5P]$ (374.0)	Ber. Gef.	7.48 7.69	8.28 8.37	Ausb. in Gegenwart von 1 Mol. Iso-butylalkohol 42% d. Th.
Ib	8.7 IIb	7.5	Acetonitril (30)	8 Stdn.	IIIc	13.0	60 $C_6H_{16}N[C_{14}H_{13}NO_6P]$ (424.0)	Ber. Gef.	6.61 6.74	7.31 7.17	
Ib	8.7 IIc	8.2	Acetonitril (30)	6 Stdn.	IIId	17.7	81 $C_6H_{16}N[C_{15}H_{15}NO_6P]$ (438.0)	Ber. Gef.	6.40 6.45	7.08 7.07	
Ib	8.7 IIId	6.0	Acetonitril (30)	30 Min.	IIIE	14.5	74 $C_6H_{16}N[C_{13}H_{11}NO_3P]$ (394.1)	Ber. Gef.	7.10 7.18	7.86 7.85	
Ib	8.7 IIe	8.2	Acetonitril (30)	2 Stdn.	IIIf	12.4	56 $C_6H_{16}N[C_{13}H_{10}N_2O_7P]$ (439.0)	Ber. Gef.	9.57 10.12	7.06 7.02	2 mal aus Acetonitri umkrist.
Ic	10.43 IIa	4.95	Acetonitril (20)	20 Min.	II Ig	15.2	75 $C_6H_{16}N[C_{11}H_{14}ClNO_5P]$ (408.5)	Ber. Gef.	6.85 6.42	7.60 7.46	Schmp. 93° (aus Benzol)
Id	7.75 IIa	4.95	Acetonitril (10)	2 Stdn.	II Ih	15.1	85 $C_6H_{16}N[C_8H_{17}NO_6P]$ (356.0)	Ber. Gef.	7.86 7.66	8.71 8.74	Sirupös., hinterbleibt beim Abdampfen i. Vak. analysenrein
Ia	9.8 II d	11.9	Acetonitril (30.0)	1 Stde.	IIIj	18.0	57 $C_6H_{16}N[C_7H_7NO_5P]$ (318.0)	Ber. Gef.	8.79 8.75	9.75 9.96	
Ia	9.8 II c	16.3	Acetonitril (30.0)	30 Min.	IIIk	27.2	75.4 $C_6H_{16}N[C_9H_{11}NO_6P]$ (362.0)	Ber. Gef.	7.74 7.76	8.56 8.76	
Ia	4.9 IIa	4.95	Acetonitril (8)	20 Min.	III l	5.5	37 $C_6H_{16}N[C_5H_{11}NO_5P]$ (298.0)	Ber. Gef.	9.40 9.26	10.41 10.59	Fällen der Verb. durch Zugabe von 50 ccm Äther
Ib	17.4 IIa	9.9	Acetonitril (25) + Wasser (10)	20 Min.	IIIb	10	32 $KIC_{11}H_{15}NO_5P$ (311.1)	Ber. Gef.	4.50 3.70	9.96 9.98	statt Triäthylamin 6.9 g $K_2CO_3$ . Fällen des Produktes mit 200 ccm Aceton

Tab. 2. Übersicht über die hergestellten Pyrophosphate

Ausgangsmaterial Carbamyl- phosphat Menge in g	Reaktionsprodukt Dili- thiumsalz entspr. in g	Summenformel (Mol.-Gew.) (360.0)	Analysendaten			Bemerkungen
			C	H	P	
III b 18.75	1b 8.7	Va	14.0	80	Li <sub>2</sub> [C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub> P <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	Ber. 40.00 3.34 — 17.22 Gef. 39.80 3.36 — 17.27 mit 5 % H <sub>2</sub> O genauso
III g 20.43	1c 10.43	Vb	11.0	49	Li <sub>2</sub> [C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>7</sub> P <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	Ber. 33.58 2.35 16.55 14.46 Gef. 33.61 2.88 16.08 14.17
III b 18.75	1c 10.45	Vc*)	15.6	78	Li <sub>2</sub> [C <sub>12</sub> H <sub>9</sub> ClO <sub>7</sub> P <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	Ber. 36.50 2.79 9.00 15.72 Gef. 36.45 3.07 8.71 15.47
III b 18.75	1d 7.75	Vd*)	6.7	39	Li <sub>2</sub> [C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O <sub>8</sub> P <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	Ber. 31.60 4.09 — 18.10 Gef. 33.15 4.49 — 17.91 Reinigen durch Extrahieren mit 98-proz. Äthanol (3 × 50 ccm) und Fällen mit Aceton
III l 14.90	1b 8.7	Ve*)	8.5	62.5	Li <sub>3</sub> [C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> P <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	Ber. 24.80 — — 21.38 Gef. 24.38 — — 20.86 Befreien von Am- moniumsalzen mit Alkohol/ Aceton (1:2)

\*) Die Substanz ist trotz richtiger Analyse papierchromatographisch noch nicht frei von symmetrischen Pyrophosphaten.

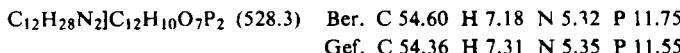
### C. Darstellung von Pyrophosphaten

Allgemeine Vorschrift, Beispiel: symm. Diphenylpyrophosphat

a) *Dilithiumsalz* (entspr. Va): 8.70 g *Monophenylphosphat* wurden unter Feuchtigkeitsausschluß in 25 ccm Acetonitril und 20 ccm Pyridin gelöst. Nach Zugabe von 18.75 g IIIb blieb die Mischung 20 Stdn. bei 40° stehen. Danach wurde bei Raumtemperatur eine wäsr. Lösung von 4.34 g *Lithiumchlorid* in 15 ccm Wasser hinzugefügt. Die abgeschiedenen Kristalle wurden abgesaugt, mehrmals mit warmem Äthanol/Aceton (1:1) digeriert und über Calciumchlorid und Schwefelsäure getrocknet. Ausb. 14.0 g (80% d. Th.).

Li2C12H10O7P2·H2O (360.0) Ber. C 40.00 H 3.34 P 17.22 Gef. C 39.80 H 3.36 P 17.27

b) *Bis-cyclohexylammoniumsalz* (entspr. Va): Das *Dilithiumsalz* (1.2 g) wurde in 20 ccm Wasser gelöst und 2.0 g *Cyclohexylamin* hinzugegeben. Der Niederschlag wurde aus etwas Salzsäure enthaltendem Wasser umkristallisiert und getrocknet. Schmp. 253° (Zers.), Ausb. 1.26 g (95.7% d. Th.).



c) *Bariumsalz* (entspr. Va): Wie unter b) beschrieben, wurde der Lösung des *Dilithiumsalzes* 1.0 g *Bariumacetat* in 20 ccm Wasser zugesetzt. Der kristalline Niederschlag wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausb. 1.20 g (95.5% d. Th.).

Ba[C12H10O7P2·2H2O] (501.6) Ber. C 28.79 H 2.78 P 12.38 Gef. C 28.84 H 3.02 P 12.38

Die analog dargestellten Substanzen sind in Tab. 2 aufgeführt.

### D. Aminolyse der Carbamylphosphate

1. *N-n-Butyl-N'-phenyl-harnstoff*: 18.75 g IIIb löste man in 100 ccm Wasser und ließ innerhalb einer Stde. 8.9 g *Anilin* zutropfen. Nach dem Filtrieren wurde aus Wasser umkristallisiert und getrocknet. Schmp. 129°. Ausb. 3.82 g (40% d. Th.).

2. *N-n-Butyl-N'-cyclohexyl-harnstoff*: 18.75 g IIIb wurden wie oben mit 9.90 g *Cyclohexylamin* in 40 ccm Wasser versetzt. Der ausgefallene Niederschlag wurde wie oben aufgearbeitet und getrocknet. Schmp. 105°. Ausb. 8.1 g (82% d. Th.).

3. *symm. Di-n-butyl-harnstoff*: IIIb wurde wie oben mit 7.30 g *n-Butylamin* versetzt. Schmp. 73°. Ausb. 7.4 g (86% d. Th.).

### E. Papierchromatographie

Die Verbindungen wurden in Propanol/konz. Ammoniak/Wasser (6:3:1) chromatographiert. Die Carbamylphosphate werden dabei zersetzt. Die *R<sub>F</sub>*-Werte enthält Tab. 3.

Tab. 3. *R<sub>F</sub>*-Werte von Phosphorsäureestern

Monophenylphosphat	0.49
Mono-[ <i>p</i> -chlor-phenyl]-phosphat	0.65
Mono-[2-methoxy-äthyl]-phosphat	0.41
<i>symm.</i> Diphenylpyrophosphat	0.81
<i>symm.</i> Bis-[ <i>p</i> -chlor-phenyl]-pyrophosphat	0.92