

THEODOR WIELAND und FRANZ PATTERMANN¹⁾

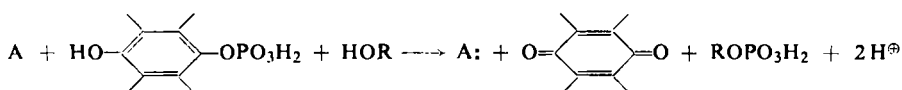
Synthese der Monophosphorsäureester von Hydrochinon und Naphthohydrochinon-(1.4)

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Frankfurt a. M.

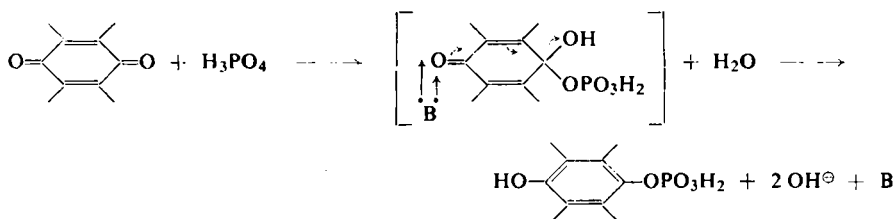
(Eingegangen am 18. Juni 1959)

Hydrochinonmonophosphat (I) wurde durch Phosphorylierung von Hydrochinonmonobenzoat mit POCl_3 und ammonolytische Abspaltung des Benzoylrests als krist. Bariumsalz erhalten. Die Synthese des Naphthohydrochinon-(1.4)-monophosphats (II) gelang auf analoge Weise, ausgehend von der Monocarbobenzoxyverbindung III über V. Der neue Phosphorsäureester wurde als krist. Bis-cyclohexylammonium-Salz isoliert.

Einfach phosphorylierte Hydrochinone vermögen beim Elektronenentzug durch ein Oxydationsmittel A ihren Phosphorylrest an hydroxylhaltige Acceptoren (ROH) abzugeben²⁻⁴⁾.



Diese „oxydative Phosphorylierung“ könnte in den Mitochondrien der Gewebszellen z. B. mit dem Monophosphorsäureester des Phyllohydrochinons oder eines der „Ubihydrochinone“⁵⁾ ablaufen. Diese Theorie würde an Wahrscheinlichkeit gewinnen, wenn es gelänge, die dem Mechanismus nach formulierbare Phosphorsäureesterbildung aus Orthophosphat und Hydrochinon beim Schritt der Elektronenaufnahme durch B eines Chinons modellmäßig zu verifizieren.



Weil sich eine solche „reduktive Phosphorylierung“ mit Chinonen und chinoiden Elektronenüberträgern bisher von uns unter den verschiedensten Bedingungen nicht hat nachweisen lassen, haben wir die Monophosphate I und II auf dem Weg einer klassischen Synthese dargestellt.

1) Auszug aus der Dissertat. F. PATTERMANN, Univ. Frankfurt a. M. 1959.

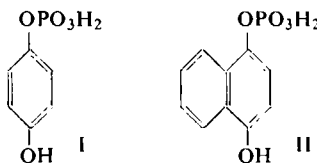
2) K. HARRISON, *Nature* [London] **181**, 1131 [1958].

3) TH. WIELAND und F. PATTERMANN, *Angew. Chem.* **70**, 313 [1958].

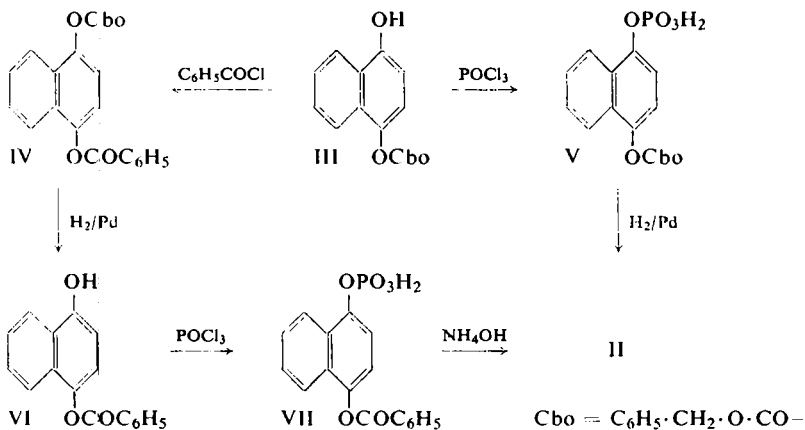
4) V. M. CLARK, G. W. KIRBY und A. R. TODD, *Nature* [London] **181**, 1650 [1958].

5) Siehe z. B. R. A. MORTON, *Nature* [London] **182**, 1764 [1958].

Hydrochinonmonophosphat (I) ist bereits vor längerer Zeit in Form seines kristallisierten Bariumsalzes von CH. MANAKA⁶⁾ durch Einwirkung von konz. Phosphorsäure + P_2O_5 auf Hydrochinon erhalten worden. Da hierbei neben anderen Produkten auch der Diester entsteht, beträgt die Ausbeute an I bei dieser Synthese nur ca. 13%. Wir haben deshalb *O*-Monocarbobenzoxyl-hydrochinon⁷⁾ und Hydrochinonmonobenzoat⁸⁾, die beide in guter Ausbeute leicht darzustellen sind, in Pyridin mit Phosphoroxychlorid umgesetzt. Das Phosphorylierungsprodukt des *O*-Monocarbobenzoxyl-hydrochinons konnte nicht in reiner Form isoliert werden. Der



Phosphorsäureester des Hydrochinonmonobenzoats, das Hydrochinon-1-phosphat-4-benzoat, entstand in 65-proz. Ausbeute als farblose, wenn auch amorphe Substanz von papierchromatographischer Einheitlichkeit. Versuche zur Kristallisation hatten keinen Erfolg, doch erwies sich diese nicht als erforderlich, da man aus dem amorphen Produkt nach Abspaltung des Benzoylrestes durch konz. Ammoniak das kristallisierte Bariumsalz der Verbindung I mit etwa 50% Ausbeute isolieren konnte. Durch Umsetzung des Hydrochinonmonobenzoats mit Diäthylphosphit, CCl_4 und Triäthylamin⁹⁾ wurde der kristallisierte Diäthylester von I, aus Hydrochinonmonobenzyläther¹⁰⁾ in analoger Weise Hydrochinon-1-benzyläther-4-diäthylphosphat aufgebaut.



⁶⁾ CH. MANAKA, J. Biochemistry [Tokio] **14**, 481 [1931–1933].

⁷⁾ H. S. OLCOTT, J. Amer. chem. Soc. **59**, 392 [1937].

⁸⁾ O. N. WITT und E. S. JOHNSON, Ber. dtsch. chem. Ges. **26**, 1909 [1893].

⁹⁾ G. W. KENNER und N. R. WILLIAMS, J. chem. Soc. [London] **1955**, 522; S. W. PELLETIER und D. M. LOCKE, J. org. Chemistry **23**, 131 [1958].

¹⁰⁾ H. SCHIFF und G. PELLIZZARI, Liebigs Ann. Chem. **221**, 369 [1883].

Zur Synthese von II sind wir in ähnlicher Weise wie bei I vorgegangen. Wie dort sollte die Monobenzoylverbindung von Naphthohydrochinon-(1.4) (VI) phosphoryliert, der Phosphorsäureester VII mit konz. Ammoniak entbenzoyliert werden. VI konnte nicht in einfacher Reaktion, sondern nur auf dem Umweg über *O*-Carbobenzoxy-naphthohydrochinon (III) und 1-*O*-Carbobenzoxy-naphthohydrochinon-4-benzoat (IV) dargestellt werden. Da sich aus dem Phosphorsäureester VII der Benzoylrest zwar ammonolytisch abspalten ließ, der Ansatz dabei aber äußerst luftempfindlich und somit schwer aufzuarbeiten war, erwies es sich als viel günstiger, Verbindung III als Objekt der Umsetzung mit POCl_3 zu wählen. Hierbei erhielten wir 4-*O*-Carbobenzoxy-naphthohydrochinon-1-phosphat (V) als krist. Barium-, Acridinium-, Mono-cyclohexylammonium- und Bis-cyclohexylammonium-Salz. Dieses lieferte nach hydrogenolytischer Entfernung der Schutzgruppe das krist. Bis-cyclohexylammonium-Salz von II in 88-proz. Ausbeute.

Die schon mitgeteilte³⁾ Übertragung des Phosphorylrests aus II auf die OH-Gruppen verschiedener Alkohole bei der Oxydation mit Jod wird ebenfalls im Versuchsteil dieser Arbeit genauer beschrieben.

Wir haben der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT für die Gewährung einer Sachbeihilfe und dem FONDS DER CHEMISCHEN INDUSTRIE für die Mittel zur Bezahlung von Chemikalien sehr zu danken.

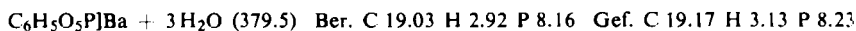
BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Hydrochinon-1-benzoat-4-phosphat: 7.0 g (0.03 Mol) *Hydrochinonmonobenzoat*⁸⁾ löste man in 100 ccm trockenem Pyridin und ließ unter Kühlung mit einer Eis/Kochsalz-Mischung und starkem Rühren 5.0 g (ca. 0.03 Mol) POCl_3 zutropfen. Dann saugte man rasch vom ausgeschiedenen Pyridin-hydrochlorid ab und entfernte das Pyridin durch Destillation i. Vak. bei 60°. Die zurückbleibende hellbraune Flüssigkeit erstarrte beim Erkalten zu einer krist. Masse. Zur Verseifung des Phosphorsäuredichlorids wurde das Reaktionsprodukt mit 100 ccm 1 *n* H_2SO_4 versetzt und über Nacht stehengelassen. Das *Hydrochinon-1-benzoat-4-phosphat* schied sich in farblosen Flocken ab, die abgesaugt und gründlich mit Wasser gewaschen wurden. Nach dem Trocknen i. Vak. über Silicagel erhielt man 7.2 g (75% d. Th.) einer blaßgelben, amorphen Substanz, die nicht kristallin zu erhalten war. Zur Reinigung wurde sie in heißem Äthanol gelöst, aus welchem sie sich nach längerem Stehenlassen bei -15° als farblose, amorphe Fällung wieder abschied. Die Verbindung sinterte ab 150° und schmolz bei 181°.

$\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{O}_6\text{P}$ (294.2) Ber. C 53.07 H 3.77 P 10.53 Gef. C 56.01 H 4.25 P 9.81

Bariumsalz des Hydrochinonmonophosphats (I): 10.8 g (ca. 0.037 Mol) nicht gereinigtes *Hydrochinon-1-benzoat-4-phosphat* wurden mit 60 ccm konz. Ammoniak übergossen. Bei schwachem Erwärmen (bis 40°) auf dem Wasserbad ging die Substanz in kurzer Zeit vollständig in Lösung, wobei sich diese zunehmend blau färbte. Nach dem Erkalten auf Raumtemperatur schieden sich Nadeln ab, die nach 1/2 stdg. Aufbewahren im Kühlschrank abgesaugt und mit Eiswasser gewaschen wurden. Die farblosen Kristalle schmolzen bei 125° und gaben mit reinem *Benzamid* (Schmp. 125°) keine Schmelzpunktsdepression. Das blaugrüne Filtrat wurde, um noch gelöste Reste von Benzamid zu entfernen, dreimal mit je 25 ccm Äther ausgeschüttelt. Beim Ansäuern mit Eisessig auf p_{H} 6 änderte sich die Farbe der Lösung und schlug in Rosa um. Nun wurde eine filtrierte Lösung von 11 g Bariumacetat in 50 ccm Wasser zugefügt, die Mischung mit Wasser auf 200 ccm aufgefüllt und nochmals

filtriert. Unter starkem mechanischem Rühren gab man tropfenweise ca. 300 ccm Äthanol zu, wobei sich das *Bariumsalz des Hydrochinonmonophosphats* in seidenglänzenden Blättchen abschied. Nachdem man die Substanz durch zweimaliges Ausfällen mit Alkohol aus Wasser gereinigt hatte, wurden die Kristalle durch Zentrifugieren abgetrennt und anschließend mit Äthanol gewaschen. Nach dem Trocknen i. Vak. über Calciumchlorid erhielt man farblose, seidenglänzende Blättchen. Ausb. 6.5 g (47% d. Th.). Das Bariumsalz enthält 3 Moll. Kristallwasser⁶⁾.



Bis-cyclohexylammonium-Salz des Hydrochinonmonophosphats: Der Lösung von 294 mg (0.001 Mol) *Cyclohexylammoniumsulfat* in 5 ccm Wasser setzte man eine Lösung von 380 mg (0.001 Mol) *Ba-Hydrochinon-monophosphat* in 10 ccm Wasser zu. Das sofort ausfallende BaSO_4 wurde abzentrifugiert und die farblose Lösung durch Gefriertrocknung eingengt. Der trockene Rückstand wurde in heißem absol. Methanol gelöst. Man trennte vom Ungelösten ab und versetzte das Filtrat tropfenweise mit Äther. Der entstandene farblose krist. Niederschlag wurde abzentrifugiert und mit Äther gewaschen. Die farblose, krist. Substanz zersetzte sich ab 205° unter Dunkelfärbung. Das Salz ist leicht löslich in Wasser, in heißem Methanol und Äthanol. Ausb. 195 mg (44% d. Th.).

Hydrochinonmonophosphat erleidet weder bei 1 stdg. Erhitzen mit 2*N* HCl noch mit 2*N* NaOH auf 100° eine hydrolytische Spaltung. Zur Prüfung seiner Spaltbarkeit durch verschiedene Oxydationsmittel wurden folgende Versuche ausgeführt:

Barium-hydrochinon-monophosphat wurde mit der ber. Menge Natriumcarbonat umgesetzt und das ausgefallene BaCO_3 abzentrifugiert. Für die folgenden Umsetzungen verwendete man diese Lösung des Dinatriumsalzes. Nach Einwirkung der einzelnen Oxydationsmittel wurden die Reaktionslösungen durch Hochspannungselektrophorese getrennt, anschließend wurden die phosphathaltigen Substanzen mit Molybdatreagenz nach C. S. HANES und F. A. ISHERWOOD¹¹⁾ sichtbar gemacht. Aus der Stärke der Phosphorsäureesterbande im Vergleich zu der Bande des entstandenen anorganischen Phosphats wurde der Grad der Spaltung ungefähr abgeschätzt.

Mit *Fehlingscher Lösung* gab die Lösung des Phosphorsäureesters auch nach 1 stdg. Erhitzen auf 100° keine positive Reaktion. Hydrochinon wirkte schon nach kurzem Erwärmen reduzierend.

Ammoniakalische Silbernitratlösung wurde mit der Versuchssubstanz 1 Stde. auf 100° erhitzt. Es entstand weder ein Silberspiegel, noch schied sich Silber aus der Lösung aus. Nach dem Ausfällen der Silberionen mit Schwefelwasserstoff und elektrophoretischer Auftrennung konnte kein anorganisches Phosphat nachgewiesen werden.

Die hydrogencarbonat-alkalische Lösung des Natriumsalzes gab bei Einwirkung einer Jodlösung nach 20 Min. langem Erwärmen auf 40° eine Spaltung von etwa 80%. Wurde die Jodlösung der neutralen Lösung zugesetzt, so ergab sich bei denselben Reaktionsbedingungen eine etwa 50-proz. oxydative Spaltung.

Einwirkung einer *Kaliumchromat*-Lösung auf die hydrogencarbonat-alkalische Lösung des Esters führte nach 20 Min. langem Erwärmen auf 40° nicht zur Abspaltung des Phosphatrests.

Unter denselben Versuchsbedingungen erfolgte durch *Wasserstoffperoxyd* eine ca. 20-proz., mit *Kaliumhexacyanoferrat(III)* und *Kaliumpermanganat* eine fast vollständige Spaltung.

Hydrochinon-1-benzoat-4-diäthylphosphat: Die Lösung von 10.7 g (0.05 Mol) *Hydrochinon-monobenzoat*⁸⁾ in 75 ccm absol. CCl_4 , 50 ccm absol. Tetrahydrofuran und 9 ccm

¹¹⁾ Nature [London] 164, 1107 [1949].

(ca. 0.068 Mol) *Diäthylphosphat*¹²⁾ wurde unter Rühren und Eiskühlung mit 7.3 ccm (0.052 Mol) Triäthylamin in 15 ccm absol. CCl_4 tropfenweise umgesetzt. Nach 3 Tagen wurde das abgeschiedene Hydrochlorid abgesaugt, mit CCl_4 gewaschen und das schwach gelbe Filtrat mit 1 *n* HCl, anschließend 4mal mit 1 *n* NaOH und 3mal mit Wasser durchgeschüttelt. Nach dem Trocknen der organischen Phase mit wasserfreiem Natriumsulfat entfernte man das Lösungsmittel i. Vak. Der ölige Rückstand erstarrte in der Kälte zu einer farblosen Masse, die nach dem Lösen in 20 ccm CCl_4 mit der 5fachen Menge Cyclohexan versetzt wurde. Bei 0° schieden sich grobe Kristalle vom Schmp. 49.5° ab. Nochmaliges Umkristallisieren aus CCl_4 und Cyclohexan (1:4) unter Verwendung von Tierkohle lieferte schöne, farblose Prismen vom Schmp. 52–53°. Ausb. 8.8 g (50% d. Th.).

$\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{O}_6\text{P}$ (350.3) Ber. C 58.33 H 5.47 P 8.84 Gef. C 58.22 H 5.57 P 8.83

Hydrochinon-monobenzyläther-diäthylphosphat: Einer Lösung von 5.82 g (0.029 Mol) *Hydrochinon-monobenzyläther*¹⁰⁾ (Schmp. 114°) in 50 ccm absol. Tetrahydrofuran und 4.4 g (0.032 Mol) *Diäthylphosphat*¹²⁾ ließ man bei 0° unter Rühren 4.45 ccm (0.032 Mol) Triäthylamin in 10 ccm absol. CCl_4 zutropfen. Nach 3tägigem Stehenlassen der Reaktionslösung erfolgte die Aufarbeitung in der oben beschriebenen Weise. Das zurückbleibende Öl erstarrte bei 0° zu einer festen Masse, die aus Cyclohexan krist. erhalten wurde. Durch Umkristallisieren aus Cyclohexan erhielt man die Verbindung in schönen, seidenglänzenden Kristallen vom Schmp. 72–73°. Ausb. 5.2 g (53.7% d. Th.).

$\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{O}_5\text{P}$ (336.3) Ber. C 60.72 H 6.30 P 9.21 Gef. C 60.63 H 6.34 P 9.10

O-Carbobenzoxy-naphthohydrochinon-(1.4) (III): In einer 250-ccm-Schliff-Flasche wurden 1.6 g (0.01 Mol) *Naphthohydrochinon-(1.4)* unter Stickstoff in einer Mischung von 100 ccm Wasser und 1.2 g Natriumcarbonat gelöst. Zur Reduktion von entstandenem Naphthochinon fügte man ca. 300 mg Natriumdithionit zu. Nach kurzem Schütteln ging das Naphthohydrochinon fast vollständig in Lösung. Man setzte 1.7 g (0.01 Mol) *Chlorameisensäurebenzylester* auf einmal zu und schüttelte die Flasche 1 Stde. mechanisch. Nach dieser Zeit war der Geruch des letzteren fast vollständig verschwunden und aus der Lösung eine grauweiße Substanz ausgefallen. Diese wurde durch Zentrifugieren abgetrennt, gründlich mit Wasser in einer Reibschale durchgearbeitet und auf einer Nutsche abgesaugt. Das noch feuchte Produkt wurde in 50 ccm heißem Äthanol gelöst. Durch die im Niederschlag eingeschlossenen Teilchen von Naphthochinon war die Lösung dunkelbraun gefärbt. Man kochte sie deshalb mit Tierkohle unter Rückfluß, filtrierte von der Kohle ab und setzte der nun gelben Lösung 50 ccm Wasser zu. In der Kälte schieden sich 1.66 g (56.5% d. Th.) bräunlich-stichige Kristalle vom Schmp. 137° ab. Aus Benzol/Petroläther (1:2) erhielt man farblose, feine Nadeln vom Schmp. 142°.

$\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{O}_4$ (294.3) Ber. C 73.46 H 4.79 Gef. C 72.66 H 4.94

1-O-Carbobenzoxy-naphthohydrochinon-(1.4)-4-benzoat (IV): 2.51 g (0.0085 Mol) *III* löste man in 20 ccm trockenem Pyridin und ließ der gelbbraunen Lösung bei Raumtemperatur 1.7 g (0.012 Mol) *Benzoylchlorid* zutropfen. Man beließ 24 Stdn. bei dieser Temperatur und goß die Reaktionslösung in 500 ccm Eiswasser. Es schied sich ein gelblicher, schmieriger Niederschlag ab, der nach einiger Zeit zu einer festen Masse erstarrte. Die Substanz wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und i. Vak. über Calciumchlorid getrocknet. Anschließend löste man in 50 ccm heißem Äthanol, behandelte mit Tierkohle und setzte der gelben Lösung 30 ccm Wasser zu. In der Kälte schied sich das Produkt in gelblichen Kristallen vom Schmp. 81–82° ab. Ausb. 2.35 g (70% d. Th.). Aus 150 ccm Methanol unter Zusatz von Tierkohle umkristallisiert, resultierten schwach gelb-stichige Kristalle vom Schmp. 90°.

$\text{C}_{25}\text{H}_{18}\text{O}_5$ (398.4) Ber. C 75.37 H 4.55 Gef. C 75.63 H 4.55

¹²⁾ MCCOMBIE, B. C. SAUNDERS und G. I. STACY, J. chem. Soc. [London] 1945, 381.

Naphthohydrochinon-(1.4)-monobenzoat (VI): 0.96 g (0.0024 Mol) *IV* vom Schmp. 90° wurden in 100 ccm frisch dest. Methanol unter Zusatz von ca. 200 mg trägerfreiem Pd-Katalysator in einer offenen Hydrierbirne bei Raumtemperatur hydriert. Nach 1½ Stdn. war die Reaktion beendet, es konnte keine weitere CO₂-Bildung nachgewiesen werden. Der Katalysator wurde abfiltriert und mit wenig Methanol gewaschen. Das Filtrat dampfte man i. Vak. zur Trockne ein und löste das vollkommen trockene Produkt in 30 ccm Ligroin (70–100°) unter Rückfluß. Beim Erkalten kristallisierten 0.38 g (60% d. Th.) schwach gelbliche Nadeln vom Schmp. 153° aus. Nochmaliges Umkristallisieren aus heißem Ligroin lieferte schöne farblose Nadeln vom Schmp. 153–154°.

$C_{17}H_{12}O_3$ (264.2) Ber. C 77.27 H 4.58 Gef. C 76.95 H 4.72

Naphthohydrochinon-(1.4)-1-acetat-4-benzoat: 108 mg *VI* wurden in 1.5 ccm trockenem Pyridin gelöst und unter Eiskühlung mit 0.1 ccm *Acetylchlorid* versetzt. Nach 24stdg. Aufbewahren bei Raumtemperatur goß man die Mischung in Eiswasser. Das abgeschiedene, schwach gelbliche Produkt wurde abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Die aus 60-proz. Äthanol umkristallisierte Substanz schmolz bei 114°. Aus Benzol/Petroläther (1:3) farblose, rhombische Plättchen vom Schmp. 115°. Ausb. 76 mg (61% d. Th.).

Naphthohydrochinon-(1.4)-1-phosphat-4-benzoat (VII) (als Bis-cyclohexylammonium-Salz): Einer Lösung von 258 mg (ca. 1 mMol) *VI* in 10 ccm absol. Benzol und 1 ccm absol. 2.6-Lutidin ließ man unter Eiskühlung und Rühren 0.2 ccm *Phosphoroxychlorid*, in 3 ccm absol. Benzol gelöst, zutropfen. Nach Beendigung der Reaktion ließ man die Lösung 1 Stde. bei Raumtemperatur stehen, saugte anschließend das abgeschiedene Lutidin-hydrochlorid ab und wusch mit wenig absol. Benzol. Nach dem Einengen der Benzollösung i. Vak. erhielt man ein gelblich gefärbtes Öl, das bei –10° mit 20 ccm 1*n* H₂SO₄ vom Chlor befreit wurde. Die Lösung, aus der sich ein schmieriges Produkt abschied, wurde 3 mal mit je 10 ccm Essigester extrahiert und die organische Schicht mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Das Trockenmittel wurde abgesaugt und das Filtrat mit einer Lösung von Cyclohexylamin in Essigester neutralisiert. Bei Zusatz der 5fachen Menge Äther schied sich bei –15° das Salz als farbloses Pulver ab. Es wurde abfiltriert, in wenig Äthanol gelöst und wieder mit der 5fachen Menge Äther gefällt. Die farblose, feinkrist. Substanz wurde abzentrifugiert, mit Äther gewaschen und über Calciumchlorid getrocknet. Die Verbindung sinterte ab 150° und schmolz bei 161° (Zers.). Sie enthält 2 Moll. Kristallwasser. Ausb. 145 mg (31% d. Th.).

$C_{17}H_{11}O_6P \cdot 2C_6H_{11}NH_3 + 2H_2O$ (578.6) Ber. C 60.19 H 7.49 N 4.84 P 5.35

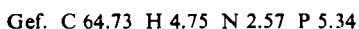
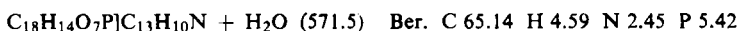
Gef. C 59.26 H 8.35 N 4.27 P 5.27

4-O-Carbobenzoxy-naphthohydrochinon-(1.4)-1-phosphat (V): Einer Lösung von 2.94 g (0.01 Mol) *O*-Carbobenzoxy-naphthohydrochinon-(1.4) (III) in 20 ccm absol. Pyridin ließ man unter Eiskühlung und Rühren 1.2 ccm *Phosphoroxychlorid* zutropfen. Die Reaktionslösung blieb bei Raumtemperatur stehen, anschließend wurde das abgeschiedene Pyridin-hydrochlorid abgesaugt und das entstandene Phosphorsäuredichlorid mit 50 ccm 1*n* H₂SO₄ in der Kälte partiell hydrolysiert. Verbindung *V* schied sich nach einiger Zeit als gelbliche, schmierige Masse ab, die auch nach langem Aufbewahren bei –15° nicht erstarrte. Man extrahierte sie mehrmals mit Essigester und versuchte anschließend, durch Behandlung mit verschiedenen organischen Lösungsmitteln ein festes Produkt zu erhalten. Alle diese Versuche lieferten stets nur Öle, die auch nach langem Trocknen über Schwefelsäure i. Vak. nicht fest wurden.

Monoacridinium-Salz: Der Essigesterextrakt des vorstehend geschilderten Ansatzes wurde mit einer methanol. Lösung von Acridin versetzt, wobei das Acridinium-Salz in feinen, orangegelben Kristallen ausfiel. Nach Zugabe von Äther zur Vervollständigung der Salz-

abscheidung wurde die Verbindung abgesaugt und mehrmals mit Äther gewaschen. Umkristallisieren aus siedendem Wasser lieferte feine, hellgelbe Kristalle. Weitere Reinigung ließ sich dadurch erreichen, daß man das Salz in Dimethylsulfoxyd löste und durch Zusatz der gleichen Menge Wasser wieder ausfällte. Die feinen, hellgelben Nadeln wurden abgesaugt, mehrmals mit Aceton gewaschen und i. Vak. getrocknet. Ausb. etwa 50% d. Th. Das Salz sinterte unter Gasentwicklung bei ca. 140° zu einer orangegelben Substanz, die bei weiterem Erhitzen wieder erstarrte. Die orangegelbe Form, die das wasserfreie Salz darstellt, schmolz bei 170°.

Das Acridinium-Salz verlor, 24 Stdn. bei 100°/5 Torr über Phosphorpentoxyd getrocknet, 3.20% seines Gewichts (entspr. 1.02 Moll. Wasser).

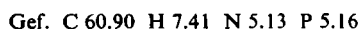
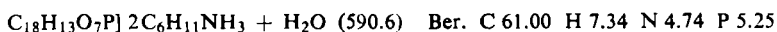


Bis-cyclohexylammonium-Salz: Der, wie vorstehend beschrieben, erhaltene Essigesterextrakt des Phosphorsäureesters V wurde i. Vak. auf die Hälfte eingengt. Die saure Lösung wurde mit einer Mischung von Cyclohexylamin/Essigester (1:1) auf p_{H} 8.0 eingestellt und mit dem gleichen Vol. absol. Äthers versetzt. Beim Stehenlassen in der Kälte schied sich das Salz als schwach gelblich gefärbtes Pulver ab. Erneutes Einengen des Filtrats i. Vak. und Ätherzusatz lieferte eine weitere Menge an Salz. Das Rohprodukt schmolz nach dem Waschen und Trocknen bei 135°. Ausb. 93% d. Th.

Zur Reinigung wurde die Substanz in wenig absol. Äthanol gelöst, filtriert und nach Zugabe der 5fachen Menge absol. Äthers bei -15° stehengelassen. Das abgeschiedene, farblose, nichtkrist. Salz zeigte den Schmp. 132–133°.

Beim Lösen in 90-proz. Äthanol und langsamem Zusatz von Äther erhielt man feine, farblose Nadeln, die im Gegensatz zum amorphen Salz Kristallwasser enthielten. Wurde die Lösung der amorphen Verbindung in Äthanol mit der 3fachen Menge Tetrahydrofuran versetzt, so erhielt man eine nichtkrist. Fällung, die bei Zugabe von Wasser in Lösung ging. Nach kurzer Zeit schied sich daraus das Salz ebenfalls in feinen, farblosen Nadeln ab. Die krist. Substanz sinterte bei 125° und schmolz bei 150° zu einer blasigen Flüssigkeit. Diese Form war schwerer löslich in kaltem Wasser und in Äthanol als das wasserfreie Salz.

Das Bis-cyclohexylammonium-Salz verlor, 48 Stdn. bei 65°/5 Torr über Phosphorpentoxyd getrocknet, 3.70% seines Gewichtes (entspr. 1.22 Moll. Wasser).

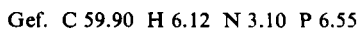
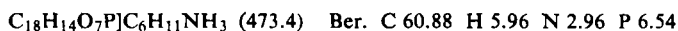


Eigenschaften: Die Verbindung löst sich in kaltem Wasser, Methanol und Äthanol. Bei mehrmaliger Reinigung des Salzes aus Äthanol/Äther erhält man das schwerer wasserlösliche Mono-cyclohexylammonium-Salz. Die wäßr. Lösung reduziert bei Raumtemperatur ammoniakalische Silbernitratlösung.

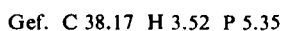
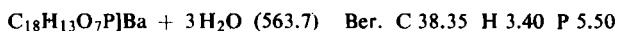
Bei längerem Kochen des Salzes mit Essigester unter Rückfluß schieden sich nach dem Abtrennen des Ungelösten aus dem Filtrat beim Erkalten schöne, farblose Nadeln ab, die sich durch Vergleich mit einer authent. Probe vom Schmp. 141° als Cyclohexylammoniumacetat erwiesen.

Mono-cyclohexylammonium-Salz: Wurde die Lösung von V in Essigester mit Cyclohexylamin nur bis etwa p_{H} 7 neutralisiert, so erhielt man das Mono-cyclohexylammonium-Salz. Dieses ließ sich durch weiteren Basen-Zusatz in das Bis-cyclohexylammonium-Salz überführen, welches umgekehrt, bei mehrmaliger Reinigung aus organischen Lösungsmitteln (besonders wenn diese Operation in der Wärme vorgenommen wurde), leicht einen Amin-Rest wieder

abspaltete. Diese Verbindung unterscheidet sich vom Diamin-Salz durch geringe Löslichkeit in kaltem Wasser, ferner durch die schwerere Löslichkeit in kaltem Methanol und Äthanol. Aus absol. Alkohol/Äther erhielt man das wasserfreie Salz als farbloses, feinkrist. Pulver, das ab 138° etwas zusammensinterte und bei 148° schmolz.



Bariumsatz: 114.5 mg (0.2 mMol) des Bis-cyclohexylammonium-Salzes, gelöst in 10 ccm Wasser, und 60 mg (0.2 mMol) Bariumacetat, gelöst in 2 ccm Wasser, wurden unter Rühren vereinigt. Der sich sofort abscheidende feine, farblose Niederschlag wurde abgesaugt, mit Wasser und anschließend mit Äthanol gewaschen und getrocknet. Ausb. 70 mg (59% d. Th.). Aus siedendem Wasser glänzende, blaßbräunliche Blättchen.

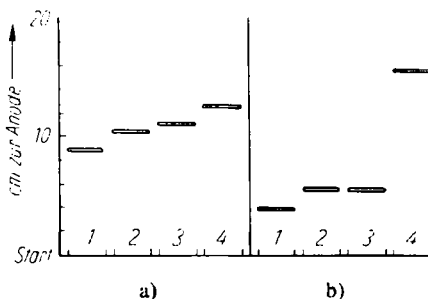
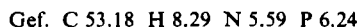
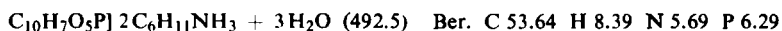


Napththohydrochinon-(1.4)-monophosphat (II) (als Bis-cyclohexylammonium-Salz): 203.5 mg des Bis-cyclohexylammonium-Salzes von V wurden in 6 ccm Wasser gelöst und unter Zusatz von 80 mg trägerfreiem Palladium-Katalysator in einer Schüttelhydrierapparatur hydrogenolysiert. Nach 4 Stdn. Reaktionsdauer wurde der Katalysator unter Stickstoff-Atmosphäre rasch abfiltriert, mit wenig Wasser gewaschen und das Filtrat nach dem Einfrieren im Vakuum-Exsikkator eingeengt. Man erhielt das Salz in feinen, glänzenden, fast farblosen Blättchen, die bei 178–180° (Zers.) schmolzen. Ausb. 153 mg (88% d. Th.). Die Reinheit der Verbindung betrug ca. 99%.

Das Salz ist leicht löslich in kaltem Wasser, Methanol, Äthanol, Propanol-(1) und -(2), beim Erwärmen auch in höheren Alkoholen.

Entscheidend für die Gewinnung des Salzes ist, daß die Lösung bei der Gefriertrocknung im Exsikkator nicht auftaut. Alle Ansätze, bei denen dies eintrat, färbten sich infolge der leichten Oxydierbarkeit in wäßr. Lösung braun. Nochmaliges Einfrieren und Wiederholung der Trocknung lieferte dann ein braunes, teilweise amorphes Produkt.

Das Salz verlor beim Trocknen 11.22% seines Gewichtes (entspr. 3.08 Moll. Wasser).



Papierelektropherogramme (schematisch) a) bei p_H 1.9 und b) bei p_H 6.5 von

1. 4-O-Carbobenzoxy-napththohydrochinon-(1.4)-1-phosphat (V),
2. Napththohydrochinon-(1.4)-1-phosphat-4-benzoat (VII),
3. Napththohydrochinon-(1.4)-monophosphat (II) und von
4. Orthophosphat

Papierelektrophorese¹³⁾: Die beschriebenen Naphthohydrochinonphosphate lassen sich durch Papierelektrophorese bei 40 V/cm in 90 Min. voneinander trennen. Die Abbild. zeigt schematisch die nach l.c.¹¹⁾ entwickelten Pherogramme in saurem Puffer (Eisessig/Ameisensäure/Wasser (15:5:80)) und bei p_H 6.5 (Pyridin/Eisessig/Wasser (10:1:89)).

Papierchromatographie verschiedener Naphthohydrochinon-(1.4)-Derivate: Chromatographische Trennungen erfolgten absteigend auf Papier 2043 b Mgl (Fa. Schleicher & Schüll) in sek. Butanol/Ameisensäure/Wasser (75:15:10). Die Verbindungen ließen sich durch UV-Licht und durch Entwickeln mit Phosphatreagensichtbar machen¹¹⁾.

	R_F -Werte	im UV-Licht
O-Carbobenzoxynaphthohydrochinon-(1.4) (III)	0.95	blaue Fluoreszenz
4-O-Carbobenzoxynaphthohydrochinon-(1.4)-1-phosphat (V)	0.75	violette Absorption
Naphthohydrochinon-(1.4)-benzoat (VI)	0.94	violette Absorption
Naphthohydrochinon-(1.4)-1-phosphat-4-benzoat (VII)	0.72	violette Absorption
Naphthohydrochinon-(1.4)-monophosphat (II)	0.59	helle Fluoreszenz

Untersuchungen am Naphthohydrochinon-(1.4)-monophosphat (II)

Spaltung des Esters durch Oxydationsmittel

Auf wäßr. Lösungen von Bis-cyclohexylammonium-naphthohydrochinon-(1.4)-phosphat ließ man verschiedene Oxydationsmittel einwirken. Nach der Umsetzung erfolgte die Auftrennung der Reaktionslösungen durch Papier-Hochspannungselektrophorese bei p_H 1.9 während 90 Min. und anschließend die Sichtbarmachung der Reaktionsprodukte durch Entwickeln mit Phosphatreagensicht¹¹⁾. Aus der Stärke der Phosphorsäureester-Bande im Vergleich zu der Bande des entstandenen Orthophosphats wurde der Grad der Spaltung abgeschätzt.

a) *Spaltung durch Luftsauerstoff*: Bei längerem Stehenlassen der Lösung an der Luft erfolgte Braunfärbung und teilweise Abscheidung von Naphthochinon-(1.4) als rotbrauner Niederschlag (identifiziert durch Mischprobe mit der authent. Verbindung). 12stdg. Luft-einwirkung hatte eine ca. 50-proz. Spaltung zur Folge.

b) *Luftoxydation in Gegenwart von Schwermetallionen*: Durch die Lösung wurde nach Zugabe von Spuren von Cu^{2+} oder Fe^{3+} -Ionen Luft gesaugt. Nach 30 Min. färbte sich die Lösung grün, nach 45 Min. blaugrün und nach 60 Min. dunkelblau. Nach 12 Stdn. Reaktionsdauer war die Lösung rotbraun, wobei Naphthochinon-(1.4) ausgefallen war. Der Spaltungsgrad betrug ca. 60%.

c) *Spaltung durch Jod*: Bei langsamer Zugabe einer wäßrigen Jod/Jodkaliumlösung wurde sofort Jod verbraucht, wobei über blaue, dann grüne Farbtöne die Jodfarbe erhalten blieb und das Chinon sich abschied; quantitativ. Spaltung.

d) *Spaltung durch Kaliumperjodat*: Nach Zugabe von wäßr. Perjodatlösung färbte sich die Lösung blau und wurde bei weiterem Zusatz hellgelb; quantitativ. Spaltung.

e) *Spaltung durch Kaliumhexacyanoferrat(III)*: Zugabe des Oxydationsmittels bewirkte vollkommene Spaltung des Esters, wobei die Lösung über blaue und grüne Farbtöne gelb wurde.

f) *Spaltung durch Kaliumchromat*: Die gelbe Farbe des Chromats verschwand langsam, und die Lösung färbte sich unter Abscheidung von Naphthochinon-(1.4) braun. Die Spaltung war quantitativ.

¹³⁾ TH. WIELAND und G. PFLEIDERER, Angew. Chem. 67, 257 [1955].

Oxydative Transphosphorylierungen

Phosphorylierung von Alkoholen

Lösungen des Bis-cyclohexylammonium-Salzes von II in absol. Alkoholen sind bei Luft-ausschluß längere Zeit unverändert haltbar. Fügt man diesen Lösungen Jod in dem entsprechenden Alkohol hinzu, so wird sofort Jod verbraucht, bis bei weiterer Zugabe des Oxydationsmittels über grüne Zwischentöne die Jodfarbe erhalten bleibt. Nach Abdampfen des Alkohols i. Vak. nahm man den Rückstand in wenig Wasser auf und trennte die Reaktionsprodukte durch Hochspannungselektrophorese bei p_H 1.9. Zur Identifizierung der Umsetzungsprodukte ließ man die entsprechenden Phosphorsäure-monoalkylester als Vergleichssubstanzen mitwandern.

Bei Verwendung von *Methanol*, *Äthanol*, *Propanol*-(1) und -(2) als Acceptor erhielt man die entsprechenden Alkylphosphate in guter Ausbeute. Bei *tert.-Butanol*, in welchem das Cyclohexylammonium-Salz nur in der Wärme löslich war, fand eine geringe Phosphorylierung zum *tert.-Butylphosphat* statt.

Phosphorylierung von Glycerin: 60 mg Bis-cyclohexylammonium-Salz wurden unter leichtem Erwärmen in 0.3 ccm absol. Glycerin und 0.5 ccm absol. Benzol gelöst und mit einer Jodlösung in absol. Benzol versetzt. Das Benzol wurde i. Vak. abgedampft und der Rückstand mit Wasser verdünnt. Nach elektrophoretischer Auftrennung auf Papier bei p_H 1.9 erhielt man neben entstandenem Orthophosphat eine weitere phosphat-positive Verbindung. Diese wurde eluiert, die Lösung durch Gefriertrocknen eingeengt und anschließend auf 1- und 2-Glycerophosphat untersucht. Die Entscheidung, welcher der beiden Ester entstanden war, erfolgte nach der Bestimmungsmethode von C. F. BURMASTER¹⁴⁾. Hierbei wird das 1-Glycerophosphat durch Perjodsäure bei p_H 3 zu Glykolaldehyd-phosphat oxydiert, das beim Erhitzen mit 1 *N* H₂SO₄ auf 100° vollständige Spaltung erleidet. Auf Grund dieser Methode konnte das Phosphorylierungsprodukt als 1-Glycerophosphat identifiziert werden. Auch Glycerinaldehyd-diäthylacetal konnte in ähnlicher Weise, wenn auch mit sehr geringer Ausbeute, zu 3-Phospho-glycerinaldehyd-(acetal) phosphoryliert werden.

¹⁴⁾ J. biol. Chemistry **164**, 233 [1946].