

chromatographiert. Sie enthielt neben anorganischem Phosphat, im Gemisch A (absteigend) ein UV-absorbierendes Pyrophosphat mit dem R_F -Wert 0.03 und im Gemisch B (aufsteigend) mit dem R_F -Wert 0.43. Diese Werte dürften mit Sicherheit nur einem *Monobenzylpyrophosphat* entsprechen. Eine Trennung von dem anorganischen Phosphat wurde nicht erreicht.

4. Zusammenstellung der R_F -Werte

Gemisch A: Isopropylalkohol/konz. Ammoniak/Wasser (8:1:1); absteigend.

Gemisch B: n-Propanol/konz. Ammoniak/Wasser (6:3:1); aufsteigend.

Substanz	Gemisch A	Gemisch B
Anorganisches Phosphat	0.00	0.12
Monobenzylphosphat	0.08	0.51
Dibenzylphosphat	0.67	0.90
Tribenzylphosphat	0.91	0.89
Phosphorsäure-methylester-benzylester	0.55	
Phosphorsäure-monobenzylester-cyclohexylamid	0.69	
Phosphorsäure-monobenzylester-benzylamid	0.59	
Phosphorsäure-monobenzylester-anilid	0.62	
Phosphorsäure-monobenzylester- <i>p</i> -phenetidid	0.61	
Phosphorsäure-monobenzylester-amid	0.35	
<i>symm.</i> P ¹ , P ² -Dibenzyl-pyrophosphat-bis-cyclohexylammoniumsalz	0.40	
<i>asymm.</i> P ¹ - <i>p</i> -Chlorphenyl-P ² -benzyl-pyrophosphat-bis-cyclohexylammoniumsalz	0.47	
Monobenzylpyrophosphat	0.03	0.41
Natrium-tribenzylpyrophosphat	0.36—0.73	

FRIEDRICH CRAMER und ROLF WITTMANN

Zur Chemie der energiereichen Phosphate, X¹⁾

Die Darstellung von Triestern der Pyrophosphorsäure und ihre Verwendung zur Synthese von Nucleotid-Derivaten

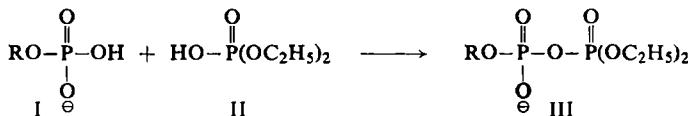
Aus dem Chemischen Institut der Universität Heidelberg
und dem Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule Darmstadt
(Eingegangen am 8. Juli 1960)

Triester der Pyrophosphorsäure vom Typ III mit beliebigem R können aus dem Enolphosphat des Malonesters IV und Phosphorsäure erhalten werden; sie reagieren unter Übertragung der Monoesterhälfte des Moleküls mit Aminen, Alkoholen und Säureanionen. — Das Umsetzungsprodukt VI aus Adenosin-5'-phosphorsäure verhält sich wie ein „aktiviertes ADP“ und überträgt den Nucleotidrest auf Basen, Alkohole und Säuren.

In der vorigen Mitteilung¹⁾ zeigten wir, daß Triester der Pyrophosphorsäure ausschließlich die Monoesterhälfte des Moleküls übertragen. Somit würde sich die Mögliche-

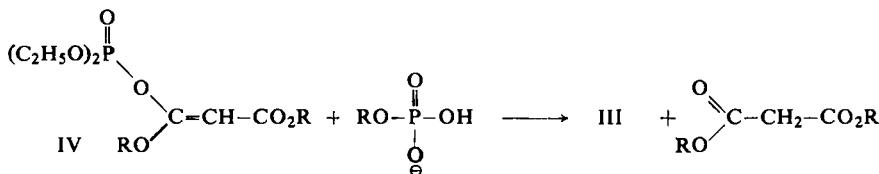
¹⁾ IX. Mitteil.: F. CRAMER und R. WITTMANN, Chem. Ber. 94, 322 [1961], vorstehend.

keit ergeben, beliebige Monoesterderivate der Phosphorsäure (I) zu „aktivieren“, falls es mit einer einfachen Reaktion gelingt, sie mit einem Phosphorsäure-diester, z. B. II, zu einem Triester III zu verknüpfen.



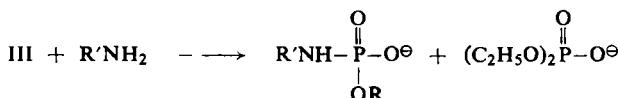
In einer früheren Mitteilung²⁾ zeigten wir, daß Phosphorsäure-[α -äthoxy- β -carboäthoxy-vinylester]-diäthylester (IV) mit Phosphorsäuren oder beliebigen anderen Säuren³⁾ zu gemischten Anhydriden reagiert. Diese Reaktion können wir nun zur Synthese von Anhydriden vom Typ III anwenden.

IV überträgt in außerordentlich glatter, meist quantitativer Reaktion den Rest des Phosphorsäure-diäthylesters, wobei sich mit Monoestersäuren Triester III bilden, einziges Nebenprodukt ist Malonester. IV und Phosphorsäuren reagieren sowohl



in Gegenwart von Base wie auch als freie Säuren. In letzterem Falle ist die Reaktion u. U. stark exotherm und führt zur Bildung von Nebenprodukten. Zweckmäßig verwendet man einen Überschuß von mindestens 1–2 Moll. IV, um eine Weiterreaktion des Triesters III zum symmetrischen Diester zu vermeiden. Die entstandenen P¹-Diäthylester-P²-monoalkyl-(oder -aryl)ester der Pyrophosphorsäure III sind im allgemeinen wesentlich reaktionsfähiger als die entsprechenden Benzylester¹⁾, sie werden in der Regel nicht isoliert, sondern gleich zu den folgenden Reaktionen verwendet.

Zur Darstellung von Phosphorsäure-monoester-amiden mischt man zunächst den Phosphorsäure-monoester mit IV, läßt kurze Zeit stehen, bis sich der Triester gebildet hat, und fügt dann das Amin hinzu. Die Aminolyse konnte mit schwachen und starken Amminen in guten Ausbeuten durchgeführt werden.

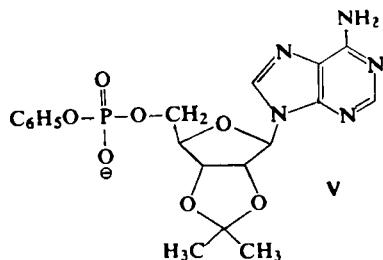


Die Alkoholyse des Triesters III wird entweder durch Mischen der Ausgangsprodukte in dem entsprechenden Alkohol vorgenommen, oder es wird zuerst IV und I gemischt und anschließend mit Alkohol versetzt. Bei der Aufarbeitung kann man den entstandenen Phosphorsäure-diäthylester wegen seiner größeren Wasserlöslichkeit leicht abtrennen. Neben verschiedenen Alkoholen konnte auch das Iso-

²⁾ F. CRAMER und K. G. GÄRTNER, Chem. Ber. 91, 704 [1958].

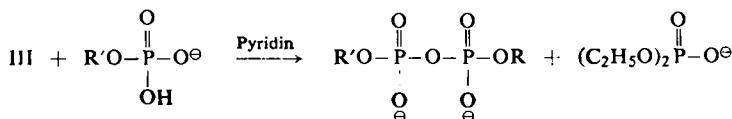
³⁾ F. CRAMER und K. G. GÄRTNER, Chem. and Ind. 1958, 560; Chem. Ber. 91, 1562 [1958].

propylidenadenosin mit Phosphorsäure-monophenylester und IV zum Isopropylidenadenosin-5'-monophosphorsäure-phenylester (V) umgesetzt werden.



Auch Orthophosphorsäure kann mit IV umgesetzt werden, es bildet sich intermediär das P¹-Diäthyl-pyrophosphat (III, R = H), das mit Alkoholen nunmehr in Anwesenheit von 1 Mol. Base zu *Monoestern* der Orthophosphorsäure reagiert. Wenn man ohne Base arbeitet, reagiert die entstandene Monoestersäure weiter, und man erhält mit überschüssigem Alkohol Diester; man hat es also durch Variation der Bedingungen in der Hand, die Reaktion zum Mono- oder Diester zu leiten.

III reagiert mit Phosphorsäure-monoestern zu P¹,P²-disubstituierten Pyrophosphaten.

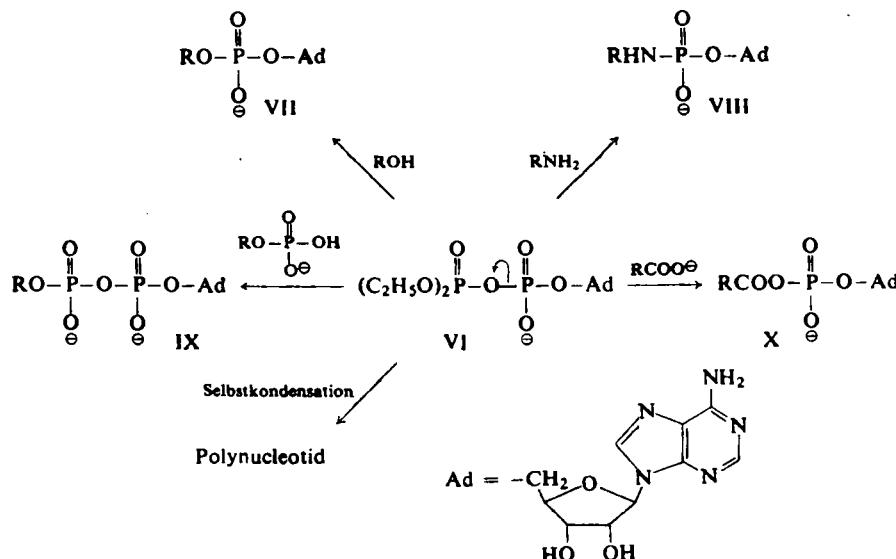


Zur Darstellung des P¹-Phenyl-P²-*p*-chlorphenyl-pyrophosphats wurde III erst mit tertiärem Amin ölig gefällt und durch Waschen mit Äther von überschüssigem IV befreit. Dies war notwendig, um Nebenreaktionen von IV mit der später zuzusetzenden zweiten Säure zu vermeiden. Die Pyrophosphate kann man mit Ionenaustauschern in die freien Säuren überführen und anschließend als Cyclohexylammoniumsalze ausfällen. Man arbeitet auch bei dieser Reaktion zweckmäßig nicht oberhalb von 40°, um Quartärsalzbildung mit Pyridin und Abspaltung von Äthylgruppen zu vermeiden. Mit Orthophosphorsäure und III in Pyridin erhält man Pyrophosphorsäure-monoester, die jedoch nur chromatographisch nachgewiesen wurden. Mit Benzoat und III bilden sich die entsprechenden Phosphorsäure-benzoesäure-anhydride.

Aus Adenosin-5'-phosphorsäure und IV entsteht in 90-proz. Ausbeute das P¹-[Adenosyl-(5')]-P²-diäthyl-pyrophosphat (VI), welches als Natriumsalz isoliert werden kann und recht stabil ist. Die Schwierigkeit, zur Reaktion freie Adenosinmono-phosphorsäure in wasserfreiem Medium zu lösen, konnte dadurch überwunden werden, daß IV auch ebensogut mit dem löslichen Mono-[tri-n-octylammonium]-oder dem Bis-[tri-n-butylammonium]-Salz der Adenosin-5'-phosphorsäure reagierte.

VI reagiert — in Analogie zu dem beschriebenen Verhalten der anderen Triester — mit Alkoholen zu Estern der Adenosin-5'-phosphorsäure (VII), mit Aminen zu Adenosin-5'-phosphorsäure-amiden (VIII), mit Phosphorsäure-monoestern zu Estern des Adenosin-diphosphats (IX) und mit Carbonsäuren zu Adenosin-5'-phosphor-

säure-carbonsäure-anhydriden (X). Ganz allgemein liegt in VI der Rest der Adenosin-5'-phosphorsäure in einer aktivierten Form vor und kann auf nahezu beliebige Nucleophile übertragen werden. VI ist in seinen Anwendungsmöglichkeiten am ehesten dem AMP-Amid bzw. -Morpholid⁴⁻⁶⁾ zu vergleichen, welches als Ausgangsmaterial zur Synthese von Flavin-adenin-dinucleotid und Coenzym A diente. Während



jedoch die Nucleotid-amide nur mit Phosphat-Anionen zu unsymmetrischen Pyrophosphaten reagieren, kann VI auch mit Alkoholen und Carbonsäuren umgesetzt werden. Wie Vorversuche zeigen, bildet sich aus VI und Flavin-mononucleotid das Flavin-adenin-dinucleotid und durch Reaktion von VI mit sich selbst Polynucleotid. Die Reaktion lässt sich auch auf die Thymidylsäure übertragen und kann zur Synthese von Polythymidylsäuren verwendet werden⁷⁾.

Diese Arbeit wurde unterstützt durch Sachbeihilfen der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT, Bad Godesberg, der ROCKEFELLER-STIFTUNG, New York, des FONDS DER CHEMIE, Düsseldorf, der BADISCHEN ANILIN- & SODA-FABRIK, Ludwigshafen, und der RESEARCH CORPORATION, New York.

4) R. W. CHAMBERS und J. G. MOFFATT, J. Amer. chem. Soc. **80**, 3752 [1958].

5) H. G. KHORANA und J. G. MOFFATT, J. Amer. chem. Soc. **80**, 3756 [1958].

6) J. G. MOFFATT und H. G. KHORANA, J. Amer. chem. Soc. **81**, 1265 [1959].

7) F. CRAMER und R. WITTMANN, Angew. Chem. **72**, 628 [1960].

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

1. Ausgangsmaterialien

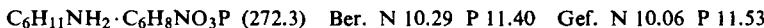
Phosphorsäure-[α -äthoxy- β -carbäthoxy-vinylester]-diäthylester (IV) wurde nach I.c.²⁾ erhalten. *Isopropylidenadenosin* wurde aus Adenosin und Aceton mit Zinkchlorid als Kondensationsmittel dargestellt. In Abweichung zu früheren Methoden wurde die Lösung nach der Kondensation weitgehend abgedampft, mit Wasser aufgenommen und mehrmals mit Chloroform extrahiert, wobei sich das Isopropylidenadenosin in Chloroform löst. *Adenosin-monophosphorsäure* war ein Präparat der Firma Zellstoff-Waldhof.

2. Phosphorsäure-monoester-amide

a) *Phosphorsäure-monophenylester-cyclohexylamid*: 0.348 g *Phosphorsäure-monophenylester* und 1.48 g IV wurden 1 Stde. in 10 ccm Äther bei 20° gehalten, dann wurde mit 5 ccm Chloroform und 3 ccm *Cyclohexylamin* versetzt. Nach 24 Stdn. wurde von einem geringen Niederschlag abfiltriert (Diphenylpyrophosphat-bis-cyclohexylammoniumsalz, 0.087 g). Das Filtrat wurde auf 5 ccm eingeengt und mit Petroläther zur Kristallisation gebracht. Umkristallisieren aus Chloroform/Petroläther. Ausb. 0.518 g (73.3% d. Th.) *Cyclohexylammoniumsalz*. Schmp. 192–193°.



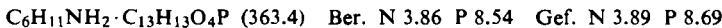
b) *Phosphorsäure-monophenylester-amid*: Der wie unter 2.a) dargestellte Triester wurde nach 1 Stde. durch Einleiten von gasförmigem *Ammoniak* unter Eiskühlung zerlegt, wobei das Amid auskristallisierte. Der Niederschlag wurde mit absol. Äther gewaschen, in Methanol aufgenommen und zur Entfernung von einer Spur Diphenylpyrophosphat mit *Cyclohexylamin* versetzt. Nach dem Filtern wurde eingeengt, mit Tierkohle behandelt, mit Äther versetzt und der Kristallisation überlassen. Umkristallisieren aus Äthanol/Methanol/Äther. Ausb. 0.296 g (43.6% d. Th.). Schmp. des *Cyclohexylammoniumsalzes*: Sintern 179–184°, Schmelzen bei 220–227° (Substanz kristallisiert sofort wieder), endgültiges Schmelzen bei 237–240°.



Die Versuche mit Anilin und *p*-Nitroanilin verliefen analog.

3. Phosphorsäureester

a) *Phosphorsäure-phenylester-benzylester*: 0.348 g *Phosphorsäure-monophenylester* wurden mit 1.48 g IV in 10 ccm Äther 1 Stde. bei 20° gehalten. Danach wurden 3 ccm *Benzylalkohol* und 5 ccm Pyridin hinzugefügt. Nach 48 Stdn. wurde mit währ. Ammoniak aufgenommen und mit Äther ausgeschüttelt. Der Äther wurde zweimal mit verd. Ammoniak rückextrahiert. Die wäßrige Phase wurde nun mit 2 ccm *Cyclohexylamin* versetzt, bei 45° evaporiert, evtl. Niederschlag abgesaugt und der endlich resultierende Sirup in 50 ccm Chloroform aufgenommen. Darauf wurde 2 mal mit 5 ccm Wasser ausgeschüttelt (die wäßrigen Phasen konnten verworfen werden, da sie fast ausschließlich den Phosphorsäure-diäthylester enthielten). Der obige Niederschlag wurde mit der Chloroformphase vereinigt, eingeengt, in wenig Aceton aufgenommen und mit Petroläther zur Kristallisation gebracht. Umkristallisieren durch Lösen in Chloroform/Aceton und Versetzen mit Petroläther. Schmp. 147–149⁸⁾, Ausb. 0.562 g (78.5% d. Th.).

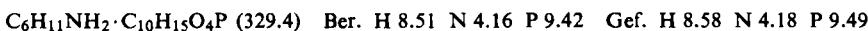


b) *Phosphorsäure-n-butylester-phenylester*: Der Triester wurde wie unter 3.a) dargestellt und mit 0.74 g *n-Butanol* in 4 ccm Pyridin umgesetzt. Nach 48 Stdn. bei 50° wurde soweit wie möglich eingeengt, mit 2 ccm *Cyclohexylamin* und 30 ccm Wasser aufgenommen und mit

⁸⁾ V. M. CLARK und A. R. TODD, J. chem. Soc. [London] 1950, 2030.

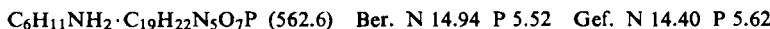
Äther extrahiert. Der Äther wurde zweimal rückextrahiert und dann verworfen. Die wäßrigen Phasen wurden i. Vak. zum Sirup eingeengt, mit 50 ccm Chloroform aufgenommen und der Phosphorsäure-diäthylester durch Extrahieren mit 10 ccm Wasser entfernt.

Das Chloroform wurde nach dem Trocknen eingeengt und das Cyclohexylammoniumsalz mit Petroläther bei -20° zur Kristallisation gebracht. Umkristallisieren aus Aceton/Chloroform/Petroläther. Schmp. $110-111^\circ$, Ausb. 0.509 g (77.35% d. Th.).



In analoger Weise wurden Isopropylalkohol und *p*-Nitrobenzylalkohol umgesetzt.

c) *Isopropylidenadenosin-5'-phosphorsäure-phenylester*: 0.348 g *Phosphorsäure-monophenylester* wurden in 10 ccm absol. Äther gelöst und dazu 1.480 g IV gegeben. Nach 1 Stde. bei 20° wurden 0.10 g *Isopropylidenadenosin* und 5 ccm Pyridin zugegeben und die leicht gelbgefärbte Lösung 48 Stdn. bei 20° und 6 Stdn. bei 40° stehengelassen. Danach wurde i. Vak. bei 45° eingeengt, mit wenig wäßr. Ammoniak aufgenommen und mehrmals mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherextrakte wurden verworfen und die wäßrige Phase mit 1 ccm *Cyclohexylamin* i. Vak. bei 40° zum Öl eingeengt. Dann wurde mit Aceton aufgenommen, von einer geringen Fällung abfiltriert (Diphenylpyrophosphat), mit 20 ccm Wasser versetzt und solange mit Chloroform extrahiert, bis die Chloroformphase farblos blieb. Das Chloroform wurde verworfen. Die wäßrige Phase wurde i. Vak. zum Sirup eingeengt, mit Aceton aufgenommen und mit Petroläther gefällt. Der Petroläther wurde dekantiert und das verbliebene Öl mehrmals mit Petroläther gewaschen. Der Rückstand wurde mit Aceton und anschließend mit Chloroform extrahiert, die Lösungen eingeengt und mit Petroläther in der Kälte zur Kristallisation gebracht. Ausb. 0.096 g (52.5% d. Th.), Schmp. $210-212^\circ$.



d) *Phosphorsäure-monobenzylester*: 0.196 g wasserfreie *Orthophosphorsäure* wurden mit 0.404 g Triäthylamin in 5 ccm *Benzylalkohol* gelöst und 1.48 g IV hinzugefügt. Nach 48 Stdn. bei 40° wurde mit 20 ccm Äther versetzt und 3 mal mit 10 ccm verd. Ammoniak ausgeschüttelt. Die Ätherphase wurde verworfen und die wäßr. Lösungen über eine Säule mit Amberlite-IR 120 in wäßr. Ammoniak eingetrockt. Nach dem Neutralwaschen wurde die Lösung i. Vak. zur Trockene eingedampft und der Rückstand mit 98-proz. Äthanol extrahiert. Die Äthanolphasen wurden eingeengt und mit Aceton gefällt. Die Niederschläge wurden in 10 ccm $3n$ H_2SO_4 gelöst und mit ca. 250 ccm Äther in kleinen Portionen ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen des Äthers mit Natriumsulfat wurde der *Phosphorsäure-monobenzylester* mit überschüssigem *Cyclohexylamin* gefällt. Ausb. 0.352 g (43.6% d. Th.); Schmp. $232-235^\circ$ ^{9,10)}.

e) *Phosphorsäure-dibenzylester*: 0.196 g wasserfreie *Orthophosphorsäure* wurden in 10 ccm *Benzylalkohol* gelöst und 2.96 g IV hinzugefügt. Nach 72 Stdn. bei 40° wurde mit 20 ccm Äther versetzt und mit 5×10 ccm verd. Ammoniak extrahiert. Die wäßrigen Extrakte wurden unter Kühlung solange mit $3n$ H_2SO_4 versetzt, bis keine Trübung mehr auftrat. Der kristallisierte *Phosphorsäure-dibenzylester* wurde abgesaugt und mit wenig Eiswasser gewaschen. Ausb. 0.268 g (48% d. Th.); Schmp. 78° ⁸⁾.

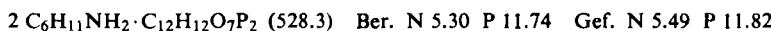
4. Symmetrische und asymmetrische Pyrophosphate, Acylphosphate

a) *P¹·P²-Diphenyl-pyrophosphat*: 0.348 g *Phosphorsäure-monophenylester* wurden in 2 ccm Pyridin gelöst und zu der Lösung 0.74 g IV gegeben. Nach 48 Stdn. bei 40° wurde die leicht gelbgefärbte Lösung mit 50 ccm Wasser aufgenommen und 2 ccm *Cyclohexylamin* zugegeben. Nach kurzem Aufbewahren kristallisierte das *Bis-cyclohexylammoniumsalz des Di-*

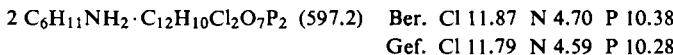
⁹⁾ A. R. TODD und A. S. CURRY, in J. KUMAMOTO und F. H. WESTHEIMER, J. Amer. chem. Soc. 77, 2515 [1955].

¹⁰⁾ J. G. MOFFATT und H. G. KHORANA, J. Amer. chem. Soc. 79, 3741 [1957].

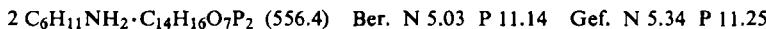
phenyl-pyrophosphats in fast analysenreinen farblosen, derben Kristallen aus. Diese wurden abgesaugt und gut mit Wasser und Aceton gewaschen. Ausb. nach Umkristallisieren aus Wasser 0.38 g (72 % d. Th.). Schmp. 255–258° (korrig.).



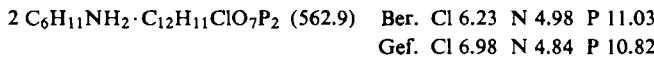
b) *Bis-p-chlorphenyl-pyrophosphat*: Darst. des *Cyclohexylammoniumsalzes* analog a). Ausb. 0.44 g (73.8 % d. Th.), Schmp. 276–279° (korrig.).



c) *Di-p-tolyl-pyrophosphat*: Darst. des *Cyclohexylammoniumsalzes* analog a). Ausb. 0.436 g (78.4 % d. Th.), Schmp. 270–273° (korrig.).



d) *P¹-Phenyl-P²-p-chlorphenyl-pyrophosphat*: Zu dem wie oben dargestellten *Triester* wurden nach 1 Stde. 50 ccm Äther und unter guter Kühlung 0.428 g 2,6-Lutidin gegeben. Nach ca. 10 Min. wurde die Ätherphase vom abgeschiedenen ölichen Lutidinsalz des Triesters dekantiert, dieses mit wenig kaltem Äther gewaschen und 0.832 g *Phosphorsäure-p-chlorphenylester* in 5 ccm Pyridin hinzugefügt. Nach 6 Stdn. bei 40° wurde i. Vak. eingedampft, mit wenig Wasser aufgenommen und die Lösung über Ionenaustauscher Amberlite IR 120 in währ. *Cyclohexylamin* eingetropft. Der ausfallende Niederschlag wurde aus währ. Äthanol unter Zusatz von etwas Pyridin umkristallisiert. Ausb. 0.415 g (36.9 % d. Th.). Schmp. 262° (korrig.).



In analoger Weise wurde aus III ($R = C_6H_5$) und *Orthophosphorsäure* das *Monophenyl-pyrophosphat* dargestellt. Der Ansatz wurde jedoch nicht aufgearbeitet, sondern der entstandene Pyrophosphorsäure-monoester chromatographisch nachgewiesen (s. unten).

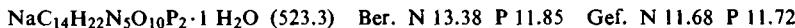
e) *Phosphorsäure-monophenylester-benzoësäure-anhydrid*: 0.348 g *Phosphorsäure-monophenylester* wurden in 10 ccm Äther mit 1.48 g IV 1 Stde. bei 20° gehalten und dann mit 2.44 g *Benzoësäure* in 15 ccm Pyridin versetzt. Nach 14 Stdn. bei 40° wurde das Pyridin i. Vak. abgedampft, der Rückstand mit 20 ccm Wasser aufgenommen und die Lösung mit 20 ccm Äther ausgeschüttelt. Die währ. Phase wurde mit 2 ccm Anilin versetzt und 3 Stdn. gerührt. Das entstandene *Benzanilid* wurde ausgeäthert und aus der Ätherphase isoliert. Ausb. 0.137 g (34.8 % d. Th.), Schmp. 161°.

5. Derivate der Adenosin-5'-phosphorsäure

a) *P¹-[Adenosyl-(5')]-P²-diäthyl-pyrophosphorsaures-Na (VI)*: 0.694 g *Adenosin-5'-phosphorsäure*, welche i. Hochvak. über P₂O₅ bei 50° drei Tage lang getrocknet worden waren, wurden mit 0.74 g *Tri-n-butylamin* und 0.296 g IV in 20 ccm absol. Dimethylformamid solange bei 20° gerührt, bis die Lösung nach 2–3 Tagen vollkommen klar wurde. Die Lösung wurde mit ca. 150 ccm trockenem Aceton (1 mal mit KMnO₄ und 2 mal mit Kaliumcarbonat unter Rückfluß gekocht) aufgenommen und durch Zugabe einer acetonischen Lösung von 0.6 g wasserfreiem NaJ gefällt. Der Niederschlag wurde nun abzentrifugiert und solange mit Aceton nachgewaschen, bis die Farbe rein weiß wurde. Acetonverbrauch gesamt ca. 450 ccm. Ausb. 0.912 g (87 % d. Th.) *Monohydrat von VI*.

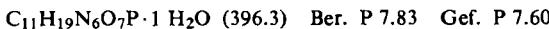
Durch Ausziehen mit 4 × 200 ccm absol. Isopropylalkohol bei 20° und Eindampfen i. Vak. bei 30° konnten die geringen Spuren Adenosin-5'-phosphat und Diadenosyl-pyrophosphat vollständig entfernt werden. Die im Chromatogramm evtl. noch sichtbare geringe

Menge Adenosin-5'-phosphat dürfte erst beim Chromatographieren durch Hydrolyse entstehen.



Die Wasserbestimmung nach KARL FISCHER ergab nach dem Trocknen der Substanz i. Vak. über P_2O_5 3.62% H_2O , also 1 Kristallwasser. Der Stickstoffanalysenwert pflegt bei Substanzen mit hohem P und N-Gehalt stets etwas zu niedrig auszufallen.

b) *Adenosin-5'-phosphorsäure-methylester* (*entspr. VII*): 0.261 g *VI* wurden in 2 ccm absol. Methanol und 1 ccm absol. Pyridin gelöst und 3 Stdn. bei 50° gehalten. Danach zeigte das Chromatogramm bereits vollständige Spaltung. Die Lösung wurde stark eingeengt und auf zwei 16 cm breiten Streifen Whatman 3 MM-Papier 16 Stdn. lang im Isopropylalkohol/ $\text{NH}_3/\text{H}_2\text{O}$ -Gemisch (7:1:2) absteigend chromatographisch getrennt. Nach dem Trocknen wurde das breite Band mit dem R_f -Wert 0.35 ausgeschnitten und mit 300 ccm Methanol in kleinen Portionen eluiert. Die Eluate wurden eingeengt, filtriert und dann mit reichlich Aceton und etwas Äther gefällt, abzentrifugiert und i. Vak. getrocknet. Ausb. 0.157 g (79.2% d. Th.) *Ammoniumsalz des Adenosin-5'-phosphorsäure-methylester-monohydrats*⁴⁻⁶⁾.



c) *Adenosin-5'-phosphorsäure-cyclohexylamid* (*entspr. VIII*): 0.261 g *VI* wurden in 2 ccm absol. Dimethylformamid gelöst und dazu 0.396 g *Cyclohexylamin* gegeben. Die Lösung wurde 12 Stdn. bei 20° stehengelassen. Danach wurden die Lösungsmittel i. Hochvak. bei 35° soweit als möglich abgezogen und der Rückstand mit wenigen Tropfen Methanol aufgenommen. Die methanol. Lösung wurde auf zwei 17 cm breiten Papierstreifen Schleicher & Schüll-Papier 2316 absteigend mit dem Isopropylalkohol/ $\text{NH}_3/\text{H}_2\text{O}$ -Gemisch (7:1:2) 15 Stdn. lang chromatographiert, dann getrocknet und die breiten Zonen mit dem R_f -Wert 0.52 ausgeschnitten, mit ca. 300 ccm Methanol in kleinen Portionen mehrmals gut eluiert und dann zur Trockene gebracht. Der weiße, kristalline Rückstand wurde mit wenig Methanol aufgenommen, filtriert und mit reichlich Aceton und etwas Äther gefällt, abzentrifugiert und i. Vak. getrocknet. Ausb. 0.206 g (79.8% d. Th.). *Ammoniumsalz des Adenosin-5'-phosphorsäure-cyclohexylamid-tetrahydrats*.

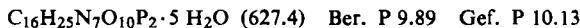


Die Wasserbestimmung nach KARL-FISCHER ergab in Übereinstimmung mit den Analysenergebnissen 13% Wasser, also liegt ein Tetrahydrat vor. Trocknen über P_2O_5 i. Vak. ergab nach 10 Tagen keine Gewichtsänderung.

d) *P¹-Adenosyl-(5')-P²-phenyl-pyrophosphat* (*entspr. IX*): 0.261 g *VI* wurden zusammen mit 0.87 g *Phosphorsäure-monophenylester* in 2 ccm Dimethylformamid und 2 ccm Pyridin gelöst und 48 Stdn. bei 20° stehengelassen. Das Chromatogramm zeigte danach bereits völlige Spaltung.

Das Lösungsmittel wurde i. Hochvak. bei 35° abgezogen, der Rückstand mit wenig Wasser aufgenommen und mit 2 ccm *Cyclohexylamin* versetzt. Danach wurde mit 200 ccm Methanol und etwas Aceton versetzt und der ausgefallene Niederschlag von Bis-cyclohexylammoniumsalz des Phosphorsäure-monophenylesters abgesaugt und mit währ. Methanol/Aceton gut gewaschen. Die Waschfiltrate wurden mit dem Hauptfiltrat vereinigt und i. Vak. zur Trockene gebracht. Nach Aufnahme des Rückstandes mit wenig Methanol wurde die Lösung auf zwei 16 cm breiten Streifen Whatman 3 MM-Papier aufgetragen und im Isopropylalkohol/ $\text{NH}_3/\text{H}_2\text{O}$ Gemisch (7:1:2) absteigend chromatographisch getrennt. Das breite Band mit dem R_f -Wert 0.29 wurde ausgeschnitten und mit 5 × 50 ccm Methanol eluiert. Nach Einengen der methanol. Lösung wurde filtriert und dann mit Aceton/Äther gefällt, abzentrifugiert und getrocknet.

Durch Auflösen des obigen Salzes des Phosphorsäure-monophenylesters konnte durch nochmaligen Aufarbeitungsgang noch etwas Adenosyl-phenyl-pyrophosphat gewonnen werden. Beim Rechromatographieren der reinen Substanz wurde der R_f -Wert 0.36 analog KHORANA⁶⁾ gefunden. Ausb. 0.242 g (77.3% d. Th.) *Diammoniumsalz des asymm. P¹-Adenosyl-(5')-P²-phenyl-pyrophosphat-pentahydrats*⁶⁾.



e) *Adenosin-5'-phosphorsäure-benzoësäure-anhydrid (entspr. X)*: 0.262 g VI wurden in 2 ccm absol. Pyridin gelöst und dazu eine Lösung von 0.61 g Benzoësäure, 0.505 g Triäthylamin und 1 ccm Pyridin gegeben. Die etwas trübe Lösung wurde 12 Stdn. bei 40° gehalten und darauf 2 Stdn. mit 2 ccm Anilin reagieren gelassen. Nach Abziehen der Lösungsmittel und des Anilins i. Vak. wurde der Rückstand mit wenig Methanol aufgenommen und dann langsam mit Wasser bis zur Trübung versetzt. Nach Zugabe von 10 ccm gesätt. NaHCO₃-Lösung fiel das entstandene *Benzanilid* kristallin aus. Ausb. 0.034 g (34.5% d. Th.), Schmp. 159–161°.

Substanz	Gemisch A	R_f -Wert im Gemisch B	Gemisch C
Monophenylphosphat	0.08		
Mono- <i>p</i> -chlorphenylphosphat	0.14		
Mono- <i>p</i> -tolylphosphat	0.09		
Diäthylphosphat	0.58		
Phosphorsäure-phenylester-benzylester	0.73		
Phosphorsäure- <i>n</i> -butylester-phenylester	0.73		
Phosphorsäure-phenylester- <i>p</i> -nitro-benzylester	0.69		
Phosphorsäure-monophenylester-cyclohexylamid	0.72		
Phosphorsäure-monophenylester-benzylamid	0.65		
Phosphorsäure-monophenylester-anilid	0.64		
Phosphorsäure-monophenylester-nitranilid	0.67		
Phosphorsäure-monophenylester-amid	0.38		
<i>symm.</i> P ¹ , P ² -Diphenyl-pyrophosphat-biscyclohexylammoniumsalz	0.42		
<i>symm.</i> P ¹ , P ² -Bis- <i>p</i> -chlorphenyl-pyrophosphat-biscyclohexylammoniumsalz	0.51		
<i>symm.</i> P ¹ , P ² -Di- <i>p</i> -tolyl-pyrophosphat-biscyclohexylammoniumsalz	0.45		
<i>asym.</i> P ¹ -Phenyl-P ² - <i>p</i> -chlorphenyl-pyrophosphat-biscyclohexylammoniumsalz	0.45		
Monophenylpyrophosphat	0.02		
Phosphorsäure-[α -äthoxy- β -carbäthoxy-vinylester]-diäthylester	0.60 u. 0.89		
Adenosin	0.35		
Isopropylidenadenosin	0.69		
Isopropylidenadenosin-(5')-phosphorsäure-phenylester	0.55		
AMP-5'	0.10	0.34	
AMP-3'	0.14	0.43	
Diadenosylpyrophosphat	0.11	0.25	
P ¹ -[Adenosyl-(5')]-P ² -diäthyl-pyrophosphat	0.22–0.56	0.62	
AMP-5'-amid	0.22	0.32	
AMP-5'-cyclohexylamid	0.54	0.68	
AMP-5'-methylester	0.35	0.45	
P ¹ -[Adenosyl-(5')]-P ² -phenyl-pyrophosphat	0.37	0.46	

6. Zusammenstellung der R_f -Werte

Gemisch A: Isopropylalkohol/konz. Ammoniak/Wasser (8:1:1), absteigend (Schleicher & Schüll 2043 b mgl.).

Gemisch B: Isopropylalkohol/ $\text{NH}_3/\text{H}_2\text{O}$ (7:1:2) (Schleicher & Schüll 2043 b mgl.).

Gemisch C: Isopropylalkohol/1-proz. Ammoniumsulfat (2:1) (Binzer-Ederol 202 getränkt mit Ammoniumsulfat).

GERHARD GEISELER und FRITZ STACHE

Über das Assoziationsverhalten aliphatischer Mercaptoketone

Aus dem Physikalisch-Chemischen Institut der Universität Leipzig
und der Organischen Abteilung der Leuna-Werke

(Eingegangen am 25. Juli 1960)

Es wurde das Assoziationsverhalten verschieden konstituierter α - und β -Mercaptoketone in Tetrachlorkohlenstoff als Lösungsmittel untersucht. Aus der Konzentrationsabhängigkeit der Integralabsorptionen der SH-Valenzbande bei 2560/ cm konnten nach der Methode von SPURR und BYERS die Gleichgewichtskonstanten der Dimerenbildung ermittelt werden. Aus den Ergebnissen folgt, daß die primären Mercaptoketone am stärksten, die sekundären schwächer und die tertiären am schwächsten assoziiert sind, ferner, daß die Assoziationsneigung innerhalb homologer Reihen mit zunehmender Kettenlänge abnimmt. Der Unterschied im Assoziationsverhalten zwischen α - und β -Mercaptoketonen ist gering. Im Hinblick auf die Fähigkeit einiger Mercaptoketone, in cyclische Dithiane überzugehen, kann angenommen werden, daß den Zweierassoziaten eine Ringstruktur zugrunde liegt.

Wie F. ASINGER und Mitarb.¹⁾ gezeigt haben, lassen sich Δ^3 -Thiazoline sehr leicht durch gemeinsame Einwirkung von elementarem Schwefel und Ammoniak auf Ketone darstellen. Diese Reaktion verläuft vermutlich über α -Mercaptoketone als Zwischenstufe, da letztere auch bei der Hydrolyse der Δ^3 -Thiazoline entstehen. Nach Untersuchungen von O. HROMATKA²⁾ und T. BACCHETTI³⁾ vermögen Mercaptoacetaldehyd und Mercaptoaceton unter Bildung von Dihydroxy-dithianen zu dimerisieren. Eine Reihe von Mercaptoketonen zeigt kryoskopisch in unpolaren Lösungsmitteln Molekulargewichte, die höher liegen als die theoretisch zu erwartenden (Tab. 1)⁴⁾. Zur Klärung der Frage, ob diese Molekulargewichte auf echte Gleichgewichte zwischen den α -Mercaptoketonen und ihren Dihydroxy-dithianen oder nur auf Assoziation über Wasserstoffbrücken zurückzuführen sind, haben wir mehrere α -Mercaptoketone unterschiedlicher Konstitution infrarotspektroskopisch untersucht.

¹⁾ F. ASINGER und M. THIEL, Angew. Chem. **70**, 667 [1958].

²⁾ O. HROMATKA und R. HABERL, Mh. Chem. **85**, 1088 [1954]; **86**, 551 [1955].

³⁾ T. BACCHETTI und U. FERRATI, Gazz. chim. ital. **86**, 722 [1956].

⁴⁾ F. ASINGER und Mitarb., unveröffentlichte Ergebnisse.