

This article was downloaded by:

On: 30 January 2011

Access details: Access Details: Free Access

Publisher Taylor & Francis

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements

Publication details, including instructions for authors and subscription information:

<http://www.informaworld.com/smpp/title~content=t713618290>

PHOSPHORORGANISCHE VERBINDUNGEN 115 WEGE ZUM ANALYTISCHEN NACHWEIS VON VERBINDUNGEN MIT DER P(O)F- UND P(O)SR-GRUPPE

Leopold Horner^a; Werner Hallenbach^a

^a Institut für Organische Chemie der Universität Mainz, Mainz

To cite this Article Horner, Leopold and Hallenbach, Werner(1984) 'PHOSPHORORGANISCHE VERBINDUNGEN 115 WEGE ZUM ANALYTISCHEN NACHWEIS VON VERBINDUNGEN MIT DER P(O)F- UND P(O)SR-GRUPPE', Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, 20: 3, 301 — 311

To link to this Article: DOI: 10.1080/03086648408077639

URL: <http://dx.doi.org/10.1080/03086648408077639>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Full terms and conditions of use: <http://www.informaworld.com/terms-and-conditions-of-access.pdf>

This article may be used for research, teaching and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, re-distribution, re-selling, loan or sub-licensing, systematic supply or distribution in any form to anyone is expressly forbidden.

The publisher does not give any warranty express or implied or make any representation that the contents will be complete or accurate or up to date. The accuracy of any instructions, formulae and drug doses should be independently verified with primary sources. The publisher shall not be liable for any loss, actions, claims, proceedings, demand or costs or damages whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with or arising out of the use of this material.

PHOSPHORORGANISCHE VERBINDUNGEN 115¹ WEGE ZUM ANALYTISCHEN NACHWEIS VON VERBINDUNGEN MIT DER P(O)F- UND P(O)SR-GRUPPE

LEOPOLD HORNER* und WERNER HALLENBACH²

*Institut für Organische Chemie der Universität Mainz,
Johann-Joachim-Becherweg 18-20, D-6500 Mainz*

(Received March 30, 1984)

Acridine-9-hydroxamicacid **5** is suitable for the analytical detection of the model phosphorylfluorides **7** by fluorescence. The model compounds are rearranged according to Lossen and degraded to the fluorescent 9-aminoacridine **6** using defined reaction conditions. Thiophospho-S-esters (with diethylthiophosphinicacid-S-butylester **8** as a model compound) are cleaved to the corresponding phosphorylfluorides (a) and mercaptanes (b) by fluorolysis. (a) is identified qualitatively with acridine-9-hydroxamicacid **5**, (b) by the Ellman-reaction.

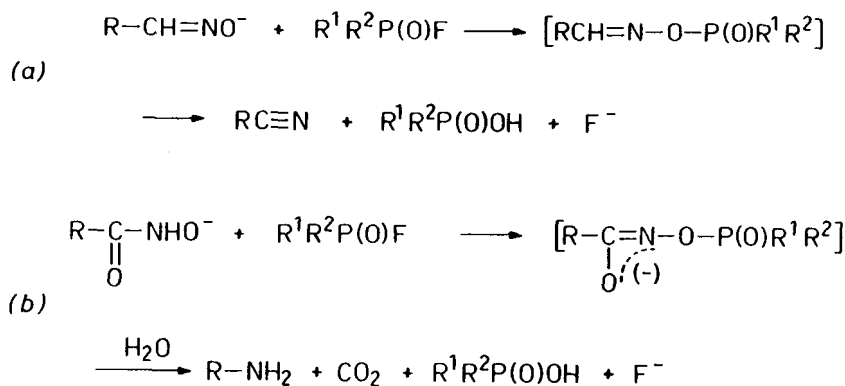
Zum Fluoreszenznachweis der Modellphosphorylfluoride **7** ist Acridin-9-hydroxamsäure **5** geeignet. Die Modellverbindungen **7** werden unter Einhaltung definierter Bedingungen nach Lossen umgelagert und zum fluoreszierenden 9-Aminoacridin **6** abgebaut. Thiophospho-S-ester (Modell: Diethylthiophosphinsäure-S-butylester **8**) werden durch Fluorolyse in die entsprechenden Phosphorylfluoride (a) und Mercaptane (b) überführt. (a) wird mit Acridin-9-hydroxamsäure **5** und (b) nach Ellman qualitativ nachgewiesen.

Die P(O)F-Gruppe ist OH-selektiv.³ Phosphorylfluoride können chemoselektiv mit der Seringruppe in den aktiven Zentren von Esterasen, z.B. dem α -Chymotrypsin und der Acetylcholinesterase, covalent verknüpft werden.^{4,5} Drei Probleme stellen sich in diesem Zusammenhang:

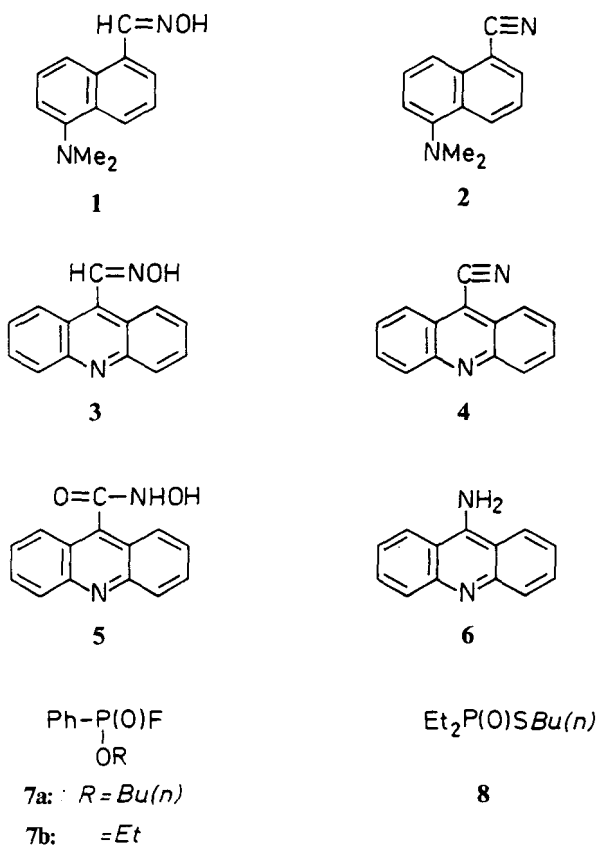
- (a) Wie kann man inhibierte Esterasen wieder reaktivieren?
- (b) Wie kann man Verbindungen mit der Phosphorylfluoridgruppe spezifisch und in geringsten Konzentrationen analytisch erkennen und gegebenenfalls quantitativ bestimmen?
- (c) Wie können Phosphorylfluoride schnell, einfach und quantitativ abgebaut werden?

Zum Thema (a) liegt eine umfangreiche Literatur vor,⁶ die meist auf den grundlegenden Untersuchungen von Nachmansohn und Mitarbeitern aufbaut.⁷ Über den Stand der Thematik (b) orientiert in einer Monographie P. Franz.⁸ Zum Thema (c) haben wir vor einiger Zeit unter Ausnutzung der OH-Selektivität der P(O)F-Gruppe und Verwendung der Phasen-Transfer-Katalyse neue Möglichkeiten erschlossen.⁹ Die vorliegende Publikation befaßt sich mit dem Spurennachweis von Phosphorylfluoriden mit Hilfe der Fluoreszenz, die im allgemeinen eine hohe Nach-

*Einem der Pioniere und Brückenbauer der theoretischen Chemie, Herrn Professor Hermann Hartmann, Frankfurt/M., in Freundschaft zum 70. Geburtstag gewidmet.



SCHEMA 1



SCHEMA 2

weisempfindlichkeit garantiert. Die Selektivität für den gezielten Nachweis der $P(O)F$ -Gruppe, der biochemisch z.B. durch Verwendung geeigneter Esterasen gegeben ist, gründet sich im vorliegenden Fall auf die relativ hohe Hydrolysebeständigkeit und die Chemo-selektivität der $P(O)F$ -Gruppe für die OH -Funktion.³

Anforderungen an die Reagentien zum gezielten Nachweis der $P(O)F$ -Gruppe

Die zum Nachweis eingesetzten Reagentien fluoreszieren meist nicht, sollen aber durch Reaktion mit den Phosphorylfluoriden in fluoreszierende Reaktionsprodukte überführt werden. Folgende Reaktionstypen bieten sich an:

Ungeeignet ist das Oxim des 5-Dimethylamino-1-naphthaldehyds **1**, welches vergleichbar stark fluoresziert wie das 5-Dimethylaminonaphthalin-1-carbonitril **2**,

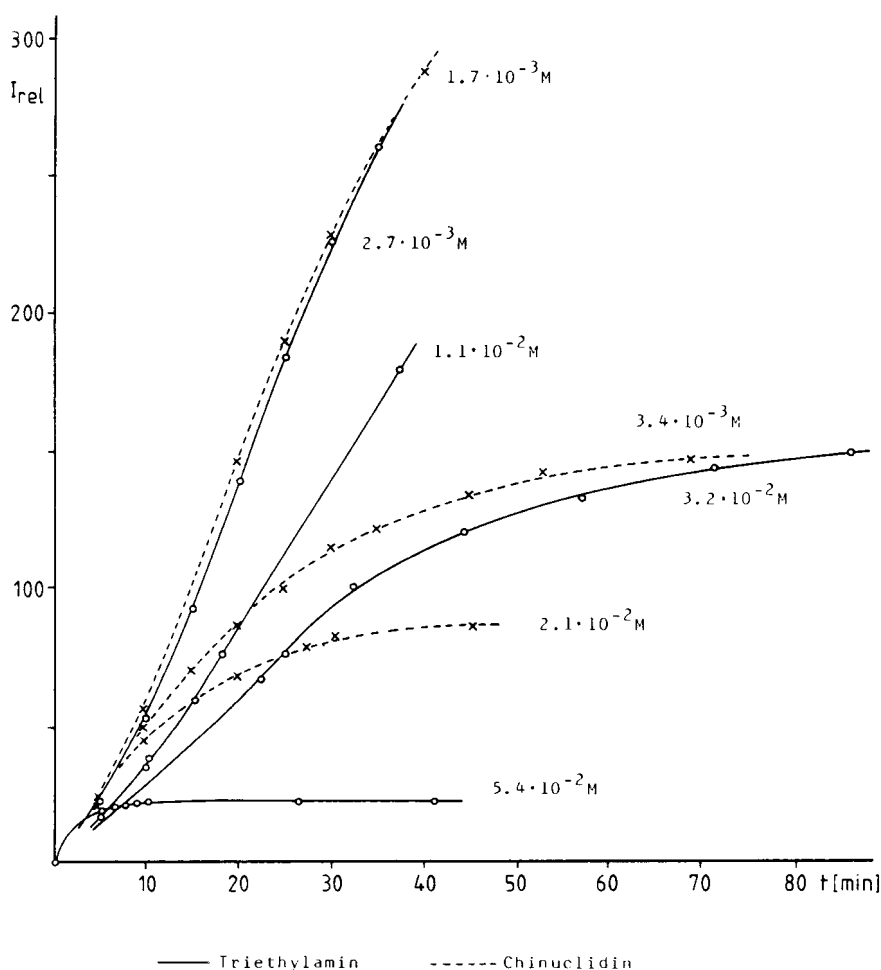


ABBILDUNG 1 Zeitlicher Verlauf der Zunahme der Fluoreszenz bei der Umsetzung von Acridin-9-hydroxamsäure **5** ($2 \cdot 10^{-4} M$) mit Phenylphosphonsäurebutylesterfluorid **7a** ($1.5 \cdot 10^{-3} M$) in 80%igem wässrigem Acetonitril unter Zusatz von Triethylamin bzw. Chinuclidin.

das aus **1** nach (a) entsteht. Auch das Acridin-9-carbaldehydoxim **3** und dessen Nitril **4** scheiden aus, da beide nicht fluoreszieren. Als relativ gut geeignet erweist sich die Acridin-9-hydroxamsäure **5**, die als Salz in wäßriger Lösung keine Fluoreszenz zeigt, nach Reaktion (b) aber zum als Salz stark fluoreszierenden 9-Aminoacridin **6** abgebaut wird.

*Kinetik der Umsetzung von Acridin-9-hydroxamsäure **5** mit Phenylphosphonsäurebutylesterfluorid **7a** zu 9-Amino-acridin **6** nach (b)*

Neben der Chemospezifität ist die Kinetik der Umsetzung von **5** zu **6** nach (b) für die praktische Anwendung von entscheidender Bedeutung. Hierüber orientiert Abbildung 1.

Aus Abbildung 1 geht hervor: Mit steigender Aminkonzentration steigt wohl die Reaktionsgeschwindigkeit an, nicht jedoch die Fluoreszenzausbeute. Chinuclidin ist in Übereinstimmung mit früheren Ergebnissen¹⁰ dem Triethylamin an Wirksamkeit überlegen. Das Zwischenprodukt wird offenbar mit Chinuclidin schneller aufgebaut als mit Triethylamin. Konkurrierende Reaktionspartner für die Phosphorylgruppe sind einerseits das Anion der Hydroxamsäure **5**, welches rasch nach Lossen zum Amin **6** abgebaut wird, andererseits aber auch Wasser, das zur Hydrolyse des Phosphorylfluorids führt. Es muß weiterhin berücksichtigt werden, daß die Salze von **6** stark, die zu Grunde liegende Base aber nur schwach fluoreszieren. Hinzu kommt, daß die Fluoreszenz von **6** durch überschüssiges Amin gelöscht wird. Diese Abhängigkeit demonstriert Abbildung 2:

In anorganischen Pufferlösungen muß streng auf den pH geachtet werden. Ab pH 8.5 verschiebt sich das Gleichgewicht des stark fluoreszierenden 9-Aminoacridin-

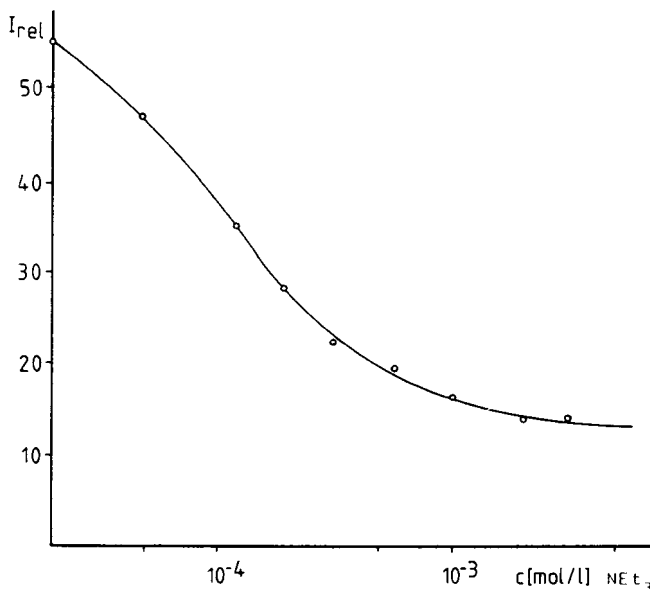


ABBILDUNG 2 Abhängigkeit der Fluoreszenz von 9-Aminoacridin **6** ($c = 2 \cdot 10^{-4} M$) von der Konzentration an Triethylamin in 80%igem wässrigem Acetonitril.

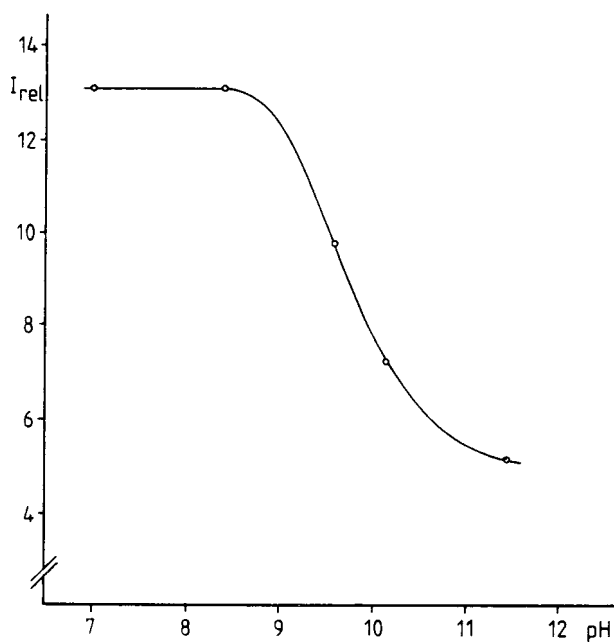


ABBILDUNG 3 Abhängigkeit der Fluoreszenz von 9-Aminoacridin **6** ($c = 1.9 \cdot 10^{-5} M$) vom pH in 0.1 M Carbonatpuffern. Anregung 400 nm, Emission 460 nm, Spalte 2 nm.

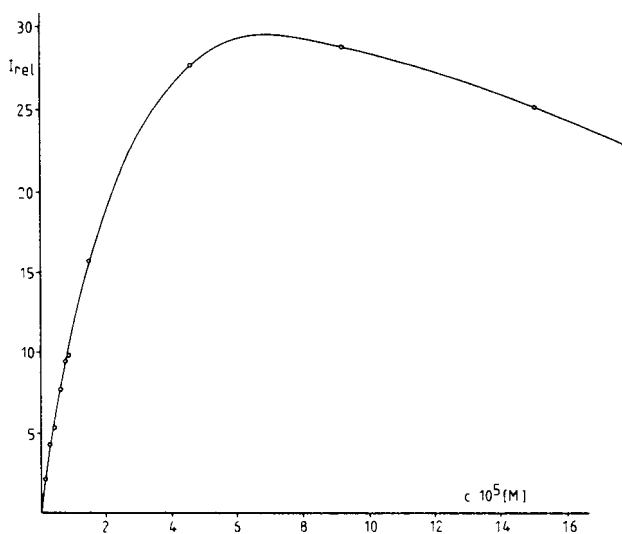


ABBILDUNG 4 Konzentrationsabhängigkeit der Fluoreszenz von 9-Aminoacridin **6** in 0.1 M $NaHCO_3$. Anregung 400 nm, Emission 456 nm, Spalte 2 nm.

hydrochlorids ($pK_a = 9.45$) mit steigendem pH-Wert zugunsten der nur schwach fluoreszierenden Base (Abbildung 3).

Ein weiterer Nachteil für den analytischen Nachweis ist die geringe Wasserlöslichkeit der Hydroxamsäure **5** sowie die Eigenlöschung der Acridine, die mit steigender Konzentration ab $1 \cdot 10^{-4} M$ beobachtet wird (Abbildung 4).

Als Kompromiß zwischen diesen sich widersprechenden Forderungen wurde eine Konzentration von $1.8 \cdot 10^{-4} M$ an Acridin-9-hydroxamsäure **5** in $0.1 M$ NaHCO_3 -Puffer gewählt und der zeitliche Verlauf des Auftretens der Fluoreszenz bei der Umsetzung mit Phenylphosphonsäureethylesterfluorid **7b** und DFP verfolgt (Abbildung 5).

Abbildung 5 zeigt, daß unter den gewählten Versuchsbedingungen bereits innerhalb einer Minute $1.8 \cdot 10^{-5} M$ (3.4 ppm) an **7b** nachgewiesen werden können. DFP reagiert im Vergleich hierzu relativ langsam.

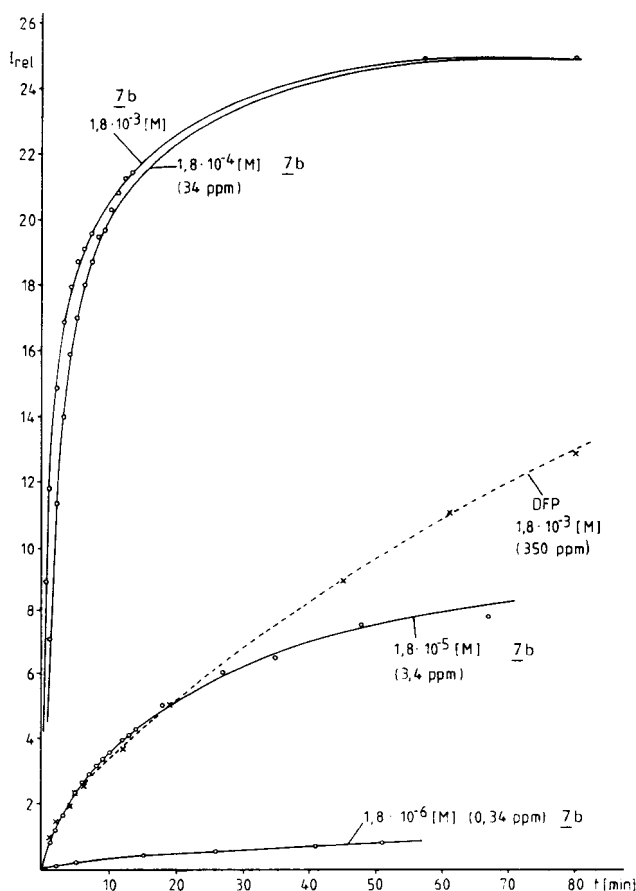
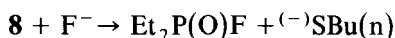


ABBILDUNG 5 Umsetzung von Acridin-9-hydroxamsäure **5** ($c = 1.8 \cdot 10^{-4} M$) mit Phenylphosphonsäureethylesterfluorid **7b** bzw. Diisopropylfluorophosphat in $0.1 M$ NaHCO_3 bei 20°C . Anregung 400 nm, Emission 456 nm, Spalte 2 nm.

*Spaltung von Diethylthiophosphinsäure-S-butylester **8** und Nachweis des intermediär entstehenden Diethylphosphinsäurefluorids mit Acridin-9-hydroxamsäure **5***

Die Fluorolyse von Thiophosphinsäure-S-estern ist bekannt.^{11,12} Es sollte deshalb geprüft werden, ob Thiophosphinsäure-S-alkylester über die intermediär gebildeten Phosphinsäurefluoride fluorometrisch nachgewiesen werden können.



Da jedoch das aus Acridin-9-hydroxamsäure **5** durch Lossen-Umlagerung gebildete Isocyanat nur in Wasser zu 9-Aminoacridin **6** zerfällt, muß Wasser als Reaktionspartner zur Verfügung stehen. Die Fluorolyse von **8** mit Kaliumfluorid unter Mitwirkung von 18-Krone-6 gelingt leicht in Dioxan, erkenntlich an dem Geruch von Butylmercaptan. Setzt man dem gleichen Versuch Wasser zu, so bilden sich zwei Phasen, und Butylmercaptan wird nur verzögert gebildet, wie Abbildung 6 zeigt.

Aus den Steigungen der Geraden errechnen sich für die Reaktionen pseudoerster Ordnung folgende Geschwindigkeitskonstanten: Ohne Zusatz von Wasser: $k = 0.285 \text{ min}^{-1}$; mit Wasser $k = 0.011 \text{ min}^{-1}$.

Durch Nachweis mit Ellman's Reagenz kann gezeigt werden, daß die Fluorolyse auch ohne die Mitwirkung von 18-Krone-6 dann abläuft, wenn der Thioester **8** homogen in Wasser gelöst ist (Abbildung 7). Der Beschleunigungsfaktor im Vergleich zur Eigenhydrolyse, d.h. ohne Zusatz von NaF, ist bei Konzentrationen von NaF $> 0.5 \text{ M}$ größer als 100.

Das bei der Fluorolyse intermediär gebildete Diethylphosphinsäurefluorid kann mit Acridin-9-hydroxamsäure **5** fluorometrisch nachgewiesen werden (Abbildung 8).

Nach dem Zusammengeben der Komponenten steigt nach einer Induktionsperiode von einigen Minuten die Fluoreszenz an. Dieser Test, der das Ergebnis einer Dreistufenreaktion ist, spricht nur relativ langsam an. Demgegenüber hat das in der

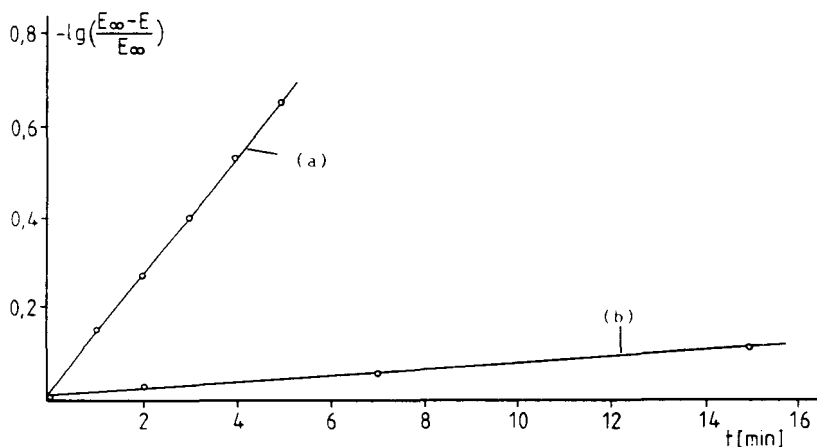


ABBILDUNG 6 Umsetzung von Diethylthiophosphinsäure-S-butylester **8** mit Kaliumfluorid (a) ohne, (b) mit Wasser. (a) 500 mg KF, 42 mg 18-Krone-6 in 3 ml Dioxan, $1.8 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ an Diethylthiophosphinsäure-S-butylester **8**. (b) 500 mg KF, 0.6 ml Wasser ($3.86 \text{ mol H}_2\text{O/mol KF}$), 2.4 ml Dioxan, 50 mg 18-Krone-6, $1.8 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ Diethylthiophosphinsäure-S-butylester.

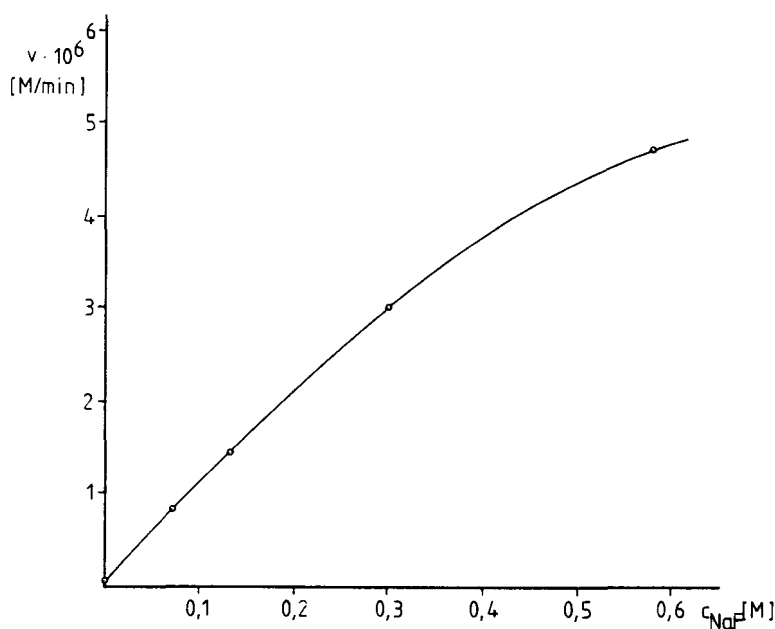


ABBILDUNG 7 Umsetzung von Diethylthiophosphinsäure-*S*-butylester **8** ($c = 1.8 \cdot 10^{-3} M$) mit NaF in 0.1 *M* NaHCO₃, Abhängigkeit der Anfangsgeschwindigkeit von der Konzentration an Natriumfluorid bei 20°C. Gemessen durch Nachweis des gebildeten Butylmercaptans mit Ellman's Reagenz.

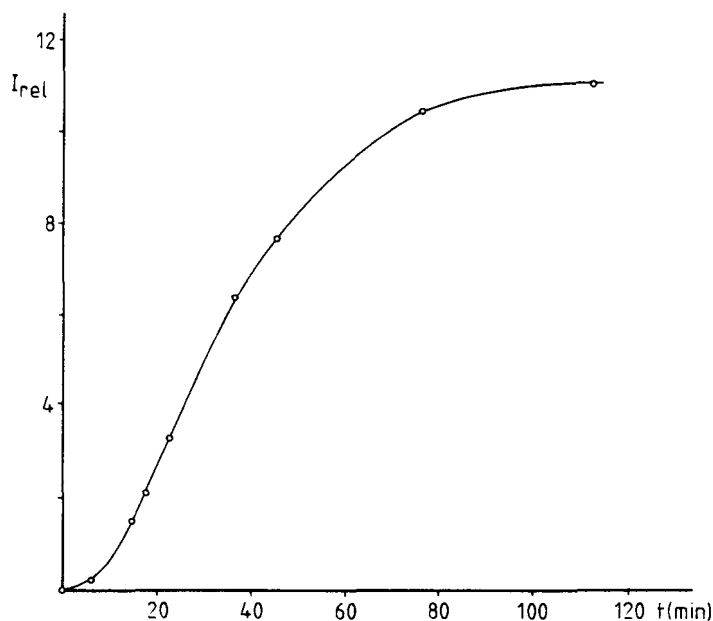
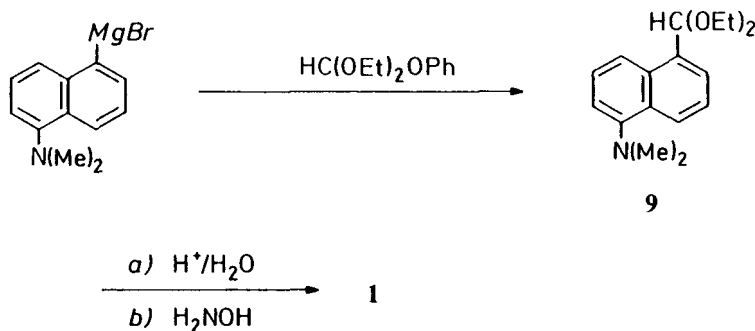


ABBILDUNG 8 Umsetzung von Diethylthiophosphinsäure-*S*-butylester **8** ($c = 1.8 \cdot 10^{-4} M$), NaF ($c = 0.95 M$) und Acridin-9-hydroxamsäure **5** ($c = 1.8 \cdot 10^{-4} M$) bei 20°C in 0.1 *M* NaHCO₃. Anregung 400 nm, Emission 456 nm, Spalte 2 nm.

ersten Stufe der Reaktion gebildete Butylmercaptan den Vorteil, daß es nach Ellman schneller, wenn auch nicht so empfindlich nachgewiesen werden kann.

Synthese bzw. Literaturhinweise für die Herstellung der Verbindungen 1 bis 8

Das Oxim **1** erhält man über das Diethylacetal des 5-Dimethylamino-1-naphthaldehyds **9** auf folgendem Wege (Schema 3):



SCHEMA 3

2,¹³ **3**,¹⁴ **4**,¹⁵ **6**,¹⁶ **7a**,¹⁷ und **8**¹⁸ wurden nach Literaturangaben hergestellt. Acridin-9-hydroxamsäure **5** ist über das Acridin-9-carbonylchlorid durch Umsetzung mit Hydroxylamin zugänglich.

Der Fraunhofer Gesellschaft danken wir für die Förderung unserer Untersuchungen.

EXPERIMENTELLER TEIL

Es wurden folgende Geräte verwendet: Infrarotspektren: Beckman Acculab 4, UV-Spektren: Beckman DB-GT, Fluoreszenzmessungen: Hitachi-Perking-Elmer MPF-2A, ¹H-NMR-Spektren: JEOL 60 MHz Kernresonanzspektrometer mit TMS ($\delta = 0$ ppm) als innerem Standard.

5-Dimethylamino-1-naphthaldehyd-diethylacetal 9. Zu einer aus 20 g (80 mmol) 1-Brom-5-dimethylaminonaphthalin⁹ und 2 g (82 mmol) Magnesiumspänen bereiteten Lösung von 5-Dimethylamino-1-naphthyl-magnesiumbromid in Ether/THF (2/1 (v/v)), tropft man 16 g (82 mmol) Diethylphenyl-orthoformiat,²⁰ gelöst in 20 ml Ether. Man erhitzt noch 30 min nach und läßt über Nacht stehen. Man behandelt mit 200 ml ges. NH_4Cl -Lösung und destilliert den Rückstand im Kugelrohr. Ausbeute: 18.5 g (85% d.Th.), Sdp._{0.01}: 150°C (Kugelrohr) ¹H-NMR (CDCl_3): 6.9–8.5 (m, 6 H, H_{arom}), 6.1 (s, 1 H, C—H), 3.6 (q, $J = 7$ Hz, 4 H, — CH_2 —), 2.8 (s, 6 H, N— CH_3), 1.2 (t, $J = 7$ Hz, 6 H, — CH_3). IR (Film) (cm^{-1}): 2970, 1580, 1130, 1050, 790. $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_2$ (273.4): Ber.: C, 74.69; H, 8.48; N, 5.15. Gef.: C, 74.49; H, 8.39; N, 5.00.

5-Dimethylamino-1-naphthaldehyd. 13 g (48 mmol) Diethylacetal **9** werden in 100 ml 0.7 M HCl gelöst und nach 1 h mit NaHCO_3 neutralisiert. Der Aldehyd, ein gelber Niederschlag vom Schmelzpunkt 44–52°C, wird ohne weitere Reinigung in der nächsten Stufe verwendet. Ausbeute: 9.2 g (97% d.Th.), Schmp.: 52–53°C (EtOH/ H_2O). ¹H-NMR (CDCl_3): 10.6 (s, 1 H, C—H), 7.2–8.4 (m, 6 H, H_{arom}), 2.9 (s, 6 H, N— CH_3). IR (KBr) (cm^{-1}): 1670, 1570, 1310, 1215, 1170, 1130, 990, 800. $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NO}$ (199.3): Ber.: C, 78.36; H, 6.58; N, 7.03. Gef.: C, 78.55; H, 6.68; N, 7.04.

5-Dimethylamino-1-naphthaldehyd-oxim 1. Zu einer Lösung von 4 g (57 mmol) Hydroxylaminhydrochlorid und 2.5 g (62.5 mmol) NaOH in 60 ml Ethanol/Wasser (1/1 (v/v)) gibt man 4 g (20 mmol) 5-Dimethylamino-1-naphthaldehyd und erhitzt 30 min unter Rückfluß. Nach dem Abkühlen fällt man das Oxim durch Zugabe von Wasser. Ausbeute: 3.45 g (80% d.Th.), Schmp.: 139–140°C (EtOH/ H_2O).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6): 9.3 (s, 1 H, C—H), 7.2–8.8 (m, 6 H, H_{arom}), 2.8 (s, 6 H, N— CH_3). IR (KBr) (cm^{-1}): 3250 (breit), 1580, 1400, 1300, 1220, 1125, 955, 780, 730. $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}$ (214.3): Ber.: C, 72.87; H, 6.59; N, 13.07. Gef.: C, 73.17; H, 7.18; N, 13.06.

Acridin-9-hydroxamsäure 5. Zu einer Lösung von 7 g (0.1 mol) Hydroxylaminhydrochlorid und 17.5 g (0.21 mol) NaHCO_3 in 30 ml Wasser tropft man die Lösung von 5.4 g (22 mmol) Acridin-9-carbonsäurechlorid^{21–23} in 50 ml Chloroform unter starkem Rühren zu. Der entstandene Niederschlag wird abgesaugt, in verdünnter NaOH gelöst, abfiltriert und mit verdünnter HCl gefällt. Ausbeute: 4.2 g (80% d.Th.), Schmp.: verpufft zwischen 160–170°C. IR (KBr) (cm^{-1}): 3400 N—H, 3500–2500 —OH, 1640, 1060, 750. Ein $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum konnte wegen der geringen Löslichkeit in allen üblichen Lösungsmitteln nicht angefertigt werden. Die Verbindung verpufft beim Erwärmen und liefert deshalb keine stimmende Elementaranalyse.

Umsetzung von Phenylphosphonsäurebutylesterfluorid 7a mit Acridin-9-hydroxamsäure 5 in Gegenwart von Aminen (vergl. Abbildung 1). Von einer Stammlösung von 1 mg Acridin-9-hydroxamsäure 5 in 25 ml 80%igem wäßrigem Acetonitril ($c = 1.8 \cdot 10^{-4} \text{ M}$) entnimmt man jeweils 3 ml, fügt den angegebenen Konzentrationen entsprechende Mengen an Triethylamin bzw. Chinuclidin zu und verfolgt nach Zusatz von 1 mg Phenylphosphonsäurebutylesterfluorid 7a ($1.5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$) die Zunahme der Fluoreszenz im Spektrometer. Anregung 400 nm, Emission 454 nm, Spalte 6 nm.

Abhängigkeit der Fluoreszenz von 9-Aminoacridin 6 von der Konzentration an Triethylamin (Abbildung 2). Zu einer $2 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ Lösung von 6 · HCl in 80%igem wäßrigem Acetonitril gibt man die den angegebenen Konzentrationen entsprechenden Mengen an Triethylamin zu und mißt die resultierende Fluoreszenzintensität. Anregung 400 nm, Emission 456 nm, Spalte 2 nm.

Abhängigkeit der Fluoreszenz von 9-Aminoacridin 6 vom pH in 0.1 M Carbonatpuffern (Abbildung 3). Von einer Lösung mit 44 mg 6 · HCl in 100 ml Wasser ($c = 1.9 \cdot 10^{-3} \text{ M}$) entnimmt man jeweils 1 ml und füllt mit 0.1 M Carbonatpuffer des jeweils angegebenen pH-Wertes auf 100 ml auf und mißt die Fluoreszenz. Anregung 400 nm, Emission 456 nm, Spalte 2 nm.

Konzentrationsabhängigkeit der Fluoreszenz von 9-Aminoacridinhydrochlorid 6 · HCl (Abbildung 4). Von der Stammlösung von 0.88 mg 6 · HCl in 25 ml 0.1 M NaHCO_3 -Puffer werden durch Verdünnung die in Abbildung 4 angegebenen Konzentrationen hergestellt und vermessen. Anregung 400 nm, Emission 456 nm, Spalte 3 nm.

Spaltung von Diethylthiophosphinsäure-S-butylester 8 mit Kaliumfluorid und 18-Krone-6 (Abbildung 6). Aus einer gut gerührten Mischung von 500 mg KF und 42 mg 18-Krone-6 und 1 mg 8 in 3 ml Dioxan ($c = 1.8 \cdot 10^{-3} \text{ M}$) werden in Zeitabständen von einer Minute Proben von jeweils 100 μl entnommen und das entstandene Butylmercaptan durch Zugabe zu einer Lösung von 0.1 M NaHCO_3 /0.25 mM 2,2'-Dinitro-5,5'-dithiodibenzoesäure (Ellman's Reagenz) und anschließender Photometrie bei 405 nm bestimmt. Der gleiche Ansatz wird in einem zweiphasigen Gemisch von 0.6 ml Wasser und 2.4 ml Dioxan wiederholt. Ohne Zusatz von 18-Krone-6 findet keine Reaktion statt.

Spaltung von Diethylthiophosphinsäure-S-butylester 8 mit Natriumfluorid in 0.1 M NaHCO_3 (Abbildung 7). Zu 3 ml einer Lösung der jeweils angegebenen Konzentration an NaF in 0.1 M NaHCO_3 /0.31 mM 2,2'-Dinitro-5,5'-dithiodibenzoesäure gibt man 1 mg 8 ($c = 1.8 \text{ mM}$) und verfolgt die Zunahme der Extinktion bei 405 nm.

Umsetzung von Diethylthiophosphinsäure-S-butylester 8 mit Natriumfluorid und Acridin-9-hydroxamsäure 5 (Abbildung 8). Zu 3 ml 0.95 M NaF/ $1.8 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ 5/0.1 M NaHCO_3 -Lösung gibt man 1 mg 8 ($c = 1.8 \text{ mM}$) und verfolgt die Zunahme der Fluoreszenz. Anregung 400 nm, Emission 456 nm, Spalte 2 nm.

LITERATUR

114. Mitteilung Hoppe-Seyler's—Z. *Physiol. Chem.*, z.Z. im Druck.
- Auszug aus der Dissertation W. Hallenbach, Univers. Mainz 1983.
- L. Horner und R. Gehring, *Phosphorus and Sulfur*, **11**, 157 (1981).
- L. Horner und H.-W. Flemming, *Liebigs Ann. Chem.*, z.Z. im Druck.
- L. Horner und W. Hallenbach, *Liebigs Ann. Chem.*, z.Z. im Druck.

6. H. C. Froede und I. B. Wilson, in *The Enzymes*, Vol. 5, pp. 87–114 (P. D. Boyer, ed.), Academic Press, New York (1971).
7. D. Nachmansohn, *Chemical and Molecular Basis of Nerve Activity*, Academic Press, New York (1959).
8. P. Franz, in *Lehrbuch der Militärchemie* (S. Franke, ed.) Bd. 2, Militärverlag der Deutschen Demokratischen Republik (VEB), Berlin (1977).
9. L. Horner und W. Kappa, *Phosphorus and Sulfur*, **11**, 339 (1981).
10. L. Horner und R. Gehring, *Phosphorus and Sulfur*, **12**, 295 (1982).
11. B. Saville, *J. Chem. Soc.*, 4624 (1961).
12. L. Horner, R. Gehring und H. Lindel, *Phosphorus and Sulfur*, **11**, 349 (1981).
13. H. Rupe und A. Metzger, *Helv. Chim. Acta*, **8**, 840 (1925).
14. A. Kaufmann und L. G. Valette, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **45**, 1736 (1912).
15. K. Bauer, *Chem. Ber.*, **83**, 10 (1950).
16. A. Albert und B. Ritchie, *Org. Synth. Coll. Vol.* 3, 53.
17. K. Sasse, in *Methoden der Organischen Chemie* (Houben-Weyl-Müller), Bd XII.1, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1963), S. 422.
18. R. Cölln und G. Schrader, DAS. 1 099 788 (1958), Farbf. Bayer.
19. L. Horner und H.-W. Flemming, *Phosphorus and Sulfur*, z.Z. im Druck.
20. H. Stetter und E. Reske, *Chem. Ber.*, **103**, 643 (1970).
21. R. Stollé, *J. prakt. Chem.* [2], **105**, 137 (1922). R. Stollé, *J. prakt. Chem.* [2], **128**, 1, 39 (1930).
22. O. Eisleb, *Medizin und Chemie Bd III*, Bayer, Leverkusen (1936), S. 48.
23. G. I. Bras und T. W. Gortinskaja, *Zh. Obshch. Khim.*, **10**, 1751 (1940), c.f. Zentralblatt **1941**, II, 2204.