

sation der *l*-Isopropyl-malonaminsäure; aber wahrscheinlich hat bei diesen verschiedenen Krystallisationen auch eine Entfernung von Racemkörpern stattgefunden.

Jedenfalls beweist der Versuch, daß man auch bei ziemlich empfindlichen optisch-aktiven Substanzen eine ganze Reihe von Verwandlungen vornehmen und mit leidlicher Ausbeute ein optisch fast reines Endprodukt gewinnen kann.

452. Emil Fischer: Über Phosphorsäureester des Methylglucosids und Theophyllin-glucosids¹⁾.

(Eingegangen am 16. November 1914.)

Die einfachsten Nucleinsäuren, welche meist Nucleotide genannt werden, sind bekanntlich aus Purinen oder Uracilen, Zuckern und Phosphorsäure zusammengesetzt und von einigen derselben, z. B. der Inosinsäure und Guanylsäure, weiß man sicher, daß die Phosphorsäure mit dem Zuckerrest verbunden ist. Nachdem die Synthese von Glucosiden der Purine gelungen war, lag es nahe, sie noch mit Phosphorsäure zu kuppeln, um künstliche Nucleotide zu gewinnen. Ein solcher Versuch ist schon von Helferich und mir²⁾ angestellt; aber nur flüchtig beschrieben worden, weil das Produkt amorph war und die Analyse kein eindeutiges Resultat gegeben hatte. Inzwischen habe ich den Vorgang genauer studiert und eine Theophyllin-glucosid-phosphorsäure gefunden, die hübsch krystallisiert und allem Anschein nach ein einheitliches chemisches Individuum ist. Um diesen Erfolg zu erzielen, war es aber nötig, ein abgeändertes Verfahren für die Einführung der Phosphorsäure auszuarbeiten.

Die ältesten Angaben über die Bildung einer Verbindung von Glucose mit Phosphorsäure gehen wohl auf M. Berthelot³⁾ zurück, der ein solches Präparat durch Erhitzen von Glucose mit sirupförmiger Phosphorsäure auf 140° in kleiner Menge erhalten haben will. Ausführlichere Beobachtungen verdankt man D. Amato⁴⁾, der aus einem schon von seinem Lehrer H. Schiff durch Einwirkung von Phosphoroxchlorid auf Helicin erhaltenen Rohprodukt eine Glucose-phosphorsäure isolierte, von der er ein Natrium- und zwei Bleisalze analysierte.

¹⁾ Der Preuß. Akademie der Wissenschaften vorgetragen am 25. Juni und zum Druck vorgelegt am 30. Juli 1914. Vergl. Sitzungsber. S. 905 und C. 1914, II, 1050.

²⁾ B. 47, 210 [1914]. ³⁾ A. ch. [3] 54, 81 [1858]. ⁴⁾ G. 1, 56 [1871].

Allerdings ist es mir fraglich, ob die Substanz Amatos wirklich eine einfache Glucose-phosphorsäure war, da er angibt, daß sie alkalische Kupferlösung nicht direkt, sondern erst nach der Hydrolyse reduziere. Jedenfalls haben aber Schiff und Amato die Aufmerksamkeit auf die Verwendung des Phosphoroxychlorids für die Bereitung von Phosphorsäureestern der Kohlenhydrate gelenkt. Zur brauchbaren Methode wurde seine Verwendung erst in neuerer Zeit durch C. Neuberg und H. Pollak ausgebildet, die das Chlorid bei Gegenwart von alkalischen Erden oder deren Carbonaten auf die wäßrige Lösung von Rohrzucker, später auch von Traubenzucker einwirken ließen¹⁾.

Eine zweite Methode, Phosphorsäureester der Kohlenhydrate und ähnlicher Stoffe zu bereiten, rührt von K. Langheld²⁾ her. Er verwendet dafür Metaphosphorsäureester, für den er eine bequeme Art der Darstellung gefunden hat. Sein Verfahren ist in der Ausführung einfacher als die Verwendung des Phosphoroxychlorids und hat ihn bei Fructose, Dioxy-aceton und Glycerin zu Phosphorsäurederivaten geführt, die kristallisierte Salze bilden.

Ich habe beide Verfahren sowohl beim α -Methyl-glucosid wie beim Theophyllin-glucosid angewandt, aber nur mittelmäßige Resultate erhalten. Durch Phosphoroxychlorid entstehen zwar aus beiden Glucosiden Monophosphorsäure-Derivate, aber die Ausbeute ist gering, weil das zur Lösung benutzte Wasser den größten Teil des Oxychlorids zerstört. Bei dem Langheldschen Verfahren muß man entweder in Chloroform oder ohne Lösungsmittel arbeiten. Das geht bei den sirupförmigen Zuckern ganz gut, aber bei den hochschmelzenden Glucosiden sehr schwer. Sie werden trotz feinsten Verteilung bei gewöhnlicher Temperatur von dem Ester nur zum geringen Teil angegriffen. Erwärmt man dagegen auf 100°, so treten in das α -Methyl-glucosid sofort mehrere Phosphorsäuren ein, und bei dem Theophyllin-glucosid gestaltet sich der Vorgang noch viel komplizierter, indem der größte Teil des Purinrestes abgespalten wird.

Infolgedessen habe ich mich bemühen müssen, ein besseres Verfahren für die Glucosid-phosphorsäuren auszuarbeiten und dasselbe schließlich in der Anwendung von trockenem Pyridin und Phosphoroxychlorid gefunden. Das Pyridin ist nicht allein für viele Zucker, wie schon bekannt, sondern auch für die beiden Glucoside ein gutes Lösungsmittel, und wenn man zu einer solchen Lösung bei starker Abkühlung Phosphoroxychlorid in der für 1 Mol. berechneten Menge zugibt, so tritt die gewünschte Reaktion ein. Die nachträgliche Ver-

¹⁾ Bio. Z. 23, 515 [1910] und B. 43, 2060 [1910].

²⁾ B. 43, 1857 [1910]; 44, 2076 [1911] und 45, 1125 [1912]; K. Langheld und F. Oppmann, ebenda 45, 3753 [1912].

wandlung des Produktes in das Bariumsalz der Glucosid-monophosphorsäure bietet auch keine Schwierigkeiten. Durch diese Verbesserung ist es gelungen, das Bariumsalz der Theophyllinglucosid-monophosphorsäure in einer Ausbeute von 80 % der Theorie und daraus ohne allzu große Verluste die krystallisierte Theophyllinglucosid-phosphorsäure selbst zu gewinnen. Es verdient bemerkt zu werden, daß mit Phosphoroxchlorid und Bariumhydroxyd aus dem Theophyllin-glucosid ebenfalls eine Monophosphorsäure, allerdings in schlechter Ausbeute, als Bariumsalz erhalten wird, daß aber die hieraus isolierte freie Säure nicht krystallisiert und also nicht identisch mit dem ersten Präparat ist. Auch beim α -Methyl-glucosid sind die Monophosphorsäure-Derivate verschieden, je nachdem man Phosphoroxchlorid mit Pyridin oder mit Baryt anwendet. Im ersten Falle ist das Bariumsalz in Alkohol fast unlöslich, im zweiten Fall löst es sich darin ziemlich leicht und mußte deshalb für die Analyse durch das Silbersalz ersetzt werden.

Die Kombination von Phosphoroxchlorid mit Pyridin ist auch bei den einfachen Zuckern und sogar beim Rohrzucker ausführbar. Löst man den letzteren in der 15-fachen Menge heißen Pyridins, kühlt auf -20° ab und fügt dann 1 Mol. Phosphoroxchlorid vermischt mit Pyridin zu, so entstehen verschiedene Produkte. Eines davon fällt aus dem Pyridin als Gallerte, ist auch in Wasser unlöslich und enthält reichliche Mengen von Phosphor. In größerer Menge findet sich in der Pyridinlösung eine Phosphorsäureverbindung, die als Bariumsalz leicht isoliert werden kann und die nach ihren Eigenschaften eine Saccharose-phosphorsäure zu sein scheint. Ich werde erst später ausführlicher über diese Versuche berichten. Bei den Aminosäuren, welche sowohl von Langheld wie von Neuberg und Pollak in Phosphorsäurederivate verwandelt wurden, ferner bei dem Inosit ist das Pyridinverfahren in der obenerwähnten Form nicht anwendbar, weil sie in der Base zu schwer löslich sind.

Die krystallisierte Theophyllinglucosid-phosphorsäure, welche das erste synthetische Produkt dieser Gruppe ist, hat in getrocknetem Zustand die Formel $C_{13}H_{17}O_9N_4P$ oder aufgelöst $C_{13}H_{16}O_7N_4 \cdot PO_2H$; denn sie ist eine einbasische Säure, wie sich durch Titration mit Alkali sicher nachweisen ließ. Sie hat aber die Neigung, unter dem Einfluß von Basen in eine zweibasische Säure überzugehen. Das tritt ein, wenn sie längere Zeit mit überschüssigem Alkali bei gewöhnlicher Temperatur in Berührung ist oder mit Barytwasser kurze Zeit erwärmt wird. Die so entstehenden Salze sind aber ebensowenig wie die zugehörige zweibasische Säure selbst krystallisiert erhalten worden.

Ich vermute, daß in der einbasischen Säure der Phosphorsäurerest mit zwei Alkoholgruppen des Zuckerrestes verkuppelt ist; denn

daß die Phosphorsäure am Zuckerrest des Theophyllin-glucosids fixiert ist, scheint kaum zweifelhaft, da am Theophyllinrest hierzu keine Gelegenheit geboten ist. Die kristallisierte Säure würde also der sekundäre Phosphorsäureester des Glucosids sein. Die Bildung eines solchen Körpers bietet nichts Auffälliges, wenn man sich der Versuche von A. Grün und F. Kade¹⁾ über die außerordentlich leichte Umwandlung von primärem (Distearin-phosphorsäureester in sekundären und tertiären Ester erinnert.

Diese Erfahrungen mit der Theophyllinglucosid-phosphorsäure scheinen mir geeignet, neue Gesichtspunkte für die Beurteilung der natürlichen Nucleotide und Nucleinsäuren zu gewinnen. Ich werde selbstverständlich das neue Verfahren der »Phosphorylierung«²⁾ auf die schon bekannten synthetischen Puringlucoside und auch auf die natürlichen Nucleoside, das Adenosin, Guanosin usw. übertragen.

Mit der synthetischen Erschließung der Gruppe ist die Möglichkeit gegeben, zahlreiche Stoffe zu gewinnen, die den natürlichen Nucleinsäuren mehr oder weniger nahestehen. Wie werden sie auf verschiedene Lebewesen reagieren? Werden sie zurückgewiesen oder zertrümmert oder werden sie am Aufbau des Zellkerns teilnehmen? Die Antwort darauf kann nur der Versuch geben. Ich bin kühn genug, zu hoffen, daß unter besonders günstigen Bedingungen der letzte Fall, die Assimilation künstlicher Nucleinsäuren ohne Spaltung des Moleküls eintreten kann. Das müßte aber zu tiefgreifenden Änderungen des Organismus führen, die vielleicht den in der Natur beobachteten dauernden Änderungen, den Mutationen, ähnlich sind.

Theophyllinglucosid-phosphorsäure, $C_{13}H_{16}O_7N_4 \cdot PO_3H$.

Wie erwähnt, entsteht sie durch Einwirkung von Phosphoroxychlorid und Pyridin auf Theophyllin-glucosid³⁾. Die angewandten Materialien müssen ganz trocken sein. Deshalb wurde das feingepulverte

¹⁾ B. 45, 3358 [1912]. ²⁾ Bezeichnung von Neuberg und Pollak.

³⁾ Den Farbenfabriken vorm. F. Bayer & Co. in Leverkusen bin ich für die Überlassung einer größeren Menge des Glucosids zu lebhaftem Danke verpflichtet. Wie früher (B. 47, 221 [1914]) schon erwähnt, wirkt das Glucosid nach den Beobachtungen des Hrn. Prof. Georg Klempner stark diuretisch, wenn es per os gegeben wird. Da dieser Effekt bei intravenöser Anwendung ausbleibt, so ist es wahrscheinlich, daß im Verdauungstraktus eine hydrolytische Spaltung durch Enzyme stattfindet, und daß das hierbei entstehende Theophyllin erst die Diurese veranlaßt. In der Tat scheint das Glucosid für die medizinische Praxis keinen bemerkenswerten Vorzug vor dem Theophyllin zu haben. Hr. Geh. Rat Klempner wird seine Erfahrungen ausführlich in einer medizinischen Zeitschrift schildern.

Theophyllin-glucosid im Hochvakuum (0.15 mm) bei 78° mehrere Stunden über Phosphorpentoxyd getrocknet, während das Pyridin 6 Stunden mit überschüssigem Bariumoxyd unter Rückfluß gekocht und zum Schluß darüber destilliert war.

10 g Theophyllin-glucosid werden in 100 ccm heißem Pyridin gelöst, auf -20° abgekühlt und mit einer Mischung von 4.6 g (etwa 1 Mol.) Phosphoroxchlorid und 10 ccm Pyridin, die ebenfalls auf -20° gekühlt ist, versetzt. Die klare farblose Mischung bleibt 50 Minuten bei -20° stehen, wird dann mit einer stark abgekühlten Mischung von 10 ccm Pyridin und 10 ccm Wasser versetzt und nach weiteren 15 Minuten aus dem Kältebad entfernt. Nach einer weiteren Viertelstunde fügt man 300 ccm eiskaltes Wasser hinzu, schüttelt zur Entfernung der Salzsäure mit 20 g Silbersulfat und fällt aus der filtrierten Flüssigkeit das überschüssige Silber durch Schwefelwasserstoff. Die abgesaugte Flüssigkeit, die kaum noch Schwefelwasserstoff enthalten soll, wird nun zur Entfernung des Pyridins mit 50 g reinem, krySTALLISIERTEM, feingepulvertem Bariumhydroxyd versetzt, auf ein l verdünnt und unter einem Druck von 10—15 mm aus einem Bad von nicht mehr als 40° verdampft. Das Pyridin ist gewöhnlich nach 1½—2 Stunden völlig verjagt. Man leitet nun in die Flüssigkeit Koblenensäure bis zur neutralen Reaktion ein, saugt über etwas Tierkohle ab und verdampft das Filtrat unter demselben geringen Druck auf etwa 75 ccm. Das hierbei ausgeschiedene Bariumcarbonat wird abgesaugt und das Filtrat in ein l absoluten Alkohol unter Umrühren eingegossen. Dabei fällt das Bariumsalz der Theophyllinglucosid-phosphorsäure als farblose, amorphe Masse aus, die sich gut absaugen und mit Alkohol und Äther waschen läßt. Ausbeute 12 g.

Das Präparat enthielt nach dem Trocknen bei 100° im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd 17.8 % Ba und 6.56 % P. Wie aus dem Nachfolgenden ersichtlich ist, war es also ein Gemisch.

Um die reine krySTALLISIERTE Theophyllinglucosid-phosphorsäure zu erhalten, löst man das Bariumsalz in etwa der zehnfachen Menge Wasser, fällt das Barium genau mit Schwefelsäure, konzentriert das Filtrat zunächst bei 10—15 mm Druck und bringt dann in den Vakuumexsiccator über Phosphorpentoxyd. Nach einiger Zeit beginnt die Abscheidung von sehr feinen Nadelchen, deren Menge sich ziemlich rasch vermehrt. Sie werden schließlich abgesaugt, zuerst mit 50-prozentigem, dann mit absolutem Alkohol und schließlich mit Äther gewaschen. Ausbeute an diesem schon recht reinen Produkt ungefähr 5.3 g aus 12 g Bariumsalz oder 10 g Theophyllin-glucosid, also auf letzteres berechnet 45 % der Theorie. Die wäßrige Mutterlauge

gibt beim weiteren Eindunsten im Vakuumexsiccator eine neue, aber unreinere Krystallisation. Schließlich bleibt ein Sirup zurück, der andere Phosphorsäurederivate enthält.

Die krystallisierte Theophyllinglucosid-phosphorsäure änderte beim Umkrystallisieren aus warmem Wasser ihr Drehungsvermögen nicht, war also offenbar schon sehr rein. Allerdings wurden beim Umkrystallisieren öfters an Stelle der Nadelchen regelmäßige, meist sternförmig vereinigte, längliche Blättchen beobachtet; aber sie unterscheiden sich weder in der Zusammensetzung noch im Drehungsvermögen von den Nadeln.

Die krystallisierte Säure enthält im lufttrocknen Zustand Krystallwasser, das im Hochvakuum bei 78° rasch entweicht. Seine Menge entsprach im Durchschnitt von sechs Bestimmungen bei verschiedenen Präparaten 8.9%, wobei die Abweichungen vom Mittel sehr gering waren. Das getrocknete Präparat zieht an der Luft rasch wieder Feuchtigkeit an. Bei feuchter Sommerluft war die Sättigung mit Wasserdampf schon nach 20—25 Minuten erreicht. Die Menge des absorbierten Wassers betrug 7.9%. Aus diesen Beobachtungen geht mit großer Wahrscheinlichkeit hervor, daß die Menge des Krystallwassers 2 Molekülen entspricht. Berechnet für $C_{13}H_{16}O_7N_4 \cdot PO_3H + 2H_2O$ (440.21): 8.19% H_2O .

Die im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd bei 78° getrocknete Säure gab folgende Zahlen:

0.1614 g Subst.: 0.2273 g CO_2 , 0.0672 g H_2O . — 0.1398 g Subst.: 0.1984 g CO_2 , 0.0570 g H_2O . — 0.1364 g Subst.: 16.40 ccm N (über 33-proz. KOH) (21°, 763 mm). — 0.1475 g Subst.: 18.40 ccm N (über 33-proz. KOH) (26°, 761 mm). — 0.2176 g Subst.: 0.0616 g $Mg_2P_2O_7$.

Zur Bestimmung von Phosphor in dieser und den folgenden Substanzen wurde nach Carius oxydiert. Enthielt die Verbindung auch Barium, so wurde nach dem Öffnen des Rohrs erst die Salpetersäure verdampft, der Rückstand mit Wasser und wenig Salzsäure aufgenommen, das Barium mit Schwefelsäure gefällt, das Filtrat wieder verdampft, mit Wasser aufgenommen, die Phosphorsäure mit Ammoniummolybdat in der üblichen Weise gefällt und der Niederschlag in Ammoniummagnesiumphosphat übergeführt.

$C_{13}H_{17}O_9N_4P$ (404.18).

Ber. C 38.60, H 4.24, N 13.87, P 7.67.

Gef. » 38.41, 38.70, » 4.66, 4.56, » 13.81, 13.96, » 7.88.

Die Differenz zwischen der gefundenen und berechneten Menge Wasserstoff dürfte durch die große Hygroskopizität der getrockneten Substanz bedingt sein.

Für die optischen Bestimmungen diente die wäßrige Lösung:

1. $[\alpha]_D^{26} = -\frac{0.60^\circ \times 5.0464}{1 \times 1.0074 \times 0.1010} = -29.76^\circ$
2. $[\alpha]_D^{26} = -\frac{1.38^\circ \times 2.0640}{1 \times 1.0187 \times 0.0940} = -29.75^\circ$
3. $[\alpha]_D^{26} = -\frac{1.53^\circ \times 1.7715}{1 \times 1.0212 \times 0.0896} = -29.62^\circ$
4. $[\alpha]_D^{23} = -\frac{1.58^\circ \times 1.6577}{1 \times 1.0233 \times 0.0862} = -29.69^\circ$

Die Bestimmungen sind mit 3 Präparaten verschiedener Darstellung und mit verschiedenen Krystallisationen ausgeführt. Zum Beweis, daß bei der Austreibung des Krystallwassers keine wesentliche Veränderung eintritt, ist die Bestimmung 4 mit der wasserhaltigen Säure (angewandt 0.0945 g von 8.9 % Wassergehalt) ausgeführt und das Resultat auf die wasserfreie Säure umgerechnet.

Die trockne Theophyllinglucosid-phosphorsäure hat keinen Schmelzpunkt. Von 200° an sintert sie stark und färbt sich braun, bei Steigerung der Temperatur tritt allmählich völlige Zersetzung ein. Sie löst sich leicht in heißem Wasser, erheblich schwerer in der Kälte. Eine 5-proz. wäßrige Lösung bleibt aber bei 0° längere Zeit klar. In den gewöhnlichen indifferenten organischen Solvenzien ist sie außerordentlich schwer oder gar nicht löslich. Mit Chlorwasser gibt sie ähnlich dem Theophyllin und Theophyllin-glucosid die Murexidprobe. Sie reduziert die Fehlingsche Lösung beim kurzen Aufkochen nur sehr schwach. Der Geschmack ist sauer. Die Säure gibt weder mit Tannin noch mit dem Eiweiß des Hühnereis eine Fällung. Ihre wäßrige Lösung wird durch eine konzentrierte Lösung von Phosphorwolframsäure nicht gefällt, wohl aber gelb bis gelblichrot gefärbt. Verwendet man an Stelle der wäßrigen Lösung die Lösung der Säure in 20-proz. Schwefelsäure, so entsteht durch Phosphorwolframsäure sofort ein starker, gelb gefärbter Niederschlag, der erst harzig ist, später aber fest wird und beim längeren Stehen auch krystallinische Struktur annimmt. Er löst sich leicht in reinem Wasser, wird aber daraus durch starke Schwefelsäure wieder gefällt. Die Stärke der *n*-Schwefelsäure genügt noch nicht, um den Niederschlag entstehen zu lassen, wohl aber 10-prozentige.

Die Theophyllinglucosid-phosphorsäure ist eine einbasische Säure, wie folgende Titration mit $\frac{1}{10}$ -Normalalkali zeigt: 0.1844 g Substanz brauchten zur Neutralisation 4.5 ccm $\frac{1}{10}$ -Natronlauge (Indicator Phenolphthalein), während für 1 Mol. 4.56 ccm berechnet sind.

In Berührung mit überschüssigem Alkali verwandelt sie sich schon bei Zimmertemperatur langsam in eine höherbasische Säure:

0.3982 g trockne Substanz wurden in 30 ccm $\frac{1}{10}$ -Natronlauge gelöst und 48 Stunden bei Sommertemperatur (22–26°) aufbewahrt. Dann wurde das

Alkali mit $\frac{1}{10}$ -Salzsäure bei Gegenwart von Phenolphthalein zurücktitriert. Verbrauch waren 16.5 ccm $\frac{1}{10}$ -Alkali, während 19.70 ccm für 2 Mol. Alkali berechnet sind. Mithin waren ungefähr $\frac{2}{3}$ der angewandten einbasischen Säure in zweibasische verwandelt. Die alkalische Lösung der Säure war bei dieser Behandlung farblos geblieben und reduzierte zum Schluß die Fehlingsche Lösung auch nur schwach.

Bei einem andren Versuch, wo die Säure mit einem erheblichen Überschuß von Alkali 24 Stunden im Brutraum gestanden hatte, betrug die Menge des verbrauchten Alkalis wenig mehr als 2 Moleküle, aber gleichzeitig war die Flüssigkeit gelb geworden und reduzierte Fehlingsche Lösung stark. Mithin war eine tiefere Zersetzung eingetreten.

Im Einklang mit diesen Beobachtungen steht das Verhalten der Theophyllinglucosid-phosphorsäure gegen Bariumcarbonat und Bariumhydroxyd. Mit dem ersten entsteht ein amorphes Bariumsalz, das annähernd die Zusammensetzung der Monobariumverbindung besitzt, wie folgender Versuch zeigt:

0.5 g Säure wurden in 10 ccm warmem Wasser gelöst, mit reinem, frisch bereitetem Bariumcarbonat versetzt, 2—3 Minuten auf dem Wasserbade erhitzt, dann die neutrale Lösung filtriert, unter geringem Druck eingengt und mit Alkohol gefällt. Das farblose, amorphe Salz enthielt nach dem Trocknen im Hochvakuum bei 100° über Phosphorpentoxyd 15.8% Barium, während für $(C_{13}H_{16}O_9N_4P)_2Ba$ 14.56% berechnet sind.

Dieses Salz wurde nun in der verdünnten, wäßrigen Lösung mit überschüssigem Bariumhydroxyd kurze Zeit rasch erhitzt, bis die Lösung anfang, sich schwach gelb zu färben, dann sofort Kohlendioxyd bis zur neutralen Reaktion eingeleitet, aufgeköcht, abgesaugt, unter geringem Druck verdampft und mit Alkohol gefällt. Das Salz enthielt jetzt 19.6% Barium.

Ferner wurden beim Austreiben des Pyridins mit Bariumhydroxyd bei höherer Temperatur immer Bariumsalze erhalten, die über 21—22.8% Ba enthielten, während für das Dibariumsalz einer Theophyllinglucosid-phosphorsäure, $C_{13}H_{17}O_{10}N_4P_2Ba$, 24.64% Ba berechnet sind.

Auch aus diesen Bariumsalzen wurde durch Zerlegung mit Schwefelsäure und Verdampfen der Mutterlauge krystallisierte Theophyllinglucosid-phosphorsäure gewonnen, die wahrscheinlich aus der zweibasischen Säure zurückgebildet wurde. Aber die Ausbeute war dann erheblich schlechter und die Krystallisation der Säure entsprechend schwieriger.

Hydrolyse der Theophyllin-glucosid-phosphorsäure.

Wie das Theophyllin-glucosid selbst erleidet die Säure beim Kochen mit verdünnter Salzsäure eine Hydrolyse, die aber in diesem

Fall komplizierter verläuft als beim einfachen Glucosid. Wird die Säure mit 2-n. Salzsäure auf dem Wasserbade erwärmt, so reduziert die Flüssigkeit bald die Fehlingsche Lösung sehr stark; sie enthält aber zunächst keinen Traubenzucker, da sie kein krystallisiertes Phenylglucosazon liefert, sondern wahrscheinlich eine reduzierende Glucose-phosphorsäure. Leider tritt bei weiterer Einwirkung der Salzsäure eine sekundäre Reaktion ein, denn die Flüssigkeit färbt sich erst gelb, dann braun. Bei einer 10-prozentigen Salzsäure war diese Braunfärbung nach einer halben Stunde schon recht stark. Dieser Übelstand wird vermieden, wenn man nur 1-prozentige Salzsäure verwendet.

1 g reine, wasserhaltige Theophyllinglucosid-phosphorsäure wurde in 25 ccm 1-proz. Salzsäure gelöst. Die Flüssigkeit drehte anfangs ziemlich stark nach links, aber schon nach 3-stündigem Kochen am Rückflußkühler war ganz schwache Rechtsdrehung vorhanden. Nach 4-stündigem Kochen betrug diese im 50-mm-Rohr $+0.12^\circ$, nach $5\frac{1}{4}$ Stunden $+0.32^\circ$, nach $7\frac{1}{2}$ Stunden $+0.43^\circ$ und war dann nach einer weiteren Stunde unverändert. Die Flüssigkeit war zum Schluß hellgelb und reduzierte die $1\frac{1}{2}$ -fache Menge Fehlingsche Lösung. Zur Isolierung der Spaltprodukte wurde sie mit n-Natronlauge genau neutralisiert, mit Essigsäure ganz schwach angesäuert, bei geringem Druck und 30° ganz verdampft und der Rückstand dreimal mit je 60 ccm absolutem Alkohol ausgekocht. Der Rückstand reduzierte noch Fehlingsche Lösung. Beim Verdampfen des alkoholischen Filtrats blieb ein bräunlichgelber Rückstand, von dem ein Teil zum Nachweis der Glucose mit salzsaurem Phenylhydrazin und Natriumacetat $1\frac{1}{2}$ Stunden erhitzt wurde. Das erhaltene Osazon schmolz unter Zersetzung gegen 205° und zeigte auch im Äußeren die größte Ähnlichkeit mit Phenylglucosazon. Die Hauptmenge obigen Rückstandes wurde in wenig heißem Alkohol gelöst. Beim Erkalten schied sich eine amorphe Masse ab, aber beim längeren Stehen wurde der größte Teil krystallinisch. Zur völligen Reinigung mußte dieses Produkt noch zweimal aus heißem Alkohol krystallisiert werden, wobei erhebliche Verluste unvermeidlich waren. Das schließlich erhaltene Präparat war farblos, schmolz bei 264° , zeigte mit reinem Theophyllin gemischt keine Depression des Schmelzpunktes und war auch sonst dem Theophyllin so ähnlich, daß die Identität trotz der fehlenden Elementaranalyse kaum zweifelhaft ist.

Aber ich muß doch mit Rücksicht auf die ziemlich geringe Ausbeute an reinem Purinkörper betonen, daß die geschilderte Spaltung neben Phosphorsäure, Glucose und Theophyllin auch noch andre Produkte unbekannter Art liefert.

Einwirkung von Phosphoroxychlorid und Baryt auf Theophyllin-glucosid.

Die Reaktion verläuft so wenig glatt, daß man zur Erreichung einer halbwegs befriedigenden Ausbeute einen erheblichen Überschuß

von Phosphoroxychlorid anwenden muß, obschon nur ein Monophosphorsäurederivat entsteht.

Eine Lösung von 3 g Theophyllin-glucosid in 45 ccm Wasser wurde mit 27 g feingepulvertem, krystallisiertem Bariumhydroxyd versetzt, die Flüssigkeit bis zum Gefrieren abgekühlt und nun mit einer Mischung von 5.4 g (etwa 4 Mol.) Phosphoroxychlorid und 10 ccm Äther 2 Stunden bei 0° geschüttelt. Zum Schluß war das Bariumhydroxyd zum größten Teil verbraucht; der Rest wurde durch Einleiten von Kohlensäure neutralisiert, dann das Filtrat mit 25 g Silbersulfat geschüttelt, zentrifugiert und aus der Flüssigkeit das in Lösung gegangene Silber genau mit Salzsäure gefällt. Dieses Chlorsilber war so fein verteilt, daß es durch Absaugen über einem mit Tierkohle gedichteten Filter entfernt werden mußte. Das Filtrat wurde mit überschüssigem Baryt versetzt, 10–15 Minuten lang aufgekocht, dann der überschüssige Baryt durch Kohlensäure entfernt, die filtrierte Flüssigkeit auf dem Wasserbade eingeeengt und schließlich mit Alkohol gefällt.

Ausbeute 0.9 g eines amorphen, farblosen Bariumsalzes, dessen Analyse nach dem Trocknen im Hochvakuum bei 78° über Phosphorpentoxyd annähernd auf die Formel des Dibariumsalzes einer Theophyllinglucosid-phosphorsäure stimmt.

0.1385 g Sbst.: 0.1385 g CO₂, 0.0334 g H₂O. — 0.1418 g Sbst.: 12.55 ccm N [33-proz. KOH] (19.5°, 759 mm). — 0.2255 g Sbst.: 0.0901 g BaSO₄, 0.0472 g Mg₂P₂O₇.

C₁₃H₁₇O₁₀N₄PBa (557.55).

Ber. C 27.98, H 3.07, N 10.05, P 5.56, Ba 24.64.

Gef. » 27.27, » 2.70, » 10.18, » 5.83, » 23.51.

Als bei dem obigen Verfahren nach der Entchlorung der Flüssigkeit mit Bariumhydroxyd nicht in der Hitze, sondern nur bei gewöhnlicher Temperatur behandelt wurde, resultierte ein Bariumsalz, das nur 20.4 % Ba enthält. Offenbar handelt es sich hier um ein Gemisch.

Aus den Bariumsalzen, die mit Chlorwasser Murexidreaktion geben, wurde noch die freie Säure bereitet. Krystalle konnten hier nicht erhalten werden. Die Säure bildet vielmehr eine amorphe, glasige, in Wasser leicht lösliche Masse. Sie ist also offenbar der Hauptmenge nach verschieden von der zuvor beschriebenen Theophyllinglucosid-phosphorsäure.

α-Methyl-glucosid und Metaphosphorsäureester.

Verreibt man 2 g sehr fein gepulvertes und scharf getrocknetes α-Methyl-glucosid mit 2.2 g Metaphosphorsäure-äthylester, der nach der Vorschrift von Langheld¹⁾ bereitet ist, so erwärmt sich die Masse schwach. Zur Vervollständigung der Reaktion ist es nötig, noch

¹⁾ B. 44, 2080 [1911].

25—30 Minuten auf dem Wasserbade zu erhitzen. Der unverbrauchte Metaphosphorsäureester läßt sich durch wiederholtes Auskochen der Masse mit trockenem Chloroform entfernen. Der farblose Rückstand wurde dann in 5 ccm kaltem Wasser gelöst, die Flüssigkeit mit gepulvertem Bariumhydroxyd genau neutralisiert und die schwach getrübe Lösung filtriert. Beim Eingießen derselben in viel Alkohol fiel ein farbloses, flockiges Bariumsalz, das abgesaugt und mit Alkohol-Äther gewaschen wurde. Ausbeute 3 g. Nach zweimaligem Umfällen aus Wasser mit Alkohol und Trocknen im Hochvakuum bei 78° über Phosphorpenoxyd enthielt das Salz 34.3 % Ba und 12.4 % P. In kaltem Wasser löst es sich leicht, scheidet aber beim Erhitzen einen Niederschlag ab. Es ist schwer, über die Zusammensetzung des Präparates, das offenbar ein Gemisch ist, ein Urteil zu fällen.

Zu einem einheitlicheren Präparat gelangt man dadurch, daß man dieses Salz mit dem gleichen Gewicht krystallisierten Bariumhydroxyds, das in der 10-fachen Menge Wasser gelöst ist, 2 Stunden auf dem Wasserbade erhitzt. Dabei fällt ein dichter Niederschlag aus. Der überschüssige Baryt wird dann durch Kohlensäure gefällt, aufgekocht, das klare Filtrat unter stark vermindertem Druck konzentriert und schließlich mit Alkohol gefällt. Der amorphe, etwas schleimige Niederschlag wurde noch zweimal in wenig kaltem Wasser gelöst, mit viel Alkohol wieder gefällt und im Hochvakuum bei 78° über Phosphorpenoxyd getrocknet.

Die Analysen stimmen leidlich auf das Bariumsalz einer vierbasischen Methylglucosid-diphosphorsäure.

0.1989 g Sbst.: 0.0904 g CO₂, 0.0447 g H₂O. — 0.2597 g Sbst.: 0.1930 g BaSO₄. — 0.2190 g Sbst.: 0.1644 g BaSO₄, 0.0804 g Mg₂P₂O₇.

C₇H₁₂O₆(P O₂Ba)₂ (624.84).

Ber. C 13.44, H 1.94, P 9.92, Ba 43.97.

Gef. » 12.40, » 2.51, » 10.23, » 44.17, 43.73.

Das Salz selbst reduziert die Fehlingsche Lösung nicht, wohl aber tritt die reduzierende Wirkung bei der Hydrolyse mit verdünnter Salzsäure ziemlich rasch ein.

Behandlung von α -Methyl-glucosid mit Phosphoroxychlorid und Pyridin.

Eine Lösung von 10 g trockenem α -Methyl-glucosid in 50 ccm ganz trockenem Pyridin wurde auf —20° abgekühlt und eine Mischung von 7.8 g Phosphoroxychlorid (etwa 1 Mol.) und 20 ccm trockenem Pyridin, die ebenfalls auf —20° gekühlt war, hinzugefügt. Die Mischung blieb $\frac{3}{4}$ Stunden in der Kältemischung und schied dann beim Reiben salzsaures Pyridin aus. Sie wurde noch in der Kälte mit 20 ccm Wasser

versetzt, dann bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrt und nach etwa 20 Min. mit weiteren 200 ccm Wasser verdünnt. Nachdem das Chlor durch Schütteln mit 30 g Silbersulfat entfernt war, wurde die zentrifugierte Lösung durch Schwefelwasserstoff vom Silber befreit, der überschüssige Schwefelwasserstoff an der Saugpumpe beseitigt, nun mit überschüssigem Bariumhydroxyd versetzt und unter vermindertem Druck verdampft, bis alles Pyridin ausgetrieben war. Nachdem der überschüssige Baryt mit Kohlensäure entfernt, das Filtrat im Vakuum konzentriert und mit Alkohol gefällt war, wurde das Bariumsalz zur Reinigung noch zweimal aus der wäßrigen Lösung durch Alkohol ausgefällt und zur Analyse bei 78° im Hochvakuum über Phosphor-pentoxyd getrocknet. Ausbeute etwa 8 g.

0.2840 g Sbst.: 0.1540 g BaSO₄, 0.0804 g Mg₂P₂O₇.

C₇H₁₃O₉PBa (409.47). Ber. Ba 33.55, P 7.57.

Gef. » 31.91, » 7.89.

Die Zahlen zeigen, daß das Salz keineswegs rein, aber vorzugsweise das Dibariumsalz einer Methylglucosid-monophosphorsäure war. Die aus dem Bariumsalz mit Schwefelsäure auf die übliche Art in Freiheit gesetzte Säure blieb beim Eindunsten der wäßrigen Lösung als Sirup zurück, der bisher nicht krystallisierte. Säure und Bariumsalz reduzieren die Fehlingsche Lösung nicht, wohl aber nach der Hydrolyse mit verdünnten Säuren.

Einwirkung von Phosphoroxychlorid und Baryt auf α-Methyl-glucosid.

Eine Lösung von 6 g α-Methyl-glucosid in 75 ccm Wasser war mit 45 g fein gepulvertem krystallisiertem Bariumhydroxyd versetzt und abgekühlt. Sie wurde auf der Maschine bei 0° geschüttelt und im Laufe von 2 Stunden allmählich eine Mischung von 9 g Phosphoroxychlorid und 10 ccm Äther hinzugefügt. Nachdem zum Schluß noch 1/2 Stde. geschüttelt war, reagierte die Flüssigkeit nur noch schwach alkalisch. Sie wurde nun mit Kohlendioxyd neutralisiert, mit überschüssigem Silbersulfat geschüttelt, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff behandelt, nach Entfernung des Schwefelsilbers und Schwefelwasserstoffs mit Baryt neutralisiert und diese Lösung stark eingeeengt. Das Bariumsalz ließ sich hier nicht durch Alkohol in festem Zustand abscheiden. Aus der sehr konzentrierten wäßrigen Lösung fiel zwar durch Alkohol ein dicker Sirup, der sich aber in viel Alkohol wieder löste. Das Bariumsalz wurde deshalb in die Silberverbindung verwandelt durch genaues Ausfällen des Bariums mit Schwefelsäure und Erwärmung des Filtrats mit überschüssigem Silbercarbonat. Die unter vermindertem Druck eingeeengte wäßrige Lösung des Silbersalzes gab auf Zusatz von Alkohol einen farblosen, pulverigen Niederschlag, der sich am Licht etwas färbte. Er wurde abgesaugt, mit Alkohol und Äther gewaschen. Ausbeute nur 1.1 g. Das zweimal aus Wasser

durch Alkohol gefällte Präparat wurde bei 78° im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

0.2344 g Sbst.: 0.1295 g AgCl, 0.0577 g $Mg_2P_2O_7$.

$C_7H_{11}O_6 \cdot PO_3Ag_2$ (487.86). Ber. Ag 44.23, P 6.35.

Gef. » 41.58, » 6.86.

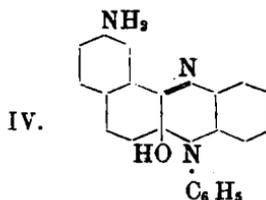
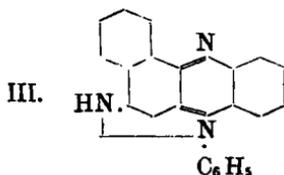
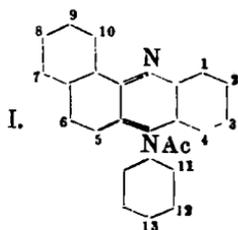
Man sieht, daß auch dieses Präparat nicht einheitlich war, und daß die Wirkung des Phosphoroxychlorids auf Methyl-glucosid. bei Gegenwart von Baryt und Wasser recht unbefriedigende Resultate gibt. Hervorzuheben ist die Verschiedenheit des hier entstehenden, in Alkohol löslichen Bariumsalzes von dem mit Phosphoroxychlorid und Pyridin erhaltenen Präparat.

Bei obigen Versuchen habe ich mich der ebenso geschickten wie eifrigen Hilfe des Hrn. Dr. Ernst Pfähler erfreut, wofür ich ihm auch hier besten Dank sage.

458. F. Kehrman, R. Speitel und E. Grandmougin: Konstitution und Farbe der sich vom Phenyl-naphthophenazonium ableitenden Monamine. Über Chinonimid-Farbstoffe. V.

(Eingegangen am 23. November 1914.)

Vom Phenyl-naphthophenazonium (Formel I) (Phenyl-benzo-1.2-phenazonium),



leiten sich 13 isomere Monamine ab, von denen bisher 9 in Gestalt verschiedener Salze und eines als Salze des Acetyl-Derivates dargestellt sind. Das bekannteste ist das 6-Amin, das sogenannte