

Nun wurde in Benzol gelöst und durch ein mit Aluminiumoxyd gefülltes Rohr abgesaugt. Das Filtrat zeigte prächtig blaue Fluoreszenz, während am Al_2O_3 ein schwach braun gefärbter Ring haften blieb. Die Benzol-Lösung wurde mit Petroläther gefällt und die Substanz erst bei Zimmer-temperatur über CaCl_2 und Paraffin bei 14 mm, dann bei 1 mm und 56° über P_2O_5 getrocknet. Schmp. unscharf bei 105° .

4.035 mg Sbst.: 12.08 mg CO_2 , 2.33 mg H_2O , 0.322 mg Rckstd. — 3.613 mg Sbst.: 10.82 mg CO_2 , 2.105 mg H_2O , 0.284 mg Rckstd.

Gef. C 88.73, 88.64. H 7.02, 7.08.

Die Lösung der Substanz in Benzol wurde durch Ausschütteln mit $m/2$ -Natronlauge, $m/2$ -Salzsäure und Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat fällten wir mit Petroläther und trockneten über CaCl_2 und Paraffin im Vak. bei 56° . Sinter.-Pkt. $115\text{--}130^\circ$.

3.51, 3.444 mg Sbst.: 10.95, 10.795 mg CO_2 , 2.11, 2.055 mg H_2O .

$(\text{C}_7\text{H}_7)_x$. Ber. C 92.25. H 7.14. Gef. C 90.55, 90.80, H 7.16, 7.10.

Trockne Destillation des Dibenzyläther-Polymerisates.

Beim Erhitzen des Dibenzyläther-Polymerisates (1 g) im Destillationskölbchen ging zwischen $190\text{--}250^\circ$ eine carbid-ähnlich riechende, wasserklare Flüssigkeit, bei ungefähr 250° ein rötlichgelbes, dickes, nach Steinpilzen riechendes Öl über, das in der Vorlage teilweise erstarrte; es hinterblieb eine beträchtliche Menge eines dunkelgefärbten Destillationsrückstandes. Das ölige Destillationsprodukt wurde mit Alkohol aufgenommen und die beim Stehenlassen im Eisschrank abgeschiedene Substanz aus heißem Alkohol ungelöst. Die ausgefallenen, fast farblosen Krystalle (25 mg) lösten sich in Benzol mit schöner blauer Fluoreszenz. Die Benzol-Lösung wurde über Al_2O_3 abgesaugt, eingedampft und der Rückstand aus Alkohol umkrystallisiert: farblose Nadeln vom Schmp. $205\text{--}206^\circ$ (korr. Berl-Block).

2.174 mg Sbst.: 7.39 mg CO_2 , 1.14 mg H_2O .

$\text{C}_{18}\text{H}_{14}$ (Terphenyl). Ber. C 93.8, H 6.03. Gef. C 92.7, H 5.87.

2. Theodor Wagner-Jauregg und Herbert Griesshaber: Über Pyrophosphorsäure-ester und krystallisierte Salze der Phospho- l-milchsäure.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie.]
(Eingegangen am 19. November 1936.)

Die natürlichen Polyphosphorsäuren des Adenosin, nämlich die von K. Lohmann aufgefundenen Adenosin-di- und tri-phosphorsäure, spielen, wie vor allem O. Meyerhof und K. Lohmann zeigten, eine bedeutsame Rolle als Phosphat-Überträger bei enzymatischen Vorgängen, die mit Phosphorylierungen verknüpft sind, vor allem bei der Gärung und der Glykolyse. Die genannten primären (unsymmetrischen) Pyrophosphorsäure-ester der allgemeinen Formel $\text{R} \cdot \text{O} \cdot \text{PO}(\text{OH}) \cdot \text{O} \cdot \text{PO}(\text{OH})_2$ bzw. $\text{R} \cdot \text{O} \cdot \text{PO}(\text{OH}) \cdot \text{O} \cdot \text{PO}(\text{OH}) \cdot \text{O} \cdot \text{PO}(\text{OH})_2$ spalten nach K. Lohmann¹⁾ sowie C. H. Fiske und Subbarow²⁾ bei der milden sauren Hydrolyse (7 Min. in $n/1$ -HCl bei 100°) einen bzw. zwei Phosphorsäure-Reste als anorgan. Orthophosphor-

¹⁾ Naturwiss. **17**, 624 [1929]; Biochem. Ztschr. **233**, 460 [1931]; **272**, 24 [1934]; **282**, 104, 109 [1935].

²⁾ Science (N. Y.) **70**, 382 [1929].

säure ab. Dagegen fanden wir erwartungsgemäß bei gleicher Behandlung der synthetischen symmetrischen (sekundären) Diphenylpyrophosphorsäure³⁾, $C_6H_5 \cdot O \cdot PO(OH) \cdot O \cdot PO(OH) \cdot O \cdot C_6H_5$, keine Abspaltung von Phosphorsäure.

Über synthetische, unsymmetrische Pyrophosphorsäure-ester liegen bisher nur wenige Literaturangaben vor. Nach A. Grün und Mitarbeitern⁴⁾ entsteht durch Einwirkung von Phosphorpentoxyd auf Distearylglycerin ein unbeständiges (hypothetisches?) Zwischenprodukt auf dem Wege der Phosphatidsäure-Synthese, das als Distearyl-pyrophosphorsäureanhydrid formuliert wurde. Die Methode zur Darstellung organischer Pyrophosphorsäuren durch Einwirkung von P_2O_5 auf Oxy-Verbindungen dürfte in all den Fällen, wo eine Wasser-Abspaltung möglich ist, versagen. E. Wertyporoch und H. Kiekenberg⁵⁾ beschrieben die Bildung von Pyrophosphorsäure-estern bei der Einwirkung des von Langheld entdeckten Äthylmetaphosphorsäure-esters auf Wasser oder auf Oxysäuren. In unserer voranstehenden Arbeit⁶⁾ wurde nachgewiesen, daß die Annahme der genannten Autoren über die Entstehung einer unsymmetrischen Diäthylpyrophosphorsäure aus Äthylmetaphosphat und Wasser unrichtig ist.

Wir versuchten die Darstellung von primären Pyrophosphorsäure-estern durch Einwirkung des Chlorides der Pyrophosphorsäure ($P_2O_3Cl_4$) auf Oxy-Verbindungen. Und zwar wurde die Reaktion des Pyrophosphorylchlorides in Gegenwart von Pyridin mit Muskel-Adenylsäure (unter Zusatz von Borsäure) und mit Milchsäure untersucht. Die erzielten Ausbeuten waren aber geringe und die Reindarstellung der Reaktionsprodukte bereitete große Schwierigkeiten, so daß uns die Ausgestaltung der Reaktion zu einer präparativ ergiebigen Methode nicht möglich war. Aus diesem Grunde möchten wir auf eine eingehende Darstellung dieser Versuche verzichten. Außerdem gewannen wir den Eindruck, daß nicht nur die gewünschten unsymmetrischen Ester entstehen, sondern auch symmetrisch substiierte, sekundäre Pyrophosphorsäure-ester.

Da wir mit dem Auftreten von Phospho-*l*-milchsäure als Spaltprodukt von Milchsäure-pyrophosphorsäure-estern rechneten, stellten wir uns zur näheren Charakterisierung ersterer Verbindung kristallisierte Salze, die bisher nicht bekannt waren, her⁷⁾.

Mit Brucin konnte sowohl ein saures Salz, $CH_3 \cdot CH(O \cdot PO_3H_2) \cdot CO_2H$, $(C_{23}H_{26}N_2O_4)_2 + 4 H_2O$ vom Schmp. 166⁰ wie auch ein neutrales Salz $CH_3 \cdot CH(O \cdot PO_3H_2) \cdot CO_2H$, $(C_{23}H_{26}N_2O_4)_3 + 12 H_2O$ vom Schmp. 153—154⁰ gewonnen werden, die beide in Nadelchen kristallisierten.

Aus Phospho-*l*-milchsäure und Acridin, dessen Eignung zur Charakterisierung organischer Phosphorsäure-ester früher gezeigt wurde⁸⁾, erhielten wir ein gelbgefärbtes, saures Salz der Zusammensetzung $C_3H_7O_6P$, $C_{13}H_9N$, das bei 269—271⁰ (korr.) schmolz.

³⁾ C. Neuberg u. J. Wagner, *Biochem. Ztschr.* **171**, 486 [1926].

⁴⁾ B. **60**, 147, 266 [1927]; **59**, 1350 [1926]; **45**, 3361 [1912].

⁵⁾ *Biochem. Ztschr.* **268**, 8 [1934].

⁶⁾ Th. Wagner-Jauregg u. H. Griebhaber, B. **70**, 1 [1937].

⁷⁾ Darstellung der Phospho-*l*-milchsäure durch Einwirkung von Phosphoroxychlorid auf Milchsäure in Pyridin: Th. Wagner-Jauregg, B. **68**, 670 [1935]. Bezüglich der phosphatischen Spaltung der Phospho-*l*-milchsäure s. O. T. Rotini u. C. Neuberg, *Biochem. Ztschr.* **279**, 453 [1936].

⁸⁾ Th. Wagner-Jauregg, *Ztschr. physiol. Chem.* **239**, 188 [1935].

Beschreibung der Versuche.**Hydrolyse der Diphenyl-pyrophosphorsäure⁹⁾.**

Es wurde das Dikaliumsalz verwendet. Das Präparat verdanken wir der Freundlichkeit von Hrn. Doz. Dr. K. Lohmann.

Colorimetrische Phosphorsäure-Bestimmung nach K. Lohmann und Jendrassik¹⁰⁾:

Direkt (anorgan. Phosphat)	0 % P_2O_5
7 Min. bei 100° in $n/1$ -HCl (leicht abspaltbares Phosphat)	0 % „
nach Veraschung (Gesamt-Phosphat)	31.0 % „

Der Versuch zeigt, daß bei der milden Hydrolyse keine Phosphorsäure abgespalten wird.

Darstellung des Pyrophosphorylchlorides ($P_2O_3Cl_4$).

Diese erfolgte teils durch Zutropfenlassen von 1 Mol. Wasser zu 2 Mol. Phosphoroxychlorid nach den Angaben von A. Besson¹¹⁾, teils durch Oxydation von Phosphortrichlorid mit nitrosen Gasen nach A. Geuther u. Michaelis¹²⁾. Letztere Methode ergab bessere Ausbeuten. Die Stickoxyde wurden aus Stärke und Salpetersäure (*d* 1.4) entwickelt, über $CaCl_2$ und P_2O_5 getrocknet und in eisgekühltes Phosphortrichlorid eingeleitet (Einführungsrohr in die Flüssigkeit etwas eintauchen lassen). Ausbeute 17–25 g $P_2O_3Cl_4$ aus 100 g PCl_3 . Unverbrauchtes PCl_3 und geringe Mengen $POCl_3$ destillierten wir im Vak. ab. Das abdestillierte PCl_3 wurde neuerlich zur Reaktion mit nitrosen Gasen verwendet. Die Fraktionierung des gebildeten $P_2O_3Cl_4$ erfolgte im Hochvak., ließ sich aber auch im Vak. der Wasserstrahlpumpe in befriedigender Weise durchführen. Sdp.₁ 73°, Sdp.₃ 88–92°.

59.8 mg $P_2O_3Cl_4$ mit 26 ccm $n/20$ -NaOH zersetzt.

10.0 ccm dieser Lösung ergaben: 53.858 mg AgCl, 13.25 mg P_2O_5 .

$P_2O_3Cl_4$. Ber. Cl 56.2, P 10.75. Gef. Cl 57.1, P 10.96.

Brucinsalze der Phospho-*l*-milchsäure¹³⁾.

Neutrales Salz: Aus einer Mischung von 9 ccm einer $m/15$ -Lösung von phospho-*l*-milchsaurem Kalium mit 5 ccm $m/2$ -Brucin-Hydrochlorid fielen beim Aufbewahren im Eisschrank Krystalle aus, die, aus 50-proz. Alkohol 2-mal unkrystallisiert, bei 153–154° (korr.; Berl-Block) unt. Zers. schmolzen.

4.416 mg Sbst.: 8.99 mg CO_2 , 2.70 mg H_2O . — 3.186 mg Sbst.: 0.154 ccm N_2 (20°, 749 mm). — 4.176 mg Sbst.: 5.50 mg Ammoniumphosphormolybdat.

($C_{23}H_{26}O_4N_2$)₂, $C_3H_7O_4P$, 12 H_2O (1568.9). Ber. C 55.00, H 7.01, N 5.36, P 1.98.

Gef. „ 55.52, „ 6.84, „ 5.55, „ 1.91.

Gewichtsverlust beim Trocknen auf 12 H_2O ber. 13.50, gef. 13.80.

Saures Salz: 2.98 g Brucinsulfat ($C_{23}H_{26}O_4N_2$)₂, H_2SO_4 , H_2O wurden durch Erwärmen in 120 ccm Wasser gelöst und unter Rühren mit 60 ccm einer Lösung von 1.255 g phosphomilchsaurem Barium¹⁴⁾ bei gleich-

⁹⁾ Darstellung: C. Neuberger u. J. Wagner, Biochem. Ztschr. **171**, 486 [1926].

¹⁰⁾ Biochem. Ztschr. **178**, 419 [1926].

¹¹⁾ Compt. rend. Acad. Sciences **124**, 1099 [1897].

¹²⁾ B. **4**, 766 [1871].

¹³⁾ bezügl. der Darst. kryst. Alkaloidsalze von Phosphorsäure-estern s. C. Neuberger u. O. Dalmer, Biochem. Ztschr. **131**, 188 [1922].

¹⁴⁾ Darst. nach Th. Wagner-Jauregg, B. **68**, 670 [1935]. — Die Verwendung von Chinolin an Stelle von Pyridin als Lösungsmittel bei der Phosphorylierung ergab keine bessere Ausbeute und bot auch sonst keinen Vorteil.

zeitiger Zugabe von 100 ccm Alkohol versetzt. Nach Abschleudern des BaSO_4 wurde bei 35—40° Badtemperatur im Vak. fast zur Trockene eingengt und die ausgeschiedene Substanz aus 80-proz. Alkohol 2-mal umkristallisiert.

Nach 10-stdg. Trocknen über CaCl_2 bei 14 mm lag der Schmp. bei 166° (korr.; Berl).

6.491, 6.549 mg Sbst.: 0.289 (23°, 75 ccm), 0.284 (21°, 748 mm) ccm N_2 . — 4.511, 4.099 mg Sbst.: 9.66, 8.40 mg Phosphorammonmolybdat.

$(\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_4\text{N}_2)_2 \cdot \text{C}_3\text{H}_7\text{O}_6\text{P} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (1102). Ber. N 5.08, P 2.83.

Gef. „ 5.03, 4.95, „ 3.11, 2.98.

Spezif. Drehung des sauren Brucinsalzes in Wasser: $[\alpha]_D^{20} = (-0.955^\circ \times 15) : (0.4828 \times 1) = -29.7^\circ$.

Gef.: Molekulare Drehung d. Di-Brucinsalzes $[\text{M}] = -328^\circ$.

Daraus berechnet sich, unter Berücksichtigung der molaren Drehung des Brucins ($[\text{M}] = -136^\circ$)¹⁵⁾, die molekulare Drehung der Phospho-*l*-milchsäure $[\text{M}] = -56^\circ$.

Umwandlung des sauren Brucinsalzes in das Bariumsalz.

0.482 g Brucinsalz wurde in wäbr. Lösung mit der berechneten Menge Barytwasser versetzt und mit dem gleichem Vol. Alkohol gefällt. Einmal aus Wasser-Alkohol umgefällt, wonach bei Zugabe von konz. HNO_3 keine Spur einer Rotfärbung auftrat (frei von Brucin).

Spezif. Drehung des aus dem Brucinsalz dargestellten Bariumsalzes der Phospho-*l*-milchsäure (Bariumsalz in 2-*n*. HCl gelöst):

$[\alpha]_D^{20} = (-0.12^\circ \times 10) : (0.0444 \times 2) = -13.6^\circ$. Molekulare Drehung $[\text{M}] = -55.5^\circ$.

Acridinsalz der Phospho-*l*-milchsäure.

0.686 g phospho-*l*-milchsaures Barium in 1 ccm Wasser wurden mit 4.70 ccm 1-*n*. H_2SO_4 zerlegt, zentrifugiert, BaSO_4 mit wenig Wasser gewaschen, Lösung mit 0.91 g (3 Mol.) reinem Acridin in wenig warmem Alkohol versetzt und bei Zimmertemperatur abkühlen gelassen. Am nächsten Tag wurden die schönen, hellgelben, ätherlöslichen Acridin-Nadeln (Schmp. 107°) abgesaugt und, nachdem nunmehr die Lösung über Nacht im Eisschrank aufbewahrt worden war, die neu abgeschiedenen gelben Krystalle mit Alkohol-Äther und 2-mal mit Äther gewaschen. Über CaCl_2 einige Stdn. bei 14 mm getrocknet. Schmp. (zugeschmolzenes Röhrchen): 269—271° (korr.; Berl-Block; unt. Zers., oberhalb von 200° Dunkelfärbung).

0.086 mg Sbst.: 8.045 mg CO_2 , 1.710 mg H_2O (ohne Bichromat verbrannt); 3.079 mg Sbst.: 5.87 mg CO_2 , 1.345 mg H_2O (mit Bichromat verbrannt). — 4.471, 4.511 μg Sbst.: 0.159 (22°, 750 mm), 0.164 (23°, 750 mm) ccm N_2 . — 4.074 mg Sbst.: 24.04 mg Phosphorammonmolybdat.

$\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_6\text{P} \cdot \text{C}_{13}\text{H}_9\text{N}$ (349.1). Ber. C 55.00, H 4.58, N 4.01, P 8.88.

Gef. „ 53.70, „ 4.68, „ 4.06, 4.14, „ 8.57.

Gef. „ 52.0, „ 4.89 (m. Bichromat verbrannt).

Bei beiden C, H-Bestimmungen hinterblieb im Schiffchen ein schwarzer Rückstand¹⁶⁾.

¹⁵⁾ Chemiker-Kalender 54, III. Bd., S. 416 [1933].

¹⁶⁾ vergl. dazu die ebenfalls zu niedrigen Verbrennungswerte des adenosintri-phosphorsäuren Acridins: Th. Wagner-Jauregg, Ztschr. physiol. Chem. 239, 192 [1936].