

## 241. Pietro Pratesi: Über das Monoacetoxy-methyl-phosphat.

[Aus d. Institut für Allgem. Chemie d. Königl. Universität in Bologna, Italien.]  
(Eingegangen am 21. Juni 1939.)

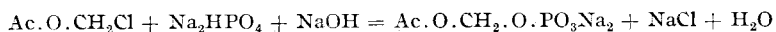
Die Herstellung der Phosphorsäure-Ester des Formaldehyds (Dioxy-methylen) ist von Interesse für die Untersuchung der biochemischen Umsetzungen des Formaldehyds im Hinblick auf die Frage der Bildung der Kohlenhydrate in den Pflanzen.

Die Phosphorsäure-Ester des Dioxymethylens dürften ziemlich unschädliche Verbindungen darstellen, aus denen der Formaldehyd auf enzymatischem Wege (phosphatatisch) freigelegt werden kann. Der Formaldehyd könnte somit in diesen Verbindungen bis zu seinem Verwertungsort gelangen, ohne Schaden in der äußeren Umgebung zu verursachen, was bei anderen Formaldehydderivaten, wie z. B. Methylal, Formaldehydschwefligsaures Natrium usw. nicht der Fall ist.

Andernteils könnte der Phosphorsäureester auch als solcher verwertet werden; auf diese Möglichkeiten habe ich in früheren Arbeiten hingewiesen<sup>1)</sup>.

Nach den Literaturangaben sollte man durch 10-stdg. Erhitzen von Phosphorsäure mit Polyoxymethylen bei 140—150° Dioxymethylen-diphosphat erhalten. Im Gegensatz dazu konnte ich<sup>2)</sup> unter den gleichen Bedingungen nur Monomethyl-phosphat (neben Glykolsäure und viel unveränderter Phosphorsäure) gewinnen<sup>3)</sup>.

Durch Einwirkung von Natriumphosphat auf Chlormethyl-acetat nach der Gleichung:



habe ich, in der nachstehenden Weise vorgehend, wenn auch mit bescheidener Ausbeute, die Monoacetoxy-methyl-phosphorsäure erhalten, die in Form ihres Ca-Salzes (mit 1 Mol. Krystallwasser) isoliert wurde.

Zu einer Lösung von 66 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  (1 Mol.)  $\begin{matrix} \text{O. CO. CH}_3 \\ \text{CH}_2 \\ \text{O. PO}_3\text{Ca} \end{matrix} + \text{H}_2\text{O}$  in 220 ccm Wasser gibt man unter Schütteln 20 g (1 Mol.) Chlormethyl-acetat und hält das Ganze in einem Wasserbad bei 45—50°. Ist die anfängliche lackmus-alkalische Reaktion verschwunden, so beginnt man mit der Zugabe von 2-n. Natronlauge. Diese soll nach und nach und unter öfterem Schütteln erfolgen, so daß die Reaktion immer nur schwach lackmus-alkalisch bleibt. Ein Alkaliüberschuß ist zu vermeiden, da er zur raschen Verseifung des Esters führt.

Wenn keine Tröpfchen von Chlormethyl-acetat mehr sichtbar sind, was nach ungefähr 2 Stdn. der Fall ist, werden die kleinen Mengen Chlormethyl-acetat, die sich noch in Lösung befinden, mit Äther ausgeschüttelt. Dann wird sofort  $\text{CaCl}_2$  in kleinem Überschuß über die zur Fällung des gesamten Phosphates berechnete Menge zugegeben sowie einige Tropfen Phenol-

<sup>1)</sup> Ann. Chim. appl. **27**, 309, 321, 382 [1937]; Chim. e Ind. **19**, 328 [1937].

<sup>2)</sup> Ann. Chim. appl. **29**, 123 [1939].

<sup>3)</sup> Über das als „Uronovan“ bezeichnete und als methylen-diphosphorsaures Hexamethylen-tetramin deklarierte Arzneimittel (vergl. A. Kuhn, C. **1928** II, 1463) fehlen nähere Angaben. Eine Verbindung, die Anhydro-oxymethylenphosphorsaures Calcium und Magnesium sein sollte, ist als ein Verfälschungsmittel des Phytins angeführt worden (vergl. M. C. Bailly, Journ. Pharm. Chim. [8] **28**, 199 [1938]).

phthaleinlösung und vorsichtig 2-n. Natronlauge, so lange, bis die Rosa-färbung eben gerade bestehen bleibt. Dieser Punkt darf nicht überschritten werden, da sonst der Ester durch Alkali rasch gespalten wird.

Das Calciumphosphat wird rasch abgeseigt und auf dem Filter gewaschen. Aus dem schwach rosa gefärbten Filtrat wird das organische Ca-Salz mit der 3-fachen Menge Alkohol niedergeschlagen und der Niederschlag nach kurzem Stehenlassen zentrifugiert. Nach dem Waschen mit 50-proz. Alkohol im Zentrifugenbecher wird der Niederschlag im Vak. über  $\text{H}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Die so gewonnene Substanz ist durch Chloride und anorgan. Phosphate verunreinigt. Zur Reinigung wird sie mit kaltem Wasser aufgenommen, vom Unlöslichen abfiltriert und mit der 2-fachen Menge Alkohol gefällt. Man zentrifugiert und wäscht im Zentrifugenbecher mit 50-proz. Alkohol. Dieser Vorgang wird noch einmal wiederholt.

Man gelangt so zu einer absolut chlorfreien Substanz, die nur geringste Spuren anorganischen Phosphats enthält. Aus vier Operationen, die man gleichzeitig durchführen kann, erhält man ungefähr 1.2 g Substanz. Sie wurde im Vak. über  $\text{P}_2\text{O}_5$  bei  $56^\circ$  bis Gewichtskonstanz getrocknet und analysiert.

6.349 mg Sbst.: 1.880 mg  $\text{H}_2\text{O}$ , 3.510 mg  $\text{CO}_2$ . — 0.2276 g Sbst. (nach Abtrennung des Ca): 0.1155 g  $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ . — 0.3974 g verbr. bei der Ca-Best. 35.9 ccm  $n_{10}$ - $\text{KMnO}_4$ . — 0.1615 g Sbst., 45 Min. mit 10-proz.  $\text{HCl}$  im Einschlußrohr bei  $100^\circ$  erhitzt, verbr. 13.8 ccm  $n_{10}$ -Jod.

$\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_7\text{PCa}$  (226.1). Ber. C 15.92, H 3.12, P 13.73, Ca 17.72,  $\text{CH}_2\text{O}$  13.27.

Gef. „ 15.08, „ 3.31, „ 14.14, „ 18.10, „ 12.82.

Die Substanz ist schwer verbrennbar, daher die nur angenäherten Werte bei der Kohlenstoffbestimmung.

Ein von anorgan. Phosphat fast vollkommen freies Ca-Salz erhält man, indem man das Salz in kaltem Wasser löst, einen Tropfen Phenolphthaleinlösung und dann verd. Ammoniak bis zur schwachen Rosafärbung zugebt, dann rasch filtriert und mit Alkohol fällt.

0.1115 g Sbst. gaben einen Rückstand von 0.0623 g  $\text{Ca}_3\text{P}_2\text{O}_7$ .

$\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_7\text{PCa}$ . Ber.  $\text{Ca}_3\text{P}_2\text{O}_7$  56.19, gef. 55.88.

Die Konstitution der Substanz ergibt sich aus folgenden Tatsachen: 1) keine Fällung mit  $\text{AgNO}_3$  in der Kälte, 2) keine sofortige Fällung mit  $\text{NH}_3$ ; längere Einwirkung von Alkali bewirkt Hydrolyse und darauffolgende Fällung, 3) Reduktion des  $\text{AgNO}_3$  in der Hitze, 4) Formaldehydabspaltung beim Kochen der wäßrigen Lösung, 5) positive Kakodylreaktion nach Hydrolyse.

Das Ca-Salz der Monoacetoxy-methyl-phosphorsäure ist in Wasser mäßig löslich. Es erteilt dem Wasser schwach alkalische Reaktion ( $\text{p}_\text{H}$  der gesättigten Lösung etwa 7.5). Der in Wasser gelöste Ester spaltet sich bei gewöhnlicher Temperatur ziemlich langsam; viel schneller dagegen in der Hitze.

Vom biochemischen Standpunkt aus ist es wichtig, daß die Phosphorsäure-Abspaltung auf phosphatatischem Wege (mit Takaphosphatase bei  $\text{p}_\text{H}$  5.2 und  $20^\circ$ ) viel schneller erfolgt als durch chemische Hydrolyse unter denselben Bedingungen.

Der Ester ist gegen Alkali viel empfindlicher als gegen Säuren. Die große Alkaliempfindlichkeit ist offenbar dem acetalartigen Charakter des Esters zuzuschreiben. Es ist bemerkenswert, daß das neuerdings<sup>4)</sup> von

<sup>4)</sup> L. Zervas, Naturwiss. 27, 317 [1939].

Zervas hergestellte 1-Glucosyl-phosphat den Phosphorsäurerest durch Alkalinwirkung ebenfalls verliert; nach den obigen Befunden kann das wahrscheinlich mit dem acetalartigen Charakter des glykosidischen Esters in Zusammenhang gebracht werden. Wieweit diese Feststellungen bei den anderen Zuckerphosphorsäure-estern anwendbar sind, läßt sich heute noch nicht sagen.

Die Herstellung des entacetylierten Esters und die des diphosphorsäuren Esters des Dioxymethylens ist eben in Angriff genommen; ich möchte mir diese Untersuchungen vorbehalten. Die neuerdings von Zervas (l. c.) vorgeschlagene Phosphorylierungsmethode wird sich vielleicht auch hier mit Erfolg anwenden lassen.

Die Herstellung der Phosphorsäureester der Hydratformen anderer Aldehyde, die in verschiedener Hinsicht Interesse bietet, ist ebenfalls in Aussicht genommen, wie natürlich auch die Untersuchung der biochemischen Umsetzungen aller dieser Verbindungen.

## 242. Pedro Cattaneo, Venancio Deulofeu und Tito H. Guerrero\*): Über Aminosäuren, XI. Mitteil.: Kondensation von Kreatinin mit aroma- tischen Aldehyden\*\*).

[Aus d. Instituto de Fisiología, Facultad de Medicina, Buenos Aires, Argentinien.]  
(Eingegangen am 25. Mai 1939.)

Erlenmeyer<sup>1)</sup> erhielt als erster ein Derivat aus Kreatinin und einem aromatischen Aldehyd, das Acetyl-benzalkreatinin, als er Kreatin, Benzaldehyd und Acetanhydrid erhitzte. Viele Jahre später wurde die Konstitution derartiger Verbindungen durch Nicolet und Campbell<sup>2)</sup> sowie durch Ing<sup>3)</sup> erforscht und sichergestellt.

Die Kondensation von anderen Aldehyden mit Kreatinin wurde von Richardson, Welch und Calvert<sup>4)</sup> durch Schmelzen mit Vanillin und *m*-Nitro-benzaldehyd ausgeführt. Dieses Verfahren wandten auch Cornthwaite und Jordan<sup>5)</sup> sowie Cornthwaite, Lazarus, Snellings und Denoon<sup>6)</sup> unter Verwendung der verschiedensten Aldehyde an. Fast gleichzeitig kondensierten Deulofeu und Mendivelzúa<sup>7)</sup> Kreatinin mit aromatischen Aldehyden mittels Acetanhydrids und erhielten die Acetyl-derivate; ausnahmsweise wurde auch in der Schmelze gearbeitet. Neben dem sozusagen normalen Reaktionsprodukt, das durch Kondensation von 1 Mol. Kreatinin mit 1 Mol. Aldehyd entstanden ist, beschrieben Cornthwaite und Jordan<sup>5)</sup> in ihrer Arbeit eine neue Verbindungsklasse, die sich aus 1 Mol. Kreatinin und 2 Mol. Aldehyd ableitet. Später fanden Cornthwaite und Mitarbeiter<sup>6)</sup> Kondensationsprodukte aus 2 Mol. Kreatinin und 3 Mol. Aldehyd.

\*) P. Cattaneo, Dissertat. Buenos Aires, 1937; G. H. Guerrero, Dissertat. Buenos Aires, 1936.      \*\*) X. Mitteil., B. 70, 947 [1937].

<sup>1)</sup> A. 284, 49 [1895].      <sup>2)</sup> Journ. Amer. chem. Soc. 50, 1155 [1928].

<sup>3)</sup> Journ. chem. Soc. London 1932, 2047.

<sup>4)</sup> Journ. Amer. chem. Soc. 51, 3075 [1929].

<sup>5)</sup> Journ. Amer. chem. Soc. 56, 2733 [1935].

<sup>6)</sup> Journ. Amer. chem. Soc. 58, 628 [1936].

<sup>7)</sup> B. 68, 783 [1935].