

## FRIEDRICH CRAMER und ARNULF VOLLMAR

Zur Chemie der „energiereichen Phosphate“, VI<sup>1)</sup>

## Synthesen von Kreatin- und Glykocyaminphosphorsäure

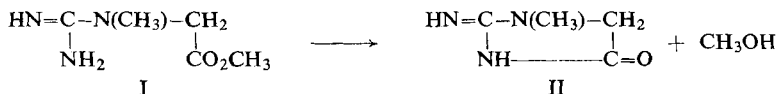
Aus dem Chemischen Institut der Universität Heidelberg

(Eingegangen am 20. Oktober 1958)

Glycin- und Sarkosinester (IV) reagieren mit Phosphoryl-cyanamiden (V) zu Phosphagenestern (VI). Die Salze der Phosphoryl-cyanamide lassen sich in kristallisierter Form fassen und direkt in die Reaktion einsetzen. Aus den Estern VI entstehen durch hydrogenolytische Entfernung der schützenden Gruppen Phosphokreatin und Phosphoglykocyamin in 38 bzw. 43-proz. Ausbeute (bezogen auf die Aminosäureester).

Die Darstellung der *Phosphagene* durch direkte Phosphorylierung mit Phosphoroxchlorid ist seit der Synthese der Kreatinphosphorsäure durch ZEILE das übliche Standardverfahren geblieben<sup>2,3)</sup>; so wurden auch Guanidin<sup>4)</sup>, Glykocyamin<sup>5)</sup>, Arginin<sup>6)</sup> und Taurocyamin<sup>7)</sup> umgesetzt, und die Phosphagene meistens als Calciumsalze isoliert. Der Vorzug des Verfahrens besteht in der leichten Zugänglichkeit der Ausgangsmaterialien, Nachteile sind mit der mühevollen und verlustreichen Aufarbeitung verbunden. Die Einführung neuerer Methoden der Phosphorylierung durch TODD und Mitarbb.<sup>8)</sup> ermöglicht nunmehr rationellere Methoden der Synthese.

Während die Acylierung freier Guanidinbasen mit Phosphorsäure-diester-halogeniden leicht gelingt<sup>9)</sup>, stößt sie bei  $\alpha$ -Guanidino-carbonsäureestern auf große Schwierigkeiten, da diese Verbindungen nach Aufheben des Salzzustandes außerordentlich labil sind. Der nucleophile Angriff der Guanidino- auf die Estercarbonyl-Gruppe wird dabei sterisch durch die Ausbildung eines Lactam-5-Ringes unterstützt.



Kreatin-äthylester-hydrochlorid geht bereits bei  $p_{\text{H}}$  7 in Kreatinin über<sup>10,11)</sup>. Auch aus Sarkosin-äthylester und Cyanamid bildet sich schnell Kreatinin<sup>12)</sup>. Die Lactam-

1) V. Mittel.: F. CRAMER und K. G. GÄRTNER, Chem. Ber. 91, 1562 [1958].

2) K. ZEILE und G. FAWAZ, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 256, 193 [1938].

3) A. H. ENNOR und L. A. STOCKEN, Biochem. J. 43, 190 [1948].

4) G. FAWAZ und K. ZEILE, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 263, 175 [1940].

5) G. FAWAZ und K. SERAIDARIAN, J. biol. Chemistry 165, 97 [1946].

6) E. BAMANN, L. F. SANCHEZ und H. TRAPMANN, Chem. Ber. 88, 1846 [1955].

7) J. F. MORRISON, A. H. ENNOR und D. E. GRIFFITHS, Biochem. J. 68, 447 [1958].

8) F. R. ATHERTON, H. T. OPENSHAW und A. R. TODD, J. chem. Soc. [London] 1945, 382 und spätere Veröffentl. in der Reihe „Studies on Phosphorylation“.

9) F. CRAMER und A. VOLLMAR, Chem. Ber. 91, 911 [1958].

10) J. D. MOLD, R. C. GORE, J. M. LYNCH und E. J. SCHANTZ, J. Amer. chem. Soc. 77, 178 [1955].

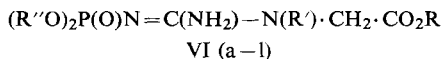
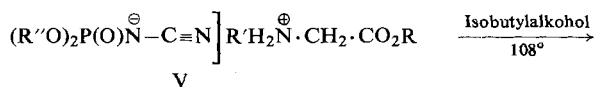
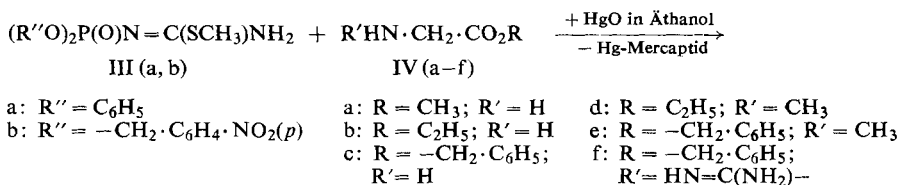
11) C. F. FAILEY und E. BRAND, J. biol. Chemistry 102, 767 [1933].

12) E. ABDERHALDEN und H. SICKEL, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 175, 68 [1928].

form steht in einem reversiblen Gleichgewicht mit der offenkettigen Guanidinocarbon-säure<sup>13-17</sup>).

### 1. DARSTELLUNG VON PHOSPHAGENESTERN

Da eine direkte Phosphorylierung von  $\alpha$ -Guanidino-carbonsäureestern mit anschließender Hydrogenolyse zu den freien Phosphagenen praktisch ausschied, prüften wir die Anlagerung von Diphenyl-phosphoryl-cyanamid an die entsprechenden Amino-säureester.



- a: R = CH<sub>3</sub>; R' = H; R'' = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>  
 b: R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>; R' = H; R'' = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>  
 c: R = CH<sub>3</sub>; R' = H; R'' = -CH<sub>2</sub>·C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>·NO<sub>2</sub>(p)  
 d: R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>; R' = CH<sub>3</sub>; R'' = -CH<sub>2</sub>·C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>·NO<sub>2</sub>(p)  
 e: R = -CH<sub>2</sub>·C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; R' = H; R'' = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>  
 f: R = -CH<sub>2</sub>·C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; R' = H; R'' = -CH<sub>2</sub>·C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>·NO<sub>2</sub>(p)  
 g: R = -CH<sub>2</sub>·C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; R' = CH<sub>3</sub>; R'' = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>  
 h: R = R' = H; R'' = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>  
 i: R = H; R' = CH<sub>3</sub>; R'' = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>  
 k: R = H; R' = CH<sub>3</sub>; R'' = H  
 l: R = R' = R'' = H

Beim Erwärmen von Phosphorsäure-diphenylester-*S*-methylisothioureid (IIIa)<sup>18</sup> mit Quecksilberoxyd in Äthanol in Gegenwart eines Aminosäureesters fiel Methylmercaptid aus, das Salz V des Diphenylphosphoryl-cyanamides mit dem Aminosäureester blieb in Lösung, und bei etwa 110° vollzog sich die Isomerisierung von V zum Guanidinderivat VI innerhalb weniger Minuten. Aminosäureester ( $p_K$  von Glycin-äthylester = 7.7) erfordern etwas höhere Umlagerungstemperaturen als die weniger basischen aromatischen Amine ( $p_K$  2–5)<sup>18</sup>. Anstelle der empfindlichen Aminosäureester setzt man jedoch besser deren Salze ein. Wir stellten daher aus dem Isothioureid III mit Natriumcarbonat oder Triäthylamin in der Regel zuerst das Cyanamidsalz dar<sup>18</sup>, welches dann glatt mit Aminosäureester-hydrochloriden reagierte. Zur an-

<sup>13</sup> H. E. SHIVER, Chem. Reviews **6**, 421 [1929].

<sup>14</sup> A. M. ALEKSEVA, Biokhimiya **13**, 516 [1948]; C. A. **43**, 3051 [1949].

<sup>15</sup> K. GAEDE und R. GRÜTTNER, Naturwissenschaften **39**, 63 [1952].

<sup>16</sup> A. F. MCKAY, R. O. BRAUN und W. G. HATTON, Canad. J. Chem. **32**, 1012 [1954]; C. A. **49**, 15876i [1955].

<sup>17</sup> S. RATNER, B. PETRACK und O. ROCHOVANSKY, J. biol. Chemistry **204**, 95 [1953].

<sup>18</sup> F. CRAMER und A. VOLLMAR, Chem. Ber. **91**, 919 [1958].

schließenden Hydrogenolyse mußten Spuren von schwefelhaltigen Verbindungen entfernt werden, es war daher notwendig, die Ester VI durch Kristallisation sorgfältig zu reinigen. Da die Phosphagenester der Di-*phenyl*-phosphorsäure häufig schwer zur Kristallisation zu bringen waren, stellten wir außerdem den *N*-[Bis-*p*-nitro-benzyl-phosphoryl]-kreatin-äthylester (VI<sub>d</sub>) und den *N*-[Bis-*p*-nitro-benzyl-phosphoryl]-glykocyamin-methylester (VI<sub>c</sub>) dar. Zu besonders sauberen Verbindungen gelangt man, wenn man die intermediär auftretenden Cyanamidsalze V vor der Umsetzung mit den Aminosäureestern isoliert. Ausgehend von Phosphorsäure-bis-*p*-nitrobenzylester-*S*-methylisothioureid<sup>18)</sup> (III<sub>b</sub>) erhielten wir das kristalline Natriumsalz des Bis-*p*-nitrobenzyl-phosphoryl-cyanamides in 92-proz. Ausb. Aus dem Phosphorsäure-diphenylester-*S*-methylisothioureid (III<sub>a</sub>) ließ sich das entsprechende Guanidiniumsalz des Cyanamides herstellen.

## 2. PHOSPHORSÄUREDIESTER-GUANIDIDOCARBONSÄUREN

Beim Verseifen der Äthylester VI (R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) konnten wir unter verschiedenen Bedingungen stets nur die cyclischen Lactame erhalten<sup>19)</sup>. Um dieser störenden Nebenreaktion zu entgehen, setzten wir Aminosäure-benzylester-Salze mit Diphenyl-phosphoryl-cyanamid um. Die Phosphagen-benzylester VI<sub>e</sub> und VI<sub>g</sub> kristallisierten — im Gegensatz zu den entsprechenden Aminosäureestern<sup>20)</sup> — überraschend gut. Mit Palladiumkohle wurde die Benzylgruppe leicht abhydriert, so daß man die freien Säuren der Phosphagen-diphenylester VI<sub>h</sub> und VI<sub>i</sub> isolieren konnte. Die Säuren lösen sich in Alkalien und werden beim Ansäuern unverändert zurückerhalten, es tritt unter diesen Bedingungen keine Lactambildung ein.

## 3. DIE PHOSPHAGENE

Bei der Hydrogenolyse von *N*-[Diphenyl-phosphoryl]-kreatin (VI<sub>i</sub>) oder von *N*-[Diphenyl-phosphoryl]-kreatin-benzylester (VI<sub>g</sub>) mit Platinoxid in Methanol verblieb bei der Aufarbeitung ein kristallisiertes Produkt; durch Neutralisation der wäßr. Lösung mit Calciumcarbonat und Fällen mit Äthanol erhielten wir das kristalline Calciumsalz des Phosphokreatins (VI<sub>k</sub>). Nach IR-Spektrum und  $R_F$ -Wert erwies es sich als identisch mit einem Vergleichspräparat.

Durch Hydrogenolyse von *N*-[Diphenyl-phosphoryl]-glykocyamin (VI<sub>h</sub>) oder dessen Benzylester VI<sub>e</sub> erhielten wir das freie Phosphoglykocyamin (VI<sub>l</sub>). Die Verbindung ist in Wasser nur mäßig löslich und ungleich beständiger als die Kreatinphosphorsäure, durch Neutralisation ließ sich die freie Säure in das Cyclohexylamin-, Natrium- und Calciumsalz überführen.

Die Arbeit wurde in großzügiger Weise von der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT, dem FONDS DER CHEMIE und der ROCKEFELLER-STIFTUNG unterstützt. A. V. dankt dem LANDESGEWERBEAMT STUTTGART für ein Stipendium.

<sup>19)</sup> A. VOLLMAR, unveröffentlichte Versuche.

<sup>20)</sup> L. J. SCIARINI und J. S. FRUTON, J. Amer. chem. Soc. **71**, 2940 [1949].

## BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

1. *Sarkosin-benzylester-hydrochlorid* (entspr. *IVe*): 20 g *Sarkosin*<sup>21)</sup> wurden in eine Lösung von 38.6 g *Benzolsulfonsäure* in 111 g *Benzylalkohol* eingetragen und 4 Stdn. auf 120–130° erhitzt<sup>22)</sup>. Dabei destillierte i. Vak. langsam ein Teil des *Benzylalkohols* und das Wasser ab; man digerierte den abgekühlten Kolbeninhalt mit viel Äther, saugte ab und trocknete. Das Produkt (75 g) wurde mit 100 g *Benzylalkohol* und 1.5 g *Benzolsulfonsäure* erneut in der gleichen Weise behandelt. Ausb. 74 g (98% d. Th.); Schmp. 106–108° (aus Aceton/Äther). 68 g des Ester-benzolsulfonates wurden in 150ccm *Chloroform* gelöst und unter guter Kühlung portionsweise mit insgesamt 21 g *Triäthylamin* versetzt. Das benzolsulfonsaure *Triäthylamin* wurde durch Zugabe von 850ccm Äther abgeschieden und abgesaugt. Dann wurde trockener *Chlorwasserstoff* eingeleitet und das ausgefallene *Hydrochlorid* abgesaugt, mit Äther gewaschen und über *Natriumhydroxyd* getrocknet. Ausb. 36 g (83% d. Th.). Schmp. 178–179° (Zers.) (aus Methanol/Äther).

$C_{10}H_{13}NO_2 \cdot HCl$  (215.7) Ber. C 55.68 H 6.54 Cl 16.44 N 6.49  
Gef. C 55.88 H 6.86 Cl 16.39 N 6.53

2. *Glykocyamin-benzylester-benzolsulfonat* (entspr. *IVf*): Aus 5.85 g *Glykocyamin*, 8.7 g *Benzolsulfonsäure* und 25 g *Benzylalkohol* durch Erhitzen wie unter 1. Nach 4 Stdn. wurde mit Äther zur Kristallisation gebracht. Ausb. 13.8 g (76% d. Th.); Schmp. 169–170° (aus Äthanol/Äther oder Wasser).

$C_{10}H_{13}N_3O_2 \cdot C_6H_6O_3S$  (365.4) Ber. C 52.59 H 5.24 N 11.50 Gef. C 52.85 H 5.26 N 11.24

3. *N-[Diphenyl-phosphoryl]-glykocyamin-äthylester* (*VIb*): Aus 0.70 g *Glycin-äthylester-hydrochlorid* (entspr. *IVb*) wurde mit *Triäthylamin* der freie Ester hergestellt und mit 1.6 g *Phosphorsäure-diphenylester-S-methylisothioureid* (*IIIa*) und 0.65 g *HgO* in Äthanol bei 60° unter Benutzung eines Vibrators umgesetzt. Nach dem Abkühlen wurde filtriert, eingeeengt, in Toluol aufgenommen und 10 Min. unter Rückfluß gekocht, das Toluol i. Vak. abdestilliert, der Rückstand in Benzol aufgenommen und mit *Petroläther* versetzt. Nach dem Anreiben kristallisierten 1.02 g (54% d. Th.) *VIb* vom Schmp. 122–123° (aus wäbr. Äthanol und Benzol/Cyclohexan).

$C_{17}H_{20}N_3O_5P$  (377.3) Ber. N 11.14 P 8.21 Gef. N 11.05 P 8.05

4. *N-[Diphenyl-phosphoryl]-glykocyamin-methylester* (*VIa*): 12.8 g *IIIa* wurden in 150ccm Äthanol gelöst und mit 4.8 g *Quecksilberoxyd* und einer Lösung von 2.4 g *Natriumcarbonat* in 10ccm Wasser versetzt. Die Mischung wurde 2 Stdn. bei 60° mit einem Vibrator geschüttelt, 2 Stdn. unter Rückfluß erwärmt und über Nacht stehengelassen. Nach dem Filtrieren wurden 4.6 g *Glycin-methylester-hydrochlorid* (entspr. *IVa*) zugegeben und i. Vak. eingedampft. Der Rückstand wurde mit Toluol 20 Min. unter Rückfluß gekocht, das Toluol i. Vak. entfernt und der auskristallisierende Rückstand mit Wasser digeriert, abgesaugt und getrocknet. Ausb. 11.7 g (80% d. Th.) *VIa* vom Schmp. 125–126° (aus Benzol/Cyclohexan).

$C_{16}H_{18}N_3O_5P$  (363.3) Ber. N 11.57 P 8.52 Gef. N 11.46 P 8.55

5. *N-[Bis-p-nitrobenzyl-phosphoryl]-glykocyamin-methylester* (*VIc*): 1.0 g *Bis-p-nitrobenzyl-phosphoryl-cyanamid-natrium* (vgl. unter 11.) wurden in 30ccm *Isobutylalkohol* gelöst und mit 0.3 g *Glycin-methylester-hydrochlorid* (entspr. *IVa*) 20 Min. unter Rückfluß erhitzt. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. abdestilliert, der ölige Rückstand mit Wasser digeriert, dekantiert,

<sup>21)</sup> A. H. COOK und S. F. COX, J. chem. Soc. [London] 1949, 2337.

<sup>22)</sup> Vgl. H. K. MILLER und H. WAELSCH, J. Amer. chem. Soc. 74, 1092 [1952].

das Öl in heißem Äthanol gelöst, filtriert und mit Wasser ausgefällt. Nach Anreiben setzte Kristallisation ein. Ausb. 0.80 g (67% d. Th.); Schmp. 120–121° (aus wäbr. Äthanol).

$C_{18}H_{20}N_5O_9P$  (481.2) Ber. N 14.55 P 6.44 Gef. N 14.76 P 6.35

6. *N*-[*Bis-p*-nitrobenzyl-phosphoryl]-kreatin-äthylester (VI<sub>d</sub>): Darstellung wie unter 5. aus *Sarkosin-äthylester-hydrochlorid* (entspr. IV<sub>d</sub>). Schmp. 72–73° (aus Aceton/Petroläther).

$C_{20}H_{24}N_5O_9P$  (509.4) Ber. N 13.75 P 6.08 Gef. N 13.58 P 6.17

7. *N*-[*Diphenyl-phosphoryl*]-glykocyamin-benzylester (VI<sub>e</sub>): Wie unter 4. wurde eine Lösung von *Diphenyl-phosphoryl-cyanamid-natrium* in Äthanol dargestellt und mit 8.2 g *Glycin-benzylester-hydrochlorid* (entspr. IV<sub>c</sub>) versetzt. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt und mit 40ccm Isobutylalkohol 20 Min. unter Rückfluß erwärmt. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels i. Vak. wurde der Rückstand in Essigester aufgenommen, mit Wasser ausgeschüttelt, mit Natriumsulfat getrocknet und mit Petroläther versetzt. Das Rohprodukt wurde mit Tierkohle aus Methanol/Wasser und anschließend aus Benzol/Cyclohexan umkristallisiert. Ausb. 10.2 g (58% d. Th.); Schmp. 103–104°.

$C_{22}H_{22}N_3O_5P$  (439.4) Ber. N 9.56 P 7.05 Gef. N 9.46 P 7.28

8. *N*-[*Bis-p*-nitrobenzyl-phosphoryl]-glykocyamin-benzylester (VI<sub>f</sub>): 2.1 g *Bis-p*-nitrobenzyl-phosphoryl-cyanamid-natrium (vgl. unter 11.) wurden mit 1.1 g *Glycin-benzylester-hydrochlorid* (entspr. IV<sub>c</sub>) in 40ccm Isobutylalkohol wie unter 7. behandelt. Die getrocknete Essigesterphase wurde mit Cyclohexan bis zur Trübung versetzt und der Kristallisation überlassen. Ausb. 2.1 g (79% d. Th.); Schmp. 140° (aus Äthanol/Wasser).

$C_{24}H_{24}N_5O_9P$  (557.4) Ber. N 12.56 P 5.56 Gef. N 12.58 P 5.69

9. *N*-[*Diphenyl-phosphoryl*]-kreatin-benzylester (VI<sub>g</sub>): 6.4 g III<sub>a</sub> wurden mit 2.5 g Quecksilberoxyd, 2.3 g Triäthylamin, 70ccm Äthanol und 10ccm Wasser bei 60° 1 Stde. mit dem Vibrator gut geschüttelt. Nach Abfiltrieren des Mercaptids wurde frisches Quecksilberoxyd zugegeben und 30 Min. unter Rückfluß erhitzt. Nach Stehenlassen im Eisschrank wurde filtriert, i. Vak. das Lösungsmittel abgedampft, der Rückstand mit 60ccm Isobutylalkohol aufgenommen und eine Lösung von 4.6 g *Sarkosin-benzylester-hydrochlorid* (entspr. IV<sub>e</sub>) in 100ccm heißem Isobutylalkohol hinzugefügt. Nach 15 min. Kochen unter Rückfluß wurde das Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert, der Rückstand mit Benzol aufgenommen, mit Wasser ausgeschüttelt, getrocknet und mit Cyclohexan versetzt. Beim Anreiben setzte sofort krist. Fällung ein. Ausb. 6.1 g (67% d. Th.); Schmp. 103° (aus Methanol/Wasser).

$C_{23}H_{24}N_3O_5P$  (453.4) Ber. N 9.27 P 6.83 Gef. N 9.30 P 6.87

10. *Guanidiniumsalz des Diphenyl-phosphoryl-cyanamids*: Der Lösung von 12.8 g III<sub>a</sub> in 120ccm Äthanol wurden 5.0 g Quecksilberoxyd und eine Lösung von 3.6 g *Guanidincarbonat* in 20ccm Wasser zugefügt. Dann wurde 1 Stde. bei 60° mit dem Vibrator geschüttelt und 30 Min. unter Rückfluß gekocht. Nach Aufbewahren über Nacht bei 0° wurde vom Mercaptid abgesaugt, mit Äthanol nachgewaschen und die Filtrate i. Vak. eingedampft. Das farblose Öl wurde in Aceton gelöst, mit Äther bis zur Trübung versetzt und bei 0° zur Kristallisation gebracht. Durch Zugabe von Äther wurde die Kristallisation vermehrt. Ausb. 11.6 g (87% d. Th.). Durch Lösen in wenig kaltem Äthanol und Zugeben von Äther wurde umgelöst. Schmp. 136°.

$C_{13}H_{10}N_2O_3P \cdot CH_6N_3$  (333.3) Ber. N 21.01 P 9.29 Gef. N 20.85 P 9.34

Die Substanz lagert sich auch beim Kochen in Cyclohexanol unter Rückfluß nicht in das entsprechende Bisguanidinderivat um.

11. *Bis-p*-nitrobenzyl-phosphoryl-cyanamid-natrium: 4.4 g *Phosphorsäure-bis-p*-nitrobenzylester-*S*-methylisothioureid (III<sub>b</sub>) wurden in 90ccm Äthanol gelöst und mit 1.3 g Quecksilber-

oxyd und der Lösung von 0.6 g Natriumcarbonat in 20 ccm Wasser bei 60° mit einem Vibrator behandelt. Nach 2 Stdn. wurde noch unter Rückfluß mit frischem Quecksilberoxyd gekocht, dann abgekühlt und am nächsten Morgen vom Mercaptid abgesaugt. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. verdampft, der krist. Rückstand in warmem Äthanol aufgenommen und nach Zugabe von Aceton und Äther der Kristallisation überlassen. Ausb. 3.82 g (92% d. Th.); Schmp. 218° (Zers.).

$\text{Na}[\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_7\text{P}]$  (414.3) Ber. N 13.52 P 7.48 Gef. N 13.69 P 7.60

12. *N*-[Diphenyl-phosphoryl]-glykocyamin (VIh): 4.4 g VIe wurden in Methanol mit Palladium/Kohle (5% Pd) hydriert. Nach Aufnahme der theoret. Menge Wasserstoff wurde filtriert, eingedampft, in Aceton aufgenommen und durch Zugabe von etwas Wasser zur Kristallisation gebracht. Ausb. 3.25 g (93% d. Th.); Schmp. 144° (aus Äthanol/Wasser).

$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_5\text{P}$  (349.3) Ber. N 12.03 P 8.87 Gef. N 11.90 P 8.99

13. *N*-[Diphenyl-phosphoryl]-kreatin (VIi): 4.33 g VIg wurden wie unter 12. hydriert und das Produkt aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Ausb. 3.28 g (90% d. Th.); Schmp. 140 bis 141° (abhängig von der Erhitzungsgeschwindigkeit).

$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_5\text{P}$  (363.3) Ber. N 11.56 P 8.52 Gef. N 11.45 P 8.53

14. Phosphokreatin (VIk): 1.8 g VIi wurden in Methanol gelöst und mit Platinoxid hydriert. Nach Abfiltrieren des Katalysators wurde das Lösungsmittel i. Vak. abgedampft und der Rückstand durch Zugabe von Aceton zur Kristallisation gebracht. Die freie Kreatinphosphorsäure war jedoch hygroskopisch und ließ sich schlecht reinigen. Sie wurde in wenig Wasser gelöst, mit Calciumcarbonat digeriert, filtriert und durch Versetzen mit Äthanol zur Kristallisation gebracht. Das feinkrist. Calciumsalz des Phosphokreatins wurde abgesaugt und i. Vak. über Schwefelsäure bei Raumtemperatur getrocknet. Ausb. 1.0 g (62% d. Th.).

$\text{Ca}[\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_3\text{O}_5\text{P} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}]$  (321.3) Ber. C 14.95 H 5.02 N 13.08 P 9.64  
Gef. C 15.01 H 4.74 N 13.12 P 9.87

Das gleiche Präparat erhält man, wenn man die mit Calciumcarbonat digerierte Lösung ( $p_{\text{H}}$  5.7) mit Calciumchlorid versetzt, mit Natronlauge schwach alkalisch macht und dann mit Äthanol fällt. Das IR-Spektrum des Calciumsalzes war identisch mit dem eines handelsüblichen Präparates. Der *R<sub>F</sub>*-Wert in *n*-Propanol/Ammoniak/Wasser (6:3:1), aufsteigend, Papier Schleicher & Schüll 2043 b, betrug 0.28. Bei der Titration mit Natronlauge zeigten sich Puffermaxima bei  $p_{\text{H}}$  2.7 und 4.5.

Man kann auf die Stufe des Diphenylphosphoryl-kreatins (VIi) verzichten und direkt vom Diphenylphosphoryl-kreatin-benzylester (VIg) ausgehen.

Kreatinphosphorsaures Natrium wurde erhalten, indem nach der Hydrierung mit der berechneten Menge Natronlauge neutralisiert und mit Äthanol zur Kristallisation gebracht wurde. Wir erhielten ein in feinen Nadeln kristallisierendes Tetrahydrat<sup>3)</sup>. Ausb. 47% d. Th.

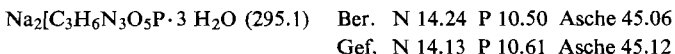
$\text{Na}_2[\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_3\text{O}_5\text{P} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}]$  (327.2) Ber. N 12.84 P 9.47 Asche 40.64  
Gef. N 12.28 P 10.41 Asche 43.24

15. Phosphoglykocyamin (VII): 1.75 g VIh wurden in Methanol mit Platinoxid hydriert. Während der Hydrogenolyse fiel ein farbloses Kristallpulver aus, welches nach Aufnahme der theoret. Menge Wasserstoff mit dem Katalysator abfiltriert und durch Digerieren in Wasser gelöst wurde. Durch Zugabe von Aceton wurde die freie Säure zur Kristallisation gebracht. Schmp. 150°. Trocknen bei 95° und 14 Torr über  $\text{P}_2\text{O}_5$ .

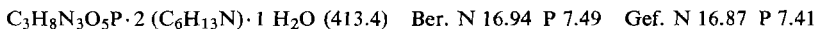
$\text{C}_3\text{H}_8\text{N}_3\text{O}_5\text{P}$  (197.1) Ber. N 21.32 P 15.71 Gef. N 21.24 P 15.59

Wir erhielten das Natriumsalz, indem wir das abfiltrierte Säure/Katalysator-Gemisch mit einer wäsr. Lösung von 0.4 g NaOH in 25 ccm Wasser behandelten, filtrierten und mit Äthanol

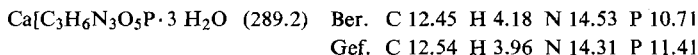
zur Kristallisation brachten. Ausb. 1.17 g (80% d. Th.). Trocknen bei 29° über konz. Schwefelsäure i. Vak.



Das *Cyclohexylaminsalz* wurde durch Lösen der freien Säure mit wäbr. Cyclohexylamin und Fällen mit Aceton isoliert. Ausb. über 90% d. Th. Trocknen bei 70° i. Vak.



Zur Isolierung des *Calciumsalzes* wurde das Gemisch mit dem Katalysator mit Wasser und Calciumcarbonat digeriert, abfiltriert und die klare wäbr. Lösung mit Äthanol versetzt. Die lufttrockene Substanz kristallisierte mit 3 Moll. Wasser.



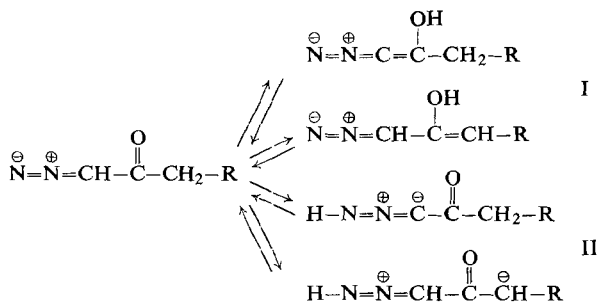
EGON FAHR

## Über das Auftreten isobestistischer Punkte in den UV-Absorptionsspektren von Carbonyl-diazo-Verbindungen

Aus dem Chemischen Institut der Universität Würzburg  
(Eingegangen am 20. Oktober 1958)

Das Auftreten isobestistischer Punkte in den UV-Absorptionsspektren von Carbonyl-diazo-Verbindungen, aufgenommen in Gemischen von hydroxylgruppenhaltigen und nicht-hydroxylgruppenhaltigen Lösungsmitteln, ist nicht, wie von F. A. MILLER und W. B. WHITE angenommen wurde, auf eine Tautomerie der Diazoverbindung, sondern auf eine Addition des hydroxylgruppenhaltigen Lösungsmittels an die Carbonyl-diazo-Verbindung zurückzuführen.

Vor einiger Zeit wurde von F. A. MILLER und W. B. WHITE<sup>1)</sup> darauf hingewiesen, daß die in verschiedenen Acetonitril/Wasser-Gemischen aufgenommenen UV-Absorptionsspektren des 1,8-Bis-diazo-octandions-(2.7) einen isobestistischen Punkt zeigen.



<sup>1)</sup> J. Amer. chem. Soc. 79, 5974 [1957].