

wurde eingedampft und mit 200 ccm Äther aufgenommen. Eine geringe Fällung wurde abfiltriert. 680 mg; Schmp. 92°; wahrscheinlich III, R = Thymyl, R' = H (vgl. B. 7.). Das Filtrat wurde i. Vak. eingedampft. Es blieb ein Öl, das bei Zusatz von Impfkristallen sofort, sonst erst nach einigen Wochen kristallisierte. Ausb. 15.7 g (95% d. Th.), Schmp. 70–73°.

$C_{16}H_{19}N_4O_2P$ (330.3) Ber. N 16.96 P 9.40 Gef. N 16.97 P 9.50

7. *O*-Thymyl-imidazolylphosphonat (III, R = Thymyl, R' = H): Die Benzol-Lösung von 100 mMol Diimidazolid aus dem doppelten Ansatz von B. 6. wurde i. Vak. auf ca. 100 ccm eingengt und dann mit 1.7 ccm Wasser (95 mMol) in 100 ccm Aceton versetzt. Das Salz kristallisierte unter Erwärmung aus. Nach Zugabe von 50 ccm Äther wurde filtriert und mit Äther/Aceton (1:1) gewaschen. Ausb. 32.0 g (92% d. Th.); Schmp. 93°.

Ein Produkt vom gleichen Schmp. und R_F -Wert wurde aus Thymylphosphat und II gewonnen (s. Tabelle).

HEINZ SCHALLER, HEINZ A. STAAB und FRIEDRICH CRAMER

Zur Chemie der „energiereichen Phosphate“, XII¹⁾

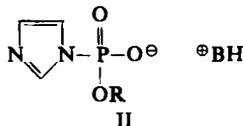
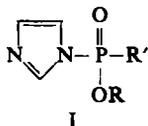
Phosphorylierungsreaktionen mit Salzen der Imidazolylphosphonate und Diimidazolylphosphinate

Aus dem Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule Darmstadt
und dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Heidelberg

(Eingegangen am 18. Oktober 1960)

Salze von Imidazolyl-(1)-phosphonaten (II) sind Phosphorylierungsmittel, ihre Reaktivität ist in starkem Maße abhängig von der Protonenkonzentration. Sie bilden mit Aminen Phosphorsäureester-amide, mit Alkoholen Phosphorsäurediester und mit Phosphorsäureestern asymm. Pyrophosphate. Die drei Reaktionsarten ließen sich auch mit dem Imidazolid der Adenosin-5'-phosphorsäure durchführen. Diimidazolyl-(1)-phosphinat (III) reagiert als bifunktionelles Reagenz beidseitig entsprechend zu Diamiden oder Diestern der Phosphorsäure bzw. zu P^1, P^3 -Diestern (VII) der Triphosphorsäure. Die p_H -Abhängigkeit der Hydrolyse von II und III wurde untersucht.

Die vollveresterten Mono- oder Diimidazole der Phosphorsäure (I, R = Alkyl oder Aryl, R' = Imidazolyl-(1) oder -O-Aryl bzw. -O-Alkyl) unterscheiden sich in ihren Reaktionen grundsätzlich von den Salzen der Imidazolyl-(1)-phosphonate II;



während I in Wasser rasch hydrolysiert werden und in ihren Reaktionen sich ähnlich wie Säurechloride verhalten²⁾, sind die Phosphonate II in alkalisch wässriger Lösung

¹⁾ XI. Mittel.: F. CRAMER, H. SCHALLER und H. A. STAAB, Chem. Ber. **94**, 1612 [1961], vorstehend.

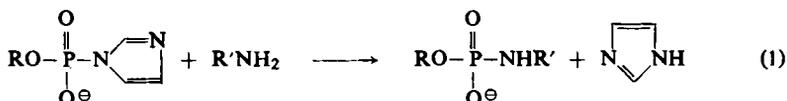
²⁾ J. BADDILEY, J. G. BUCHANAN und R. LETTERS, J. chem. Soc. [London] **1956**, 2812.

beständig; ihre Reaktionsfähigkeit ist durch ihre starke pH -Abhängigkeit gekennzeichnet. Die Darstellung beider Verbindungstypen wurde in der XI. Mitteilung¹⁾ beschrieben, in dieser Publikation werden die Reaktionen von II mitgeteilt, in der XIII.³⁾ die Reaktionen von I und II verglichen.

Da II nur als Salz schwacher Basen gut phosphoryliert, wurde meist mit den gut löslichen Imidazoliumsalzen gearbeitet. Von diesen ist nur das Monothymyl-imidazolylphosphonat (II, B = Imidazol, R = C₁₀H₁₃) kristallin; es wurde daher meist mit diesem gearbeitet oder der Monophenylester (II, B = Imidazol, R = C₆H₅) in Lösung direkt nach der Synthese verwendet.

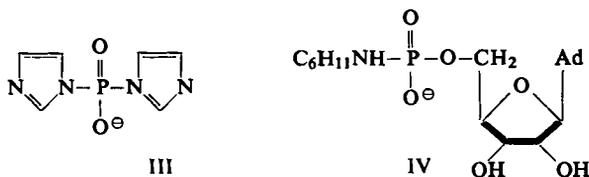
1. PHOSPHORSÄUREESTER-AMIDE AUS II UND AMINEN

Die Spaltung durch primäre aliphatische Amine (Gl. 1) findet wegen deren starker Basizität bei Raumtemperatur nur sehr langsam statt.



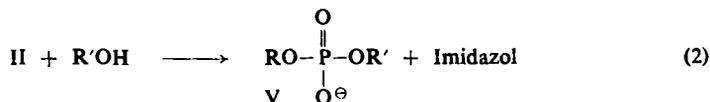
Man kann sogar Imidazolylphosphonate als Cyclohexylammoniumsalze ausfällen. Auch die schwächeren Basen, z. B. Anilin, reagieren bei Raumtemperatur sehr langsam. Die Reaktion mit wäßrigem Ammoniumsalz ist nach 7 Tagen fast vollständig. Eine Phosphorylierung des Guanidins gelang nicht; die Lösung der freien Base ist so stark alkalisch, daß die Acylierungsreaktion wesentlich langsamer verläuft als die gleichzeitig erfolgende Zersetzung des Guanidins.

Die Aminolyse des Diimidazolylphosphinates (III) wurde nur chromatographisch verfolgt. Sie führt zu einem Gemisch von Mono- und Diamiden der Orthophosphorsäure (*N*-substituierten Phosphorsäure-amiden und Diamiden). Die dargestellten Verbindungen sind im Versuchsteil aufgeführt. Das Imidazolid der Adenosin-5'-phosphorsäure lieferte mit Cyclohexylamin in 95-proz. Ausbeute die Verbindung IV.



2. PHOSPHORSÄUREDIESTER AUS II UND ALKOHOLEN

Zur Darstellung von Diestern (V) phosphoryliert man am besten mit den Imidazoliumsalzen von II, die Reaktion verläuft dann schneller als die Aminolyse.



Zusatz von starken Basen bremst die Reaktion beträchtlich, wie Tab. 1 zeigt.

³⁾ F. CRAMER und H. SCHALLER, XIII. Mitteil.: Chem. Ber. 94, 1634 [1961], nachstehend.

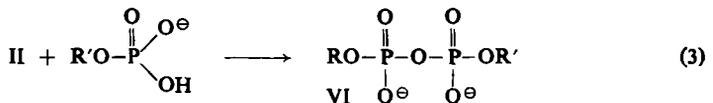
Tab. 1. Dauer der Reaktion von *O*-Phenyl-imidazolylphosphonat mit 10 Mol CH₃OH bei 60° bis zum quantitativen Umsatz

Kation	<i>p</i> K _b der Base	Zeit
Imidazolium	7.1	3 Stdn.
(C ₂ H ₅) ₃ [⊕] NH	3.93	12 Stdn.
Na [⊕]	~0.0	72 Stdn.

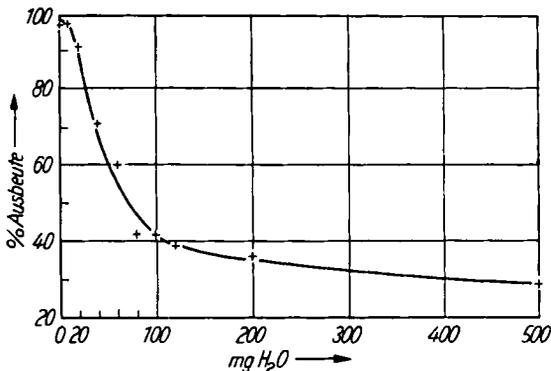
Zusatz eines Protonendonators wie Imidazolium- oder Pyridiniumchlorid beschleunigt die Reaktion; so reagiert eine methanolische Lösung des Natrium-*O*-phenyl-imidazolylphosphonates nach Zusatz von Imidazoliumchlorid statt in 3 Tagen schon in 5 Stdn. vollständig zum Diester.

3. UNSYMMETRISCHE PYROPHOSPHATE AUS II UND PHOSPHORSÄUREN

Die Reaktion (3) verläuft quantitativ und, sofern man zwei verschieden substituierte Phosphorsäuren verwendet, ausschließlich zum unsymmetrisch disubstituierten Diphosphat (VI). Sie scheint uns darin jeder anderen Diphosphatsynthese überlegen zu sein. (Nur die beiden Phosphorylierungsmethoden mit isolierten, nicht reversiblen Zwischenprodukten, die Amidmethode⁴⁾ und die Triesterdiphosphatmethode⁵⁾, geben ähnlich gute Ausbeuten.)



Es muß — wie bei der Amid-Methode — in absoluten Lösungsmitteln gearbeitet werden, da sonst die Ausbeuten absinken.



Abbild. 1. Ausbeuten an Diphenyldiphosphat aus Reaktion (3) (R = R' = C₆H₅) bei Zusatz von Wasser. Reaktionsbedingungen s. Versuchsteil D. 3.

Durch Hydrolyse des Imidazolids kann die ursprünglich aktivierte Phosphorsäure nun auch als spaltende Säure auftreten; es entsteht dann auch das symmetrische Pyrophosphat (VI, R = R'). Um Hydrolyse zu vermeiden, wird bei der Darstellung

⁴⁾ V. M. CLARK, G. W. KIRBY und A. R. TODD, J. chem. Soc. [London] 1957, 1497.

⁵⁾ F. CRAMER und R. WITTMANN, Chem. Ber. 94, 328 [1961].

der Imidazolidlösung mit einem Überschuß von Carbonyldiimidazol gearbeitet und dieser erst kurz vor der Reaktion mit der zweiten Phosphorsäure durch Phenole oder die berechnete Menge Methanol zerstört. (Phenole reagieren nicht mit II, die Alkoholyse des Carbonyldiimidazols verläuft viel schneller als die von II; eine Spur Diesterphosphat stört nicht bei der Aufarbeitung.) Andernfalls entstehen immer geringe Mengen an symmetrischem Pyrophosphat.

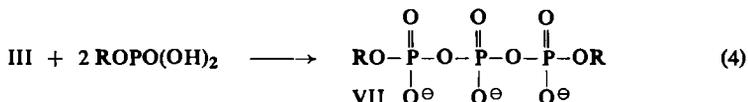
Es wurden folgende $P^1.P^2$ -disubstituierte Diphosphate isoliert:

-diphosphat	Ausb. in % d. Th.
$P^1.P^2$ -Diphenyl-	98.5
$P^1.P^2$ -Bis-[4-chlor-phenyl]-	96
$P^1.P^2$ -Dimethyl-	100
P^1 -Phenyl- P^2 -thymyl-	96
P^1 -Phenyl- P^2 -naphthyl-(2)-	87
P^1 -Phenyl- P^2 -[4-chlor-phenyl]-	84
P^1 -Thymyl- P^2 -naphthyl-(2)-	52
P^1 -Thymyl- P^2 -[4-chlor-phenyl]-	57

Die Verwendung von *Orthophosphorsäure* als spaltende Säure führt zu den Monoesterdiphosphaten (VI, $R' = H$).

Die Durchführung dieser Versuche wird erschwert durch die Bildung von Imidazoliumphosphaten, die in wasserfreien organischen Lösungsmitteln unlöslich sind. Durch Zusatz von Triäthylamin erreicht man zwar wieder eine homogene Lösung, doch wird die Reaktionsgeschwindigkeit so stark herabgesetzt, daß immer noch Ausgangsmaterial vorhanden bleibt.

Diimidazolylphosphinat (III) gibt mit Phosphorsäure-monoestern (Gl. 4) in Pyridin ein schwer zu trennendes Gemisch von Polyphosphaten.



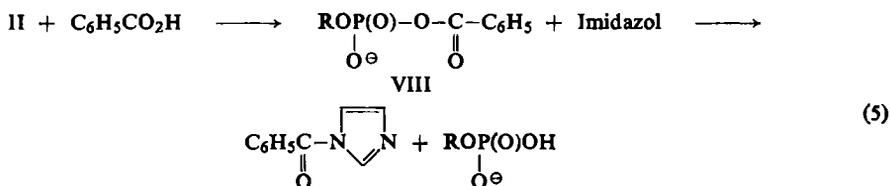
Bei Zusatz starker Basen ist das Diestertriphosphat VII jedoch das Hauptprodukt der Reaktion. Die Diphosphate sind jetzt nur als Spuren vorhanden und können als Cyclohexylammoniumsalze abgeschieden werden. Eine Trennung von Monoestermonophosphat gelingt durch fraktionierte Fällung des Cyclohexylammoniumsalzes. Das $P^1.P^3$ -Diphenyltriphosphat wurde so in 65-proz. Ausbeute erhalten.

4. HYDROLYSE UND SONSTIGE REAKTIONEN VON II

Die Imidazolylphosphonate II reagieren mit Benzoesäure offenbar zunächst zu Phosphorsäure-Carbonsäure-Anhydriden (VIII), die jedoch in Gegenwart von Imidazol zu Benzoylimidazol weiterreagieren⁶⁾ (Gl. 5).

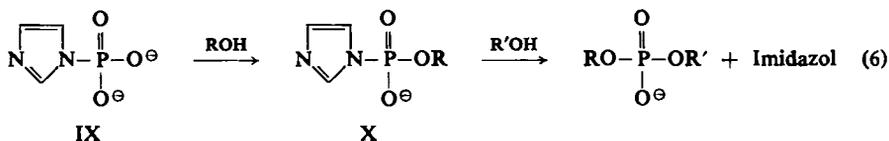
⁶⁾ Versuche von Dipl.-Chem. E. EHRHARDT, Darmstadt; vgl. a. W. P. JENCKS und J. CARRUOLO, J. biol. Chemistry 234, 1272 [1959].

Bisher ließen sich keine definierten Reaktionsprodukte fassen; nach der Zugabe von Anilin konnten 34% d. Th. an Benzanilid isoliert werden. Die Reaktion bedarf noch der weiteren Klärung.



Bei der *Hydrolyse* von II und III zeigt sich eine große p_{H} -Abhängigkeit. Die Hydrolyse des Monophenyl-imidazolylphosphonates (II, $\text{R} = \text{C}_6\text{H}_5$) ist bei p_{H} 6 nach 25 Stdn. bei Raumtemperatur vollständig. Bei p_{H} 4 ist schon nach 5 Stdn. kein Imidazolid mehr nachzuweisen. Diimidazolylphosphinat (III) verliert bei p_{H} 6 sofort eine Imidazolidgruppe, während das Monoimidazolylphosphonat langsamer zu Orthophosphat hydrolysiert ($T_{1/2}$ ca. 5 Stdn.) wird. Bei p_{H} 10 beträgt dagegen $T_{1/2}$ für die erste Hydrolyse ca. 15 Stdn., gleichzeitig treten nur Spuren von Orthophosphat auf.

Unter diesen schonenden Hydrolysebedingungen sind Phosphorsäure-mono- und -diester stabil. Es bietet sich daher die Möglichkeit, die Imidazolylgruppe als „schützende Gruppe“ für Orthophosphorsäure beim Aufbau komplizierterer Phosphorsäure-derivate zu verwenden. Die zur Zeit meist benutzte Schutzgruppe, die Benzylgruppe, muß durch Hydrogenolyse⁷⁾ oder anionische Spaltung abgelöst werden^{8,9)}. Nach der Veresterung von IX mit einem der konventionellen Wasserabspaltungsmittel wie Carboodiimid oder Trichloracetonitril ist in X die Imidazolid-Gruppe wieder



reaktionsfähig, sie kann abhydrolysiert oder zu weiteren Reaktionen benutzt werden. Anwendungen dieser Reaktion zur Synthese von Nucleotid-Derivaten und Polynucleotiden werden gegenwärtig von uns untersucht.

Wir danken der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT, der ROCKEFELLER-STIFTUNG, der BADISCHEN ANILIN- & SODA-FABRIK sowie dem VERBAND DER CHEMISCHEN INDUSTRIE für die Unterstützung unserer Arbeiten.

⁷⁾ F. ATHERTON, H. OPENSHAW und A. R. TODD, J. chem. Soc. [London] 1945, 382.

⁸⁾ V. M. CLARK und A. R. TODD, J. chem. Soc. [London] 1950, 2030.

⁹⁾ L. ZERVAS und J. DILARIS, Ber. dtsh. chem. Ges. 89, 925 [1956].

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

A. *Papierchromatographie*

Alle Reaktionsansätze wurden zunächst papierchromatographisch geprüft und die Aufarbeitung chromatographisch verfolgt. Die Reinheit der Analysesubstanzen wurde papierchromatographisch gesichert. Papierchromatographie ist hier ein empfindlicheres Reinheitskriterium als die Analyse.

Lösungsmittel A: Propanol-(2)/konz. Ammoniak/Wasser (8:1:1); B: Propanol-(2)/konz. Ammoniak/Wasser (6:3:1); C: Propanol-(2)/wäßr. 1-proz. Ammoniumsulfat (2:1).

Papier: Schleicher & Schüll 2043 b oder Macherey & Nagel 6022, absteigend. Sprühreagenz: Ammoniummolybdat-Reagenz.

Tabelle der R_F -Werte

	Gemisch			Gemisch	
	A	B		A	B
Orthophosphat		0.21	Phosphorsäure-mono-[4-chlor-	0.73	
Monophenylphosphat	0.10	0.50	phenyl]-ester-cyclohexylamid		
Monothymylphosphat	0.29	0.72	Phosphorsäure-mono-phenyl-	0.71	
Mono- β -naphthylphosphat	0.15		ester-cyclohexylamid		
[4-Chlor-phenyl]-phosphat	0.20	0.56	Phosphorsäure-mono-benzyl-	0.66	
[β -Methoxy-äthyl]-phosphat	0.08		ester-cyclohexylamid		
Methylphosphat	0.05		Phosphorsäure-mono-	0.42	
Diphenylphosphat	0.8		phenylester-amid		
Dibenzylphosphat	0.77		Phosphorsäure-mono-	0.65	
Dimethylphosphat	0.44		thymylester-amid		
Methyl-phenyl-phosphat	0.59		Phosphorsäure-mono-	0.65	
Äthyl-phenyl-phosphat	0.65		phenylester-phenylamid		
Isopropyl-phenyl-phosphat	0.68		Phosphorsäure-mono-	0.72	
Butyl-phenyl-phosphat	0.75		thymylester-phenylamid		
Amyl-phenyl-phosphat	0.78		Imidazol	0.75	0.84
Octyl-(2)-phenyl-phosphat	0.85		<i>O</i> -Methyl-imidazolylphosphonat	0.53	
Phenyl-benzyl-phosphat	0.75		<i>O</i> -[β -Methoxy-äthyl]-	0.56	
Phenyl-isopropyliden-	0.58		imidazolylphosphonat		
adenosylphosphat			<i>O</i> -Benzyl-imidazolyl-	0.65	
Methyl-thymyl-phosphat	0.74		phosphonat		
Tribenzylphosphat	0.89		<i>O</i> -Phenyl-imidazolyl-	0.69	
Trimethylphosphat	0.83		phosphonat		
Dimethyl-phenyl-phosphat	0.86		<i>O</i> -[4-Chlor-phenyl]-	0.71	
Phosphorsäure-phenylester-	0.95		imidazolylphosphonat		
di- <i>n</i> -butylamid			<i>O</i> - β -Naphthyl-imidazolyl-	0.64	
Phosphorsäure-phenylester-	0.80		phosphonat		
dianilid			<i>O</i> -Thymyl-imidazolyl-	0.75	0.89
Phosphorsäure-tri-	0.90		phosphonat		
<i>n</i> -butylamid			Imidazolylphosphonsäure	0.07	0.36
Phosphorsäure-diphenylester-	0.95		Diimidazolylphosphinsäure	0.58	0.82
<i>n</i> -butylamid			anorganisches Diphosphat	0.00	0.11
Phosphorsäure-monothymyl-	0.77				
ester-cyclohexylamid					

	Gemisch A	Gemisch B	Gemisch C
<i>P</i> ¹ . <i>P</i> ² -Diphenyl-diphosphat	0.45	0.80	
<i>P</i> ¹ . <i>P</i> ² -Dithymyl-diphosphat	0.77		
<i>P</i> ¹ . <i>P</i> ² -Di-β-naphthyl-diphosphat	0.50		
<i>P</i> ¹ . <i>P</i> ² -[4-Chlor-phenyl]-diphosphat	0.56		
<i>P</i> ¹ . <i>P</i> ² -Dibenzyl-diphosphat	0.52		
<i>P</i> ¹ . <i>P</i> ² -[β-Methoxy-äthyl]-diphosphat	0.26		
<i>P</i> ¹ -Phenyl. <i>P</i> ² -thymyl-diphosphat	0.65		
<i>P</i> ¹ -Phenyl. <i>P</i> ² -[4-chlor-phenyl]-diphosphat	0.52		
<i>P</i> ¹ -Phenyl. <i>P</i> ² -β-naphthyl-diphosphat	0.49		
<i>P</i> ¹ -Phenyl. <i>P</i> ² -[β-methoxy-äthyl]-diphosphat	0.50		
<i>P</i> ¹ -Thymyl. <i>P</i> ² -β-naphthyl-diphosphat	0.66		
<i>P</i> ¹ -Thymyl. <i>P</i> ² -[4-chlor-phenyl]-diphosphat	0.68		
<i>P</i> ¹ -Thymyl. <i>P</i> ² -[β-methoxy-äthyl]-diphosphat	0.56		
<i>P</i> ¹ . <i>P</i> ³ -Dimethyl-triphosphat	0.38	0.85	
<i>P</i> ¹ . <i>P</i> ³ -Diphenyl-triphosphat	0.24	0.66	
Monothymyldiphosphat	0.21	0.63	
Adenosin-3'-phosphat			0.42
Adenosin-2'.3'-cyclophosphat			0.50
Adenosin-5'-phosphat	0.03	0.24	0.33
Adenosin-5'-phosphonamidsäure	0.13	0.36	
Adenosin-5'-phosphonsäure-cyclohexylamid	0.36	0.73	0.72
Adenosin-5'-phosphorsäure-methylester	0.25	0.51	0.55
Diadenosyl-diphosphat			0.22
<i>P</i> ¹ -Phenyl. <i>P</i> ² .5'-adenosyl-diphosphat	0.15	0.54	
<i>P</i> ¹ -Thymyl. <i>P</i> ² .5'-adenosyl-diphosphat	0.28	0.71	
5'-Adenosin-monophosphorsäure-imidazolid	0.30	0.58	0.58

B. Phosphorsäureester-amide

1. *Phosphorsäure-monophenylester-amid*: 600 mg *Monophenylphosphat* (3.45 mMol) wurden in 10 ccm Acetonitril unter Rühren gelöst und mit 600 mg *N.N'*-*Carbonyl-diimidazol* umgesetzt. Nach 10 Min. war die CO₂-Entwicklung beendet. Nun wurden 10 ccm konz. *Ammoniak*-Lösung zugesetzt, auf 70° erwärmt und die Reaktion chromatographisch verfolgt. Nach 5 Tagen war kein Imidazolid mehr vorhanden. Jetzt wurde 1 ccm *Cyclohexylamin* zugesetzt und die Fällung mit Aceton vervollständigt. Ausb. 633 mg (68% d. Th.); Schmp. 186—188°.



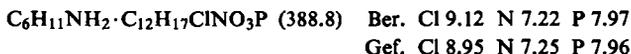
Aus dem Filtrat wurden weitere 115 mg (13% d. Th.) erhalten, die jedoch chromatographisch nicht rein waren (Schmp. 186—190°).

2. *Phosphorsäure-monothymylester-amid*: Die Lösung von 350 mg *O*-*Thymyl-imidazolyl-phosphonat* (1 mMol) in 2 ccm konz. *Ammoniak* wurde 7 Tage bei 20° belassen. Dann zeigte das Chromatogramm mit Lösungsm. A nur noch einen Fleck von *R_F* 0.7. Es wurde zur Trockne eingedampft, mit 10 ccm Aceton aufgenommen und 5 ccm Äther zugesetzt. Nach 12 Stdn. bei 20° wurde abfiltriert. Ausb. 230 mg (93% d. Th.); Schmp. 140°.



3. *Phosphorsäure-[4-chlor-phenyl]-ester-cyclohexylamid*: 210 mg *Mono-[4-chlor-phenyl]-phosphat* (1 mMol) wurden in 5 ccm Acetonitril und 100 mg Triäthylamin gelöst und 200 mg *N.N'*-*Carbonyl-diimidazol* zugegeben. Nach 15 Min. bei Raumtemperatur wurde mit 0,5 ccm

Cyclohexylamin (4 mMol) 12 Stdn. auf 70° erwärmt, dann i. Vak. eingedampft, mit Aceton/Äther (1:1) aufgenommen und gewaschen. Ausb. 361 mg (93% d. Th.) an Cyclohexylammoniumsalz, Schmp. 195—198°.



4. *Phosphorsäure-monophenylester-anilid*: 0.85 mMol *O-Phenyl-imidazolylphosphonat* (*Imidazoliumsalz*) in 1 ccm Aceton wurden mit 150 mg *Anilin* versetzt und auf 65° erwärmt. Nach 15 Stdn. war die Reaktion im Chromatogramm quantitativ. Jetzt wurden 0.2 ccm *Cyclohexylamin* und 10 ccm Aceton/Äther (1:1) zugegeben und nach 2 Stdn. bei 20° filtriert und mit Aceton und Äther gewaschen. Ausb. 277 mg (95% d. Th.); Schmp. 190—195°.

5. *Cyclohexylamid der Adenosin-5'-phosphorsäure (IV)*: 5 ccm einer Lösung von Adenosinmonophosphat (AMP)-imidazolid in Aceton/Dimethylformamid¹⁾, enthaltend 0.64 mMol, wurden mit 1 ccm *Cyclohexylamin* auf 60° erwärmt. Chromatogramm B zeigte nach 1/4 Stde. nur AMP-Imidazolid (R_F 0.58) — kein AMP —, nach 5 Stdn. etwa 50% AMP-Cyclohexylamid (R_F 0.73), nach einer Woche bei 40° nur noch das Amid. Jetzt wurde mit 200 mg NaJ in 10 ccm Aceton gefällt; 180 mg. Aus dem Filtrat fielen beim Verdünnen mit Äther nochmals 95 mg aus. Ausb. 275 mg (95% d. Th.); Schmp. 185—215°. Die Substanz war in Schmp. und R_F -Wert identisch mit einem nach l. c.⁵⁾ dargestellten Produkt.

6. *Adenosin-5'-phosphorsäure-amid*: 0.42 mg AMP-Imidazolid (Na-Salz) wurden in 1 ccm konz. *Ammoniak* gelöst und auf 50° erwärmt. Nach 3 Tagen enthielt die Lösung nur AMP-NH₂, R_F (A) 0.14, R_F (B) 0.37.

C. Phosphorsäureester

1. *Methyl-phenyl-phosphat*: 0.85 mMol *O-Phenyl-imidazolylphosphonat* (*Imidazoliumsalz*) in 1 ccm Aceton wurden mit 65 mg *Methanol* (2 mMol) versetzt und 10 Stdn. bei 50° gehalten. Dann wurde i. Vak. zur Trockne eingedampft, mit 2 ccm Aceton aufgenommen, 150 mg NaJ in 2 ccm Aceton und 1 ccm Äther zugegeben, filtriert und gut mit Aceton gewaschen. Ausb. 169 mg (95% d. Th.); Schmp. 215°.



270 mg des Na-Salzes des Imidazolides (0.935 mMol) wurden in 1 ccm *Methanol* gelöst und auf 60° erhitzt. Nach 3 Tagen zeigte das Chromatogramm nur noch einen Fleck vom R_F (A) 0.59. Nun wurde wie oben aufgearbeitet. Ausb. 180 mg (92% d. Th.); Schmp. 215°.

2. *Isopropyl-phenyl-phosphat*: 0.85 mMol *O-Phenyl-imidazolylphosphonat* (*Imidazoliumsalz*) in 1 ccm Aceton wurden mit 0.3 ccm *Isopropylalkohol* (4 mMol) 15 Stdn. auf 60° erwärmt. Dann wurde i. Vak. eingedampft und mit 2 ccm Aceton, 0.2 ccm *Cyclohexylamin* und 2 ccm Äther versetzt. Ausb. 214 mg (80% d. Th.); Schmp. 112°.



3. *Octyl-(2)-phenyl-phosphat*: 1 ccm Imidazolidlösung wie oben (0.85 mMol) wurde mit 0.5 ccm *Octanol-(2)* (3.16 mMol) auf 60° gehalten. Nach 15 Stdn. war das Imidazolid verbraucht und nur eine neue Substanz vom R_F (A) 0.85 im Chromatogramm zu sehen. Es gelang weder eine Cyclohexylamin[⊖]- noch eine Na[⊖]-Fällung.

4. *Dimethylphosphat*: 2.65 g III (*Imidazoliumsalz*) (10 mMol) wurden in 10 ccm *Methanol* (250 mMol) gelöst und 15 Stdn. auf 60° erwärmt. Dann wurde zur Trockne eingedampft und mit Aceton aufgenommen. Es kristallisierte das chromatographisch reine *Dimethylphosphat*. Ausb. 1.90 g (98% d. Th.); Schmp. 123°.



Tab. 2. Synthese von unsymmetrischen Diesterphosphaten aus Imidazolylphosphonaten

B	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{N} \text{---} \text{N} \text{---} \text{P} \text{---} \text{OR} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{N} \quad \text{Oe} \text{ @ BH} \end{array}$		$\begin{array}{c} \text{KO} \quad \text{U} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{P} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{R'O} \quad \text{Oe} \text{ @ B'H} \end{array}$		Zeit	Temp.	Ausbente mg	Schmp.	R _T	Bem.		
	R	R'	R'OH	Std.							°C	(A)
Imidazol	Phenyl	CH ₃	248	65	10	60	169	95	215	0.59	†)	
Imidazol	Phenyl	C ₂ H ₅	248	118	10	60	Cyclohexylamin	192	75	0.65	††)	
Imidazol	Phenyl	i-C ₃ H ₇	248	236	10	60	Cyclohexylamin	214	80	0.68		
Imidazol	Phenyl	n-C ₄ H ₉	248	243	10	60	Cyclohexylamin	224	79	110	0.75	†)
Imidazol	Phenyl	n-C ₃ H ₁₁	248	364	10	60		>85		0.78	**)	
Imidazol	Phenyl	i-C ₈ H ₁₇	248	410	10	60		>85		0.85	**)	
Imidazol	Phenyl	CH ₂ ·C ₆ H ₅	248	209	10	60	Cyclohexylamin	226	73	147	0.75	†)
Imidazol	Phenyl	CH ₃	248	65	10	60	Cyclohexylamin	183	75	154	0.59	††)
Na	Phenyl	CH ₃	230	790	72	60	Na	180	92	215	0.59	†)
Cyclohexylamin	Phenyl	CH ₃	181	396	4	65	Cyclohexylamin	117	74	153		††)
Cyclohexylamin	Phenyl	n-C ₄ H ₉	323	810	24	60	Cyclohexylamin	280	85	110	0.75	†)
Imidazol	Thymyl	CH ₃	149	40	10	60		>85		0.74	**)	
Imidazol	Thymyl	C ₂ H ₅	149	40	10	60		>85		0.75	**)	
Imidazol	Benzyl	CH ₃	310	790	10	60	Cyclohexylamin	228	74	107	0.75	†††)

*) Das Filtrat aller C₆H₁₁NH₂-Fällungen enthält noch Diesterphosphat.

**) Diese Ester konnten weder als Na⁺, noch als Cyclohexylammonium-Salze gefällt werden. Im Chromatogramm war nur ein Fleck, der nach Zusatz von pyridinischer Phosphatlösung kein Diphosphat ergab.

†) Identisch mit der nach L. c.⁹⁾ dargestellten Substanz.

††) Identisch mit der nach F. CRAMER und G. WEIMANN (Chem. Ber. 94, 996 [1961]) dargestellten Substanz.

†††) Identisch mit der nach F. CRAMER und R. WITTMANN (Chem. Ber. 94, 322 [1961]) dargestellten Substanz.

218 mg III (Na-Salz) (0.99 mMol) und 105 mg Imidazolium-hydrochlorid wurden in 1 ccm Methanol gelöst und bei 60° gehalten. Nach 15 Stdn. war im Chromatogramm (A) nur noch ein Produkt vom R_F 0.45, das Dimethylphosphat, zu erkennen.

5. *Methylester der Adenosin-phosphorsäure*: 42 mg AMP-Imidazolid (Na-Salz) (0.1 mMol) wurden in 0.5 ccm Methanol gelöst und bei Raumtemperatur belassen. Nach einer Woche zeigte das Chromatogramm nur Imidazolid. Jetzt wurden 20 mg Benzimidazolium-chlorid zugegeben. Nach fünf Tagen bei Raumtemperatur zeigte das Chromatogramm (A) nur Methyl-AMP (R_F 0.24).

6. In Tab. 2 sind die Diesterphosphorsäuren zusammengestellt, die analog C. 1. -- 5. bereitet wurden.

D. Pyrophosphate

1. *P¹.P²-Dithymyl-diphosphat*: 104 mg *O-Thymyl-imidazolylphosphonat*, gelöst in 1 ccm Tetrahydrofuran und 0.2 ccm Pyridin, wurden mit 88 mg *Monothymylphosphat* kurz zum Sieden erhitzt und dann bei Raumtemperatur belassen. Nach 10 Min. schied sich ein Öl ab, das beim Verdünnen mit Aceton kristallin wurde. Es wurde mit Aceton/Äther ausgewaschen. Ausb. 180 mg (100% d. Th.) *Imidazoliumsalz*, Schmp. 161°.

$(C_3H_4N_2)_2C_{20}H_{28}O_7P_2$ (578.5) Ber. N 9.68 P 10.72 Gef. N 9.97 P 10.63

100 mg dieses Salzes wurden in 0.5 ccm Methanol gelöst und dann 0.5 ccm Cyclohexylamin und 5 ccm Wasser zugegeben. Es schied sich ein Öl ab, das bald kristallisierte. Ausb. 98 mg (89% d. Th.). Schmp. 203–205°.

$(C_6H_{11}NH_2)_2C_{20}H_{28}O_7P_2$ (640.7) Ber. N 4.38 P 9.68 Gef. N 4.58 P 9.70

2. *P¹.P²-Diphenyl-diphosphat*: 1.74 g *Monophenylphosphat* (10 mMol) wurden in 10 ccm Tetrahydrofuran gelöst und dann unter Rühren 850 mg *Carbonyldiimidazol* (5.25 mMol) in 5 ccm Tetrahydrofuran langsam tropfenweise zugefügt. CO₂-Entwicklung und Abscheidung von Öl. Nach Zugabe von 20 ccm Aceton und 20 ccm Äther kristallisierte dieses nach 2 Tagen. Es wurde mit Aceton und Äther ausgewaschen. Ausb. 2.28 g *Imidazoliumsalz* (97% d. Th.), Schmp. 127–128°.

$(C_3H_4N_2)_2C_{12}H_{12}O_7P_2$ (466.3) Ber. C 46.36 H 4.22 N 12.02 P 13.32

Gef. C 46.08 H 4.20 N 11.95 P 13.42

3. *P¹.P²-Diphenyl-diphosphat in Gegenwart von Wasser* (vgl. Abbild. 1): 175 mg *Monophenylphosphat* (1 mMol), gelöst in 20 ccm Pyridin: Lösung A. 4 ccm Wasser mit Pyridin auf 20 ccm verdünnt: Lösung B. 242 mg *O-Phenyl-diimidazolylphosphinat* (0.88 mMol) wurden in Acetonitril gelöst, 11 mg Wasser zugegeben und dann auf 20 ccm aufgefüllt: Lösung C. Verschiedene Volumina von B wurden mit 1 ccm A (0.5 mMol) gemischt, mit Pyridin auf 2 ccm aufgefüllt, 1 ccm C (0.44 mMol) zugegeben und 2 Stdn. auf 50° erwärmt. Dann wurde i. Vak. eingedampft, in 3 ccm Wasser gelöst, mit 0.3 ccm Cyclohexylamin gefällt, abfiltriert und mit 1 ccm Wasser und 20 ccm Aceton ausgewaschen. Die Fällungen wurden chromatographisch als reines *Diphenylpyrophosphat* identifiziert (Ergebnisse s. Tab. S. 1631).

4. *P¹-Phenyl-P²-thymyl-diphosphat*: 348 mg *O-Thymyl-imidazolylphosphonat* (*Imidazoliumsalz*) (1 mMol) wurden zu einer Lösung von 185 mg *Monophenylphosphat* in 1 ccm Pyridin/2 ccm Acetonitril gegeben und die Lösung bei Raumtemperatur gerührt. Das Imidazolid war nach einem Tag im Chromatogramm A verschwunden und eine neue Substanz vom R_F 0.63 entstanden. Nun wurden 5 ccm Aceton und 0.1 ccm Cyclohexylamin zugegeben, das Monophosphat fiel aus. Das Filtrat wurde i. Vak. eingedampft und erneut mit 10 ccm Aceton, 0.5 ccm Cyclohexylamin und 10 ccm Äther gefällt. Ausb. 547 mg (94% d. Th.) *Cyclohexylammoniumsalz*.

Ergebnisse zu D. 3.:

Lösung B ccm	Pyridin ccm	mg	Wasser mMol	%	Diphenylpyrophosphat mg	% d. Th.
0.0	1.0	0	0.0	0	46.0	99
0.05	0.95	10	0.56	0.25	46.3	99.5
0.1	0.9	20	1.1	0.5	44.6	96
0.2	0.8	40	2.2	1.0	33.0	71
0.3	0.7	60	3.3	1.5	28.1	60
0.4	0.6	80	4.4	2.0	19.5	42
0.5	0.5	100	5.6	2.5	19.4	42
0.6	0.4	120	6.7	3.0	18.1	39
1.0	0.0	200	11.1	5.0	16.9	36
(0.5 ccm H ₂ O)	0.5	500	27.8	12.5	13.0	28

162 mg *Monophenylphosphat* (0.94 mMol), 5 ccm Acetonitril, 91 mg Triäthylamin und 180 mg *Carbonyldiimidazol* (1.23 mMol) wurden unter Rühren in dieser Folge zusammengegeben und nach 15 Min. mit 1 ccm Pyridin versetzt, kurz auf 50–60° erhitzt und dann 10 mg Methanol zugegeben. Nach weiteren 5 Min. wurde mit 220 mg *Thymylphosphat* (0.96 mMol) versetzt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 2 Tagen war das Imidazolid verschwunden, und bei Zusatz von 0.5 ccm *Cyclohexylamin*, 5 ccm Aceton und 10 ccm Äther fielen 455 mg des unsymm. Pyrophosphates vom Schmp. 216–220° aus. Aus dem Filtrat wurden durch Eindampfen und Lösen in Äther nochmals 72 mg vom Schmp. 215–218° erhalten. Ausb. 527 mg (96% d. Th.) *Cyclohexylammoniumsalz*, Schmp. 215–220°.

(C₆H₁₁NH₂)₂C₁₆H₂₀O₇P₂ (584.6) Ber. N 4.79 P 10.62 Gef. N 4.99 P 10.68

5. *Monothymyldiphosphat*: 177 mg *Orthophosphorsäure* (1.8 mMol), 6 ccm Acetonitril, 705 mg Triäthylamin und 590 mg *O-Thymyl-imidazolylphosphonat* (*Imidazoliumsalz*) wurden zusammengegeben und 5 Stdn. zum Sieden erhitzt. Dann wurde i. Vak. eingedampft, in 15 ccm Chromatographiegemisch A gelöst und mit 1 ccm *Cyclohexylamin* gefällt. Der Rückstand (295 mg) enthielt nur anorganisches Phosphat.

Das Filtrat wurde i. Vak. eingedampft, mit 30 ccm Aceton/Äther (1:1) aufgenommen und 1 Tag bei –20° zur Kristallisation aufbewahrt. Ausb. 325 mg (53.4% d. Th.). Schmp. 145–148°.

(C₆H₁₁NH₂)₃C₁₀H₁₆O₇P₂ (607.7) Ber. P 10.20 N 6.92 Gef. P 9.80 N 7.28

6. *P¹.P³-Diphenyl-triphosphat*: 404 mg *III* (*Imidazoliumsalz*) (1.52 mMol) wurden in 10 ccm Pyridin und 200 mg Triäthylamin gelöst und 525 mg *Monophenylphosphat* (3.02 mMol) zugegeben. Das sich abscheidende Öl wurde mit weiteren 200 mg Triäthylamin in Lösung gebracht und 3 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Schon nach 3 Stdn. zeigte die Reaktionslösung im Chromatogramm (A) viel eines Phosphates vom *R_F* 0.23 neben etwas Diphenyldiphosphat vom *R_F* 0.43 und Monophenylphosphat vom *R_F* 0.12. Die Lösung wurde i. Vak. eingedampft, mit 1 ccm Wasser aufgenommen und 3 ccm Acetonitril, 1 ccm *Cyclohexylamin* und 10 ccm Aceton zugesetzt. Es kristallisierten 75 mg eines Gemisches von Cyclohexylammoniumsalzen, das verworfen wurde. Das Filtrat wurde i. Vak. zu Sirup eingedampft, in 3 ccm Methanol gelöst und mit 20 ccm Aceton verdünnt. Nach 2 Stdn. bei 0° fiel das *Cyclohexylammoniumsalz des Diphenyltriphosphats* aus. Ausb. 380 mg (27% d. Th.), Schmp. 245°.

(C₆H₁₁NH₂)₃·C₁₂H₁₃O₁₀P₃ (707.6) Ber. N 5.94 P 13.13 Gef. N 6.24 P 13.11

Aus dem Filtrat wurden 2 weitere Fraktionen erhalten. Ausb. 600 mg (43% d. Th.).

7. *P¹.P³-Dithymyl-triphosphat*: 530 mg *III* (2 mMol), 10 ccm Pyridin, 1.0 ccm Triäthylamin und 920 mg *Monothymylphosphat* wurden 20 Stdn. bei Raumtemperatur gerührt, i. Vak.

8. Analog wurden die in Tab. 3 aufgeführten Diphosphate dargestellt:

Tab. 3. Synthese von unsymm. Diphosphaten aus Monoester-imidazolyl-phosphonaten

R	mg	Carbonyl- diimidazol	CH ₃ OH mg	Base mg	R'	R'OP(OH) ₂ mg	Zeit Std.	Temp. °C	Ausbeute mg	Cyclohexyl- ammoniumsalz %	Summenformel (Mol.-Gew.)	Analysen		Schmp. °C	
												Ber.	Gef.		
β-Naph- thyl	492	398	20	360	N(C ₂ H ₅) ₃	Phenyl	400	24	20	1139	87	C ₂₈ H ₄₀ N ₂ O ₇ P ₂ (578.5)	P 10.72 N 4.84	10.67 4.97	224—225
Thymyl	265	200	10	112	Imidazol	Phenyl	320	5	70	506	87	C ₂₈ H ₄₆ N ₂ O ₇ P ₂ (584.6)	P 10.62 N 4.79	10.68 4.99	215—220
Phenyl	162	180	10	91	N(C ₂ H ₅) ₃	Thymyl	220	48	20	527	96	C ₂₈ H ₄₆ N ₂ O ₇ P ₂ (584.6)	P 10.62 N 4.79	10.70 4.60	215—220
Phenyl	161	180	40*	91	N(C ₂ H ₅) ₃	4-Chlor- phenyl	240	48	20	437	84	C ₂₄ H ₃₇ ClN ₂ O ₇ P ₂ (562.9)	P 11.02 N 4.98	11.03 5.07	253—255
	590					H	177	5	80	325	53	C ₂₈ H ₅₅ N ₂ O ₇ P ₂ (607.7)	P 10.20 N 6.92	9.80 7.28	145—148
	348					Phenyl	185	48	20	397	94***)	Na ₂ C ₁₆ H ₁₈ O ₇ P ₂ (430.4)	P 14.40 N 4.53	14.57 4.52	280
	150					4-Chlor- phenyl	115	48	20	175**)	57	C ₂₈ H ₄₅ ClN ₂ O ₇ P ₂ (619.0)	P 10.03 N 4.53	10.14 4.52	225—226
	150					5'-Adenosyl	150	24	50	Im Chrom.		AMP: Th-ADP etwa 1:1			
	42					Thymyl	30	72	20	Im Chrom.		AMP: Th-ADP etwa 1:9			

*) Thymol an Stelle von CH₃OH zur Beseitigung des Überschusses von Carboxyldiimidazol.

**) Chronographische Analyse nach der Umsetzung zeigte eine Ausbeute von 90%. Die Aufarbeitung erfolgte über eine Chloroform/Wasser-Trennung, wobei das Cyclohexylammonidiphosphat aus der Chloroform-Phase rein erhalten wurde.

***) Na-Salz anstelle von Cyclohexylammonium-

eingedampft, in 5 ccm Wasser gelöst und 1 ccm *Cyclohexylamin* zugegeben. Das sich ausscheidende Öl wurde zweimal mit 10 ccm Äther abgetrennt und i. Vak. eingedampft. Es blieb ein Sirup, der sich im Chromatogramm als reines Dithymyltriphosphat vom R_F (A) 0.38, (B) 0.85 erwies. Löslich in Aceton und Äther, unlöslich in Wasser. Ausb. 150 mg (91% d. Th.).

E. Hydrolyse und sonstige Reaktionen von II

1. *Reaktion von O-Thymyl-imidazolylphosphonat (Imidazoliumsalz) und Benzoesäure*: 340 mg *O-Thymyl-imidazolylphosphonat (Imidazoliumsalz)* (0.98 mMol) und 120 mg *Benzoesäure* (0.98 mMol) wurden in 0.5 ccm Acetonitril gelöst und 3 Std. bei 70° belassen. Beim Abkühlen abgedichtetes Öl wurde durch Zusatz von 65 mg Triäthylamin in Lösung gebracht. Gesamtgewicht 918 mg.

435 mg (0.46 mMol) davon wurden zu 0.25 ccm Anilin gegeben, 1 Stde. auf 50° erwärmt, dann mit 10 ccm 1-proz. Natriumcarbonatlösung das Benzanilid ausgefällt und mit Wasser gut gewaschen. Ausb. 30 mg (34% d. Th.) Benzanilid, Schmp. und Misch-Schmp. 161°.

Der zweite Teil, 472 mg (0.503 mMol), wurde mit 2 ccm Wasser und 5 ccm Äther geschüttelt und die Ätherphase mit 0.2 ccm Anilin versetzt, eingedampft und 1 Stde. bei 50° gehalten. Das Benzanilid wurde wie oben aufgearbeitet. Ausb. 21 mg (21% d. Th.) Benzanilid.

2. Hydrolyse von Imidazolylphosphonaten

a) Hydrolyse von Diimidazolylphosphinat (III): bei p_H 10, p_H 6, p_H 2–4. Je 50 mg III (Imidazoliumsalz) wurden in 1 ccm gelöst und die Menge der Hydrolysenprodukte aus dem Chromatogramm abgeschätzt.

Lösungsmittel	p_H Anfang	% Reakt.-Produkt im Chromatogramm nach						p_H Ende
		Stunden						
		Tagen						
3 n Na ₂ CO ₃	> 10		0.1	1	5	15	7	> 10
		Diimidazolid	100	70	70	50	5	
		Monoimidazolid	0	30	30	50	90	
		PO ₄ ^{3⊖}	0	0	0	0	5	
0.1 n CH ₃ CO ₂ H	6	P ₂ O ₇ ^{4⊖}	0	0	0	0	0	6
		Monoimidazolid	40	60	40	20	0	
		PO ₄ ^{3⊖}	50	20	40	30	50	
		P ₂ O ₇ ^{4⊖}	10	20	20	50	50	
0.1 n CH ₃ CO ₂ H + 10% 0.1 n HCl	2	Monoimidazolid	40	40	30	10	0	4
		PO ₄ ^{3⊖}	50	40	30	40	50	
		P ₂ O ₇ ^{4⊖}	10	20	30	50	50	

b) Hydrolyse von AMP-Imidazolid in 0.1 n NaOH: 22 mg AMP-Imidazolid-Na wurden in 0.5 ccm 0.1 n NaOH gelöst und bei Raumtemperatur belassen. Die Menge der Hydrolysenprodukte wurde aus dem Chromatogramm abgeschätzt.

p_H (Anfang)		1	24	60	105 Stdn.	p_H (Ende)
> 10	AMP-Im (%)	100	30	50	20	> 10
> 10	AMP (%)	0	70	50	80	> 10