

GERT LEICHSENING und JOACHIM SCHMIDT

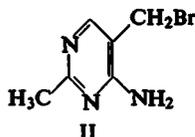
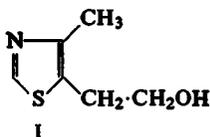
Über die Synthese von Thiamin-phosphorsäureestern

Aus den wissenschaftlichen Laboratorien des VEB Jenapharm, Jena

(Eingegangen am 4. September 1961)

Die Herstellung von 4-Methyl-5-[β -hydroxy-äthyl]-thiazol-phosphorsäureestern auf verschiedenen Wegen und ihre Verknüpfung mit der Pyrimidinkomponente des Thiamins zu papierelektrophoretisch reinen Thiamin-phosphorsäureestern wird beschrieben.

Fast alle Synthesen von Thiamin-phosphorsäureestern gehen vom Thiamin selbst aus, das mit den verschiedensten Phosphorylierungsmitteln¹⁾ umgesetzt wird. Eine einfache und zugleich wirtschaftliche Darstellungsmethode des Thiamin-pyrophosphorsäureesters („Cocarbonylase-tetrahydrat“) aber wurde erst von A. WENZ, G. GÖTTMANN und H. KOOP²⁾ beschrieben, die das bei der Phosphorylierung erhaltene Gemisch der Thiamin-phosphorsäureester mittels Ionenaustauscherchromatographie trennten. Eine andere Möglichkeit, zu Thiamin-phosphorsäureestern zu gelangen, besteht in der Verknüpfung von Verbindungen des 4-Methyl-5-[β -hydroxy-äthyl]-thiazols (I) mit 2-Methyl-4-amino-5-brommethyl-pyrimidin (II).



Der Pyrophosphorsäureester von I wurde zuerst durch Sulfitspaltung³⁾ aus Cocarboxylase erhalten und als Silberdoppelsalz isoliert. J. WEILARD⁴⁾ synthetisierte dann auch sowohl den Mono- (Hydrat Schmp. 162°) als auch den Pyrophosphorsäureester von I mit Hilfe entwässertes Phosphorsäure, aus dem er mit II-Hydrobromid ein Produkt mit 10-proz. Cocarboxylase-Aktivität erhielt. Zum Monophosphorsäureester von I (Cyclohexylaminsalz Schmp. 190°) gelangt man auch durch Phosphorylierung mit Phosphorsäure-bromid-dimorpholid⁵⁾.

Die beschriebenen Verfahren aber befriedigen keineswegs in der Ausbeute und der Reinheit des Endproduktes. Wir versuchten daher, reine Phosphorsäureester von I zu erhalten, und diese in wirtschaftlicher Weise mit der Pyrimidinkomponente zu Thiamin-phosphorsäureestern zu verknüpfen, ohne eine Trennung entstehender Phosphorsäureester-Gemische vornehmen zu müssen.

1) A. SEGRE, *Arzneimittel-Forsch.* **9**, 1, 102 [1959].

2) A. WENZ, G. GÖTTMANN und H. KOOP, *Liebigs Ann. Chem.* **618**, 210 [1958]; *Dtsch. Bundes-Pat.* 1085527 v. 28. Sept. 1957, *Erf. A. WENZ, G. GÖTTMANN und H. KOOP, C. A.* **53**, 13 244 [1959].

3) H. TAUBER und J. WEILARD, *J. Amer. chem. Soc.* **60**, 2263 [1938].

4) *J. Amer. chem. Soc.* **64**, 2279 [1942].

5) H. A. C. MONTGOMERY und J. H. TURNBULL, *J. chem. Soc. [London]* **1958**, 1963.

Unsere Versuche zeigten bald, daß eine Phosphorylierung von I nach den bekannten Verfahren⁶⁾ nicht möglich war, da diese wohl auf die Herstellung des Mono- nicht aber auf die des Pyrophosphorsäureesters speziell bei Thiazolen übertragen werden konnten. Als geeignete Methoden kamen nur die von A. R. TODD und Mitarbb.⁷⁾ entwickelten Phosphorylierungen mit Dibenzylhalogenophosphaten in Betracht.

Zur Gewinnung des I-Dibenzyl-phosphorsäureesters haben wir zunächst I mit Dibenzylphosphit und Trichlorbrommethan in Gegenwart von 2.6-Lutidin unterhalb von -15° umgesetzt, Nebenprodukte⁸⁾ über das Hexacyanoferrat(II) oder vorteilhafter durch Lösen in verdünnter, stark gekühlter Salzsäure, Extraktion der Neutralstoffe und sofort anschließende Ausfällung mit Natriumhydrogencarbonat abgetrennt, wobei der I-Dibenzyl-phosphorsäureester als farbloses Öl anfällt. Die Abspaltung einer Benzylgruppe erfolgte durch Kochen mit *N*-Methyl-morpholin⁹⁾, die vollständige Debenzylierung zum I-Phosphorsäureester durch Kochen mit Salzsäure. Eine hydrogenolytische Abspaltung der Benzylgruppen mit Edelmetallkatalysatoren war durch schnelle Inaktivierung des Katalysators erschwert. Der so erhaltene I-Phosphorsäureester schmolz bei $197-198^{\circ}$ und konnte im Gegensatz zu WEILARD⁴⁾ nur ohne Kristallwasser erhalten werden. Der pH-Wert der wäßrigen Lösung liegt bei 2.7 (Glaselektrode; 20°). Eine Vereinfachung dieser Methode aber bestand darin, daß das rohe Phosphorylierungsgemisch direkt mit Salzsäure debenzyliert werden konnte.

Weitere Versuche zeigten bald, daß der I-Phosphorsäureester durch Phosphorylierung bei $135-140^{\circ}$ mit einem Gemisch von Ortho-, Pyro-, Meta- und Polyphosphorsäuren, das man aus ca. 85-proz. Phosphorsäure und P_2O_5 erhält, und Hydrolyse wesentlich einfacher und mit besserer Ausbeute darstellbar ist.

Zur Gewinnung des I-Pyrophosphorsäureesters versuchten wir zunächst, die für Adenosin beschriebene Methode¹⁰⁾ anzuwenden, und das Silbersalz des I-Monobenzyl-phosphorsäureesters mit Dibenzylchlorophosphat umzusetzen. Da das Silbersalz nicht kristallisierte, wurde das Natriumsalz verwendet. Das hierbei erhaltene Tribenzylpyrophosphat war jedoch so instabil, daß es bereits unterhalb von -10° eine analoge Umwandlung wie der I-Dibenzyl-phosphorsäureester erlitt. Eine Reihe weiterer Methoden¹¹⁾ ergaben Gemische von Phosphorsäureestern. Dagegen lieferte

⁶⁾ C. NEUBERG und H. POLLAK, Ber. dtsch. chem. Ges. **43**, 2060 [1910]; K. LANGFELD, ebenda **44**, 2076 [1911]; H. BREDERECK, E. BERGER und J. EHRENBURG, ebenda **73**, 269 [1940]; F. ZETSCHKE und W. BÜTTIKER, ebenda **73**, 47 [1940]; K. DIMROTH und R. PLOCH, Chem. Ber. **90**, 801 [1957]; J. G. MOFFAT und H. G. KHORANA, J. Amer. chem. Soc. **79**, 3741 [1957]; J. BADDILEY, J. G. BUCHANAN und R. LETTERS, J. chem. Soc. [London] **1956**, 2812; C. U. KITA, K. NAGASAWA und M. IRIE, J. Amer. chem. Soc. **80**, 1373 [1958].

⁷⁾ F. R. ATHERTON, H. T. OPENSHAW und A. R. TODD, J. chem. Soc. [London] **1945**, 382; F. R. ATHERTON und A. R. TODD, ebenda **1947**, 674; F. R. ATHERTON, H. T. HOWARD und A. R. TODD, ebenda **1948**, 1106.

⁸⁾ Vermutlich Quartärisierungsprodukte mit Halogenophosphaten oder durch Wanderung einer Benzylgruppe an den Thiazol-Stickstoff entstanden, die sich beim Stehenlassen oder erhöhter Temperatur bilden.

⁹⁾ J. BADDILEY, V. M. CLARK, J. J. MICHALSKI und A. R. TODD, J. chem. Soc. [London] **1949**, 815.

¹⁰⁾ J. BADDILEY und A. R. TODD, J. chem. Soc. [London] **1947**, 648.

¹¹⁾ M. SMITH und H. G. KHORANA, J. Amer. chem. Soc. **80**, 1141 [1958]; H. G. KHORANA und A. R. TODD, J. chem. Soc. [London] **1953**, 2257; G. W. KENNER, A. R. TODD und R. F. WEBB, ebenda **1956**, 1231; G. W. KENNER, C. B. REESE und A. R. TODD, ebenda **1958**, 546; V. M. CLARK, G. W. KIRBY und A. R. TODD, ebenda **1957**, 1497.

die Umsetzung von Salzen der Monophosphorsäureester mit höheren tertiären, aliphatischen Aminen¹²⁾ von höheren Phosphorsäureestern freie Pyrophosphorsäureester. Bei Verwendung von Tributylamin wurde so I-Dibenzyl-pyrophosphorsäureester erhalten, der zur Abtrennung speziell des mitentstandenen Dibenzylphosphats über das Cyclohexylaminsalz gereinigt werden mußte und mit Kationenaustauschern den freien Ester als Glas ergab. Die Anwendung noch höherer tertiärer, aliphatischer Amine bis zum Tridecylamin ergab keine wesentlich besseren Ausbeuten.

Zur Debenzylierung des Dibenzyl-pyrophosphorsäureesters von I ohne Hydrolyse der Pyrophosphatbindung eignete sich nur die hydrogenolytische Abspaltung der Benzylgruppen. Eine rasche und vollständige Hydrierung war nur im sauren Gebiet bei erhöhtem Druck (bis 50 atü) möglich; im neutralen oder alkalischen Milieu wurde der Katalysator schneller inaktiviert. Hierbei mußte der verwendete Palladiumkatalysator in der zu hydrierenden Lösung selbst reduziert werden. Rhodiumkatalysatoren konnten wegen ihrer Empfindlichkeit gegenüber Phosphorverbindungen nicht verwendet werden. Der so erhaltene I-Pyrophosphorsäureester war frei von ionogenem Phosphat und anderen Phosphorsäureestern. Der pH-Wert der wäßrigen Lösung liegt bei 2.0 (Glaselektrode; 20°).

Der Unterschied der pH-Werte von I-Phosphorsäureester (pH 2.7) zu I-Pyrophosphorsäureester (pH 2.0) aber regte dazu an, eine Trennung des bei der Phosphorylierung mit Polyphosphorsäure erhaltenen Gemisches der I-Phosphorsäureester mit Hilfe geeigneter Ionenaustauscher vorzunehmen. Nach milder Hydrolyse der Lösung des Phosphorylierungsgemisches wurde ein stark saurer Kationenaustauscher (z. B. Wofatit KPS 200) benutzt, wobei die Fraktionierung nach dem pH-Wert der ablaufenden Lösung erfolgte. Im Bereich von pH 1.5–1.9 laufen hauptsächlich Polyphosphorsäureester ab und von pH 2.0–2.4 der I-Pyrophosphorsäureester. Die nachfolgende Fraktion des I-Phosphorsäuremonoesters vom pH 2.5–3.0 wird mit 10-proz. Salzsäure herunter gelöst und mit der Fraktion der Polyphosphorsäureester auf I-Phosphorsäureester-hydrochlorid aufgearbeitet, welches wiederum zur Phosphorylierung eingesetzt wird.

Die Darstellung der Thiamin-phosphorsäureester unter den Bedingungen¹³⁾ der Synthese des Vitamins B₁¹³⁾ — Umsetzung von 1 Mol. der Pyrimidinkomponente II mit mindestens 2 Moll. der Thiazolkomponente I — erwies sich als unbefriedigend, da bei einem Überschuß der sauren Thiazol-phosphorsäureester kaum eine Reaktion eintrat. Deshalb wurden die Mono- bzw. Dinatriumsalze der I-Phosphorsäureester eingesetzt, um ein neutrales Milieu zu erzielen, und um bei dem Pyrophosphorsäureester eine Hydrolyse der Pyrophosphatbindung zu verhindern. Ferner fanden wir, daß durch Einsatz des von uns gefundenen Trichloräthylenaddukts von II-Monohydrobromid¹⁴⁾ auch die Betaine der Thiamin-phosphorsäureester hergestellt werden können. Das bei dieser Reaktion als einziges Nebenprodukt entstehende Natriumbromid kann beim Thiamin-pyrophosphorsäureester im Gegensatz zum -orthophosphorsäureester weder durch Umkristallisation aus Wasser noch durch Fällung mit

12) A. M. MICHELSON, Chem. and Ind. 1957, 1670.

13) H. ANDERSAG und K. WESTPHAL, Ber. dtsh. chem. Ges. 70, 2035 [1937].

14) Zum Patent im In- und Ausland angemeldet.

Lösungsmitteln entfernt werden. Seine Abtrennung gelingt nur mit Hilfe eines stark sauren Kationenaustauschers (z. B. Wofatit KPS 200), da die einzelnen Thiamin-phosphorsäureester vom Austauscher zurückgehalten werden, während die Bromwasserstoffsäure abläuft. Die zurückgehaltenen Thiamin-phosphorsäureester werden dann mit 1-proz. Ammoniak eluiert, wobei sie in papierelektrophoretisch reiner Form ihrem pH-Wert entsprechend ablaufen.

Danken möchten wir Herrn Dipl.-Chem. R. WEDER¹⁵⁾ von der Gütekontrollabteilung des VEB Jenapharm, der freundlicherweise die Pherogramme anfertigte.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

4-Methyl-5-[β-hydroxy-äthyl]-thiazol (I) wurde über das saure, oxalsäure Salz (Schmp. 104°) gereinigt: Farb- und geruchloses Öl, Sdp._{0.1} 96°, n_D^{20} 1.5502.

I-Dibenzyl-phosphorsäureester: Zu einem Gemisch von 210 g *Dibenzylphosphit* (durch Ausfrieren gewonnen, n_D^{20} 1.5530, Schmp. 18–19°) in 1 l CCl₄ wurden nach Abkühlen auf mindestens –15° nacheinander 112 g I, 200 ccm 2.6-Lutidin und 200 ccm Trichlorbrommethan unter Rühren so zugegeben, daß die Temperatur nicht über –15° anstieg. Nach beendetem Zutropfen wurde das Gemisch 48 Stdn. auf –20° gehalten, während der folgenden 24 Stdn. allmählich auf 0° erwärmt, vom ausgefallenen 2.6-Lutidin-hydrobromid abgesaugt und noch vorhandenes Lutidin mit verd. Essigsäure ausgeschüttelt. Zur Gewinnung des Rohproduktes wurde das Lösungsmittel zunächst im Wasserstrahl-, dann im Ölpumpenvakuum entfernt. Der Rückstand, 290 g eines dicken Öls, wurde mit einem Gemisch von 300 ccm konz. Salzsäure und 1.2 kg Eis und 500 ccm CCl₄ ausgeschüttelt und die wäbr. Phase sofort in ein gerührtes Gemisch von 300 g NaHCO₃, 1 l Wasser, 900 g Eis und 1 l CCl₄ eingetragen. Nach Entfernen des Lösungsmittels hinterblieben 152–160 g (48–50% d. Th.), n_D^{20} 1.5620, leicht lösl. in Benzol und Tetrachlorkohlenstoff, unlösl. in Wasser. Bei längerem Aufbewahren oder Erwärmen entsteht eine in CCl₄ unlösliche zähe Masse.

C₂₀H₂₂NO₄PS (403.4) Ber. N 3.47 P 7.68 S 7.95 Gef. N 3.28 P 7.43 S 8.36

Hexacyanoferrat(II): Weißer Niederschlag (aus Methanol).

C₂₀H₂₂NO₄PS · H₄Fe(CN)₆ (619.4) Ber. N 15.83 P 5.00 S 5.17
Gef. N 15.90 P 5.10 S 5.00

I-Monobenzyl-phosphorsäureester: 38 g des *Dibenzylesters* wurden mit 325 ccm *N-Methyl-morpholin* 2 Stdn. unter Rückfluß erhitzt, anschließend überschüssiges *N-Methyl-morpholin* abdestilliert, der Rückstand in 800 ccm Wasser aufgenommen und über einen Ionenaustauscher (Wofatit Cp 300, H-Form) gegeben. Der Monobenzylester wurde mit 1-proz. Ammoniak eluiert; er fällt aus Wasser in farblosen Kristallen, Schmp. 82–83°, als Hydrat an.

In analoger Weise wurde das Natriumsalz mit Hilfe der Na-Form eines Ionenaustauschers erhalten. Farblose Nadeln, Schmp. 235–238°; Ausb. 26.8 g (85% d. Th.). Leicht lösl. in Wasser und Äthanol, unlösl. in Aceton. Das Bariumsalz bildet farblose Schuppen, Schmp. 242–245°.

NaC₁₃H₁₅NO₄PS (335.3) Ber. N 4.18 P 9.24 S 9.56 Gef. N 4.30 P 9.64 S 9.61

4-Methyl-5-[β-hydroxy-äthyl]-thiazol-phosphorsäureester

1. *Durch Debenzylieren von I-Dibenzyl-phosphorsäureester*: 290 g roher *Dibenzylester* wurden mit 900 ccm konz. Salzsäure 5 Min. gekocht, das gebildete Benzylchlorid abgetrennt, die

¹⁵⁾ Diplomarb. Techn. Hochschule Dresden 1961, „Quantitative chemische Bestimmung des Thiamins, der freien Orthophosphorsäure und der Thiamin-phosphorsäureester in synthet. Cocarboxylaseprodukten“.

wäßr. Phase i. Vak. bis zur Sirupdicke eingengt, in 500 ccm Wasser gelöst, über Aktivkohle filtriert, mit der der halben Menge des Chloridgehaltes entsprechenden Pyridinmenge gepuffert und mit Aceton gefällt. Nach Kristallisation im Kühlschrank wurden 107 g (61.5% d. Th.), Schmp. 197–198°, erhalten.

Hydrochlorid: Schmp. 154–155°; *Mononatriumsalz*: Schmp. 165°; *Dinatriumsalz*·7 Wasser: Zers.-P. etwa 300°.

$C_6H_{10}NO_4PS$ (223.2) Ber. N 6.28 P 13.88 S 14.36 Gef. N 6.20 P 13.90 S 14.12

2. *Durch Phosphorylieren von I mit Polyphosphorsäuregemisch*: 300 g I wurden mit einem Gemisch von 660 g 85-proz. Phosphorsäure und 610 g P_2O_5 bei 135–140° 2 Stdn. unter Rühren erhitzt. Nach Abkühlen wurde die Schmelze mit 800 ccm Wasser versetzt, 2 Stdn. unter Rückfluß gekocht und nach dem Abkühlen in 20 l Aceton gegossen. Der verbliebene Sirup wurde in 3 l Wasser gelöst, mit der molaren Menge MgO unter Rühren versetzt und mit NH_3 auf pH 7.5 gebracht. Nach Abtrennen des Magnesiumammoniumphosphats wurden überschüssige Magnesium- und Ammoniumionen mit Hilfe eines Kationenaustauschers in der H-Form entfernt und die so erhaltene Lösung i. Vak. eingedampft. Nach Kristallisation hinterblieben 300 g (64% d. Th.), Schmp. 197–198°.

I-Pyrophosphorsäureester: Eine Lösung von 168 g I-Phosphorsäureester in 800 g trockenem Tri-n-butylamin und 500 ccm $CHCl_3$ wurde unter Rühren so zu einer *Dibenzylchlorophosphat*-Lösung in CCl_4 (aus 245 g Dibenzylphosphit hergestellt) bei –15° gegeben, daß diese Temperatur nicht überschritten wurde. Nach 72stdg. Aufbewahren bei –20° wurde das überschüssige Lösungsmittel und Tributylamin i. Vak. entfernt, der Rückstand in 6 l Wasser aufgenommen, über eine Säule mit *Cyclohexylamin* beladenem Austauscher Wofatit Cp 300 gegeben, die vereinigten Lösungen zum dünnen Sirup eingengt, filtriert und mit 2.5 l Aceton versetzt. Das auskristallisierte Cyclohexylaminsalz wurde aus der 20fachen Menge Dioxan umkristallisiert. Ausb. 170 g I-dibenzylpyrophosphorsaures Cyclohexylamin (39% d. Th.), Schmp. 203–205° (leicht lösl. in Wasser und Äthanol).

$C_6H_{13}N \cdot C_{20}H_{23}NO_7P_2S$ (582.6) Ber. N 4.81 P 10.64 S 5.50
Gef. N 4.63 P 10.80 S 5.47

Eine ca. 0.2n wäßr. Lösung dieses Cyclohexylaminsalzes wurde über einen Kationenaustauscher Wofatit KPS 200 in der H-Form gegeben, solange gewaschen bis der Ablauf neutral reagierte, und die vereinigten Lösungen i. Vak. nicht über 20° eingengt. Es hinterblieben 140 g I-Dibenzyl-pyrophosphorsäureester als glasige Masse (100% d. Th.). Diese wurde in 2 l Methanol gelöst, mit Palladium(II)-chlorid-Lösung und Kieselgur versetzt und bei z. B. 10 atll hydriert. Anschließend wurde die methanol. Lösung zur Entfernung des Chlorwasserstoffs über einen Anionenaustauscher Amberlit JR 45 in der OH-Form gegeben und die resultierende Lösung bei 20° i. Vak. eingengt. Es hinterblieben 79.1 g I-Pyrophosphorsäureester als glasige Masse (90% d. Th.).

$C_6H_{11}NO_7P_2S$ (303.2) Ber. N 4.62 P 20.44 S 10.57 Gef. N 4.47 P 20.90 S 10.24

Ionen-austauscherchromatographie des Phosphorylierungsproduktes von I: 500 g I oder 900 g I-Phosphorsäureester-hydrochlorid wurden mit einem Gemisch von 2.8 kg 87-proz. Phosphorsäure und 2.17 kg P_2O_5 bei 135–140° 2 Stdn. unter Rühren erhitzt. Nach Abkühlen wurde die Schmelze bei 40° mit 2.4 kg Eis versetzt, genau 45 Min. unter Rühren auf 40° erwärmt und anschließend in 40 l Aceton eingetragen. Der verbliebene Sirup wurde in 4 l Wasser gelöst, die ionogene H_3PO_4 als Magnesiumammoniumphosphat wie beschrieben entfernt und die Lösung auf 10 l mit Wasser aufgefüllt.

Diese Lösung wurde anschließend über einen Kationenaustauscher Wofatit KPS 200 (10 l) in der H-Form gegeben. Die Fraktion bis pH 1.9 enthielt den Poly-, die von pH 2.0–2.4 den

Pyrophosphorsäureester von I. Die nachfolgende Fraktion des Phosphorsäuremonoesters (pH 2.5–3.0) wurde mit 10-proz. Salzsäure eluiert und mit der Polyphosphorsäureester-Fraktion auf I-Phosphorsäureester-hydrochlorid aufgearbeitet; der NH_4Cl -Anteil wurde nach dem Einengen durch Lösen in konz. Salzsäure und Abfiltrieren entfernt. Die den Pyrophosphorsäureester enthaltende Fraktion wurde i. Vak. bis 20° eingengt. Erhalten wurden 370 g *I-Pyrophosphorsäureester* (35.6% d. Th.) und 520 g *I-Phosphorsäureester-hydrochlorid* (58% d. Th.), die erneut wieder eingesetzt wurden.

Im kontinuierlichen Ablauf betrug die Ausb., von 1 kg I ausgehend, 1.45 kg Pyrophosphorsäureester (68.5% d. Th.).

Thiamin-orthophosphorsäureester-hydrochlorid: 250 g *I-Phosphorsäureester* wurden in 1 l 2n NaOH unter Rühren und Köhlen gelöst und hieraus mit 2.5 l 96-proz. Äthanol das Dinatriumsalz-7 Wasser gefällt. Ausb. 400 g.

Das Natriumsalz wurde mit 370 g *2-Methyl-4-amino-5-brommethyl-pyrimidin-dihydrobromid* (II) (Schmp. 214°) verrieben, der Brei zunächst i. Vak. bei 30°/12 Torr getrocknet, dann 1.5 Stdn. i. Vak. auf 110° erhitzt, das poröse Produkt in Wasser gelöst, über einen mit Chlor-Ionen beladenen Anionenaustauscher Wofatit L 150 gegeben, bis zum dünnen Sirup eingengt, vom ausgefallenen Kochsalz abgesaugt, mit Aceton gefällt und i. Vak. getrocknet. Ausb. 228 g papierelektrophoretisch reines *Thiamin-orthophosphorsäureester-hydrochlorid* wasserfrei¹⁶⁾ (58% d. Th.), Schmp. 193° (Zers.).

Thiamin-orthophosphorsäureester-dihydrochlorid-2 H₂O aus wäbr. Aceton, Schmp. 210° (Zers.).

Thiamin-orthophosphorsäureester-betain aus wäbr. Äthanol, Schmp. 230–231° (Zers.).

Trichloräthylenaddukt des II-Hydrobromids: 1.5 kg *II-Dihydrobromid* wurden unter Rühren bei 20° in 2 l Methanol eingetragen, dieser Suspension nach 30 Min. unter Kühlung 6 l *Trichloräthylen* zugefügt, auf –5° abgekühlt, nach 2.5–3 Stdn. der sandige Niederschlag abgesaugt, mit Trichloräthylen nachgewaschen und an der Luft getrocknet. Ausb. 1.6 kg *Trichloräthylenaddukt* (96% d. Th.), Schmp. 104° im geschlossenen, 187° im offenen Rohr.

$\text{C}_6\text{H}_5\text{BrN}_3 \cdot \text{HBr} \cdot \text{C}_2\text{HCl}_3$ (414.4) Ber. Br 38.57 Cl 25.67 N 10.14 Trichloräthylen 31.71
Gef. Br 38.60 Cl 25.51 N 10.21 Trichloräthylen 31.13

Thiamin-pyrophosphorsäureester-tetrahydrat: 303 g *I-Pyrophosphorsäureester* wurden in 1 l 2n NaOH unter Rühren und Kühlung gelöst und i. Vak. bei nicht über 20° zum Sirup eingengt. Dieser wurde mit 414 g des *II-Monohydrobromids* als Trichloräthylenaddukt vermischt, zunächst bei 30°/12 Torr getrocknet und dann i. Vak. 1.5 Stdn. auf 110° erhitzt. Das poröse Produkt wurde in 4 l Wasser gelöst, über eine Säule mit 8 l Austauschere Wofatit KPS 200 in der H-Form gegeben und neutral gewaschen. Anschließend wurde mit eiskaltem 1-proz. Ammoniak eluiert. Die zwischen pH 2.9–3.5 ablaufende Lösung wurde bis höchstens 20° i. Vak. zum dünnen Sirup eingengt, aus dem das papierelektrophoretisch¹⁶⁾ reine *Thiamin-pyrophosphorsäureester-tetrahydrat* mit 96-proz. Äthanol gefällt wurde. Ausb. 312 g (63% d. Th.), Schmp. 220–225° (Zers.).

¹⁶⁾ Elektrophorese an Papier: Acetatpuffer pH 5.4; Ionenstärke 0.05; Strom 390 V/30 cm, 5 mA. Papier: Schleicher & Schüll 2043 b.