

# Phosphorsäure-Ester einiger $\Delta^5$ -Sterine

Von HARRY VENNER

Mit 2 Abbildungen

## Inhaltsübersicht

Der Reaktionsverlauf bei der Veresterung von Sterinen mit Phosphoroxychlorid in Pyridin wurde untersucht und die im Verlaufe der Reaktion als Zwischenverbindungen auftretenden Pyridin-Addukte isoliert. Der Reaktionsverlauf wurde durch schrittweise Umsetzung aufgeklärt und dabei festgestellt, daß die Reaktion in empfindlicher Abhängigkeit von den Bedingungen sehr vielgestaltig verläuft. Neben der Phosphorylierung kann die Disteryläther-Bildung unter Umständen stark in den Vordergrund treten. Diese Methode ist vor allem zur Herstellung der Disterylphosphate geeignet, während für eine Herstellung der Monosterylphosphate die Phosphorylierung mit Hilfe von Dibenzylchlorphosphat angewendet wird. Die freien Monosterylphosphate sind jedoch nur dann unverändert im Sterinteil erhältlich, wenn dort keine labilen Doppelbindungen vorhanden sind. Die Alkali-Stabilität der Verbindungen wurde untersucht.

Vor einiger Zeit wurde von J. H. TURNBULL und W. WILSON<sup>1)</sup> über die Diphenylphosphate von  $\Delta^5$ -Sterinen berichtet. Dabei wurden die bisher bekannten Methoden zur Darstellung von Phosphorsäure-Estern nach H. v. EULER und Mitarbeitern<sup>2)</sup> sowie PLIMMER und BURCH<sup>3)</sup> und TH. WAGNER-JAUREGG<sup>4)</sup> neben anderen Autoren als wenig befriedigend erwähnt. In der vorliegenden Arbeit wurde überprüft, ob die Differenzen in den Eigenschaften der von verschiedenen Autoren hergestellten Mono- bzw. Disteryl-Phosphate auf der Bildung beständiger Zwischenverbindungen im Verlauf der Reaktion beruhen. Die direkte Phosphorylierung von Cholesterin, Ergosterin, Lumisterin und Vitamin-D<sub>2</sub> mit Hilfe von Phosphoroxychlorid in Pyridin wurde nach v. EULER und Mitarbeitern<sup>2)</sup> bzw. nach PLIMMER und BURCH<sup>3)</sup> durchgeführt. Es gelang auf diese Weise nicht, die von PLIMMER und BURCH beschriebenen Triphosphate zu erhalten. Wahrscheinlich liegt in diesem Fall sterische

1) J. H. TURNBULL u. W. WILSON, J. chem. Soc. [London] **1954**, 2301.

2) H. v. EULER, A. BERNTON, A. WOLF und H. HELLSTRÖM, Ber. dtsh. chem. Ges. **60**, 1720 (1927); **62**, 2451 (1929).

3) R. N. A. PLIMMER u. W. J. N. BURCH, J. chem. Soc. [London] **181**, 279, 292 (1929).

4) TH. WAGNER-JAUREGG, Ber. dtsh. chem. Ges. **74**, 1513 (1941).

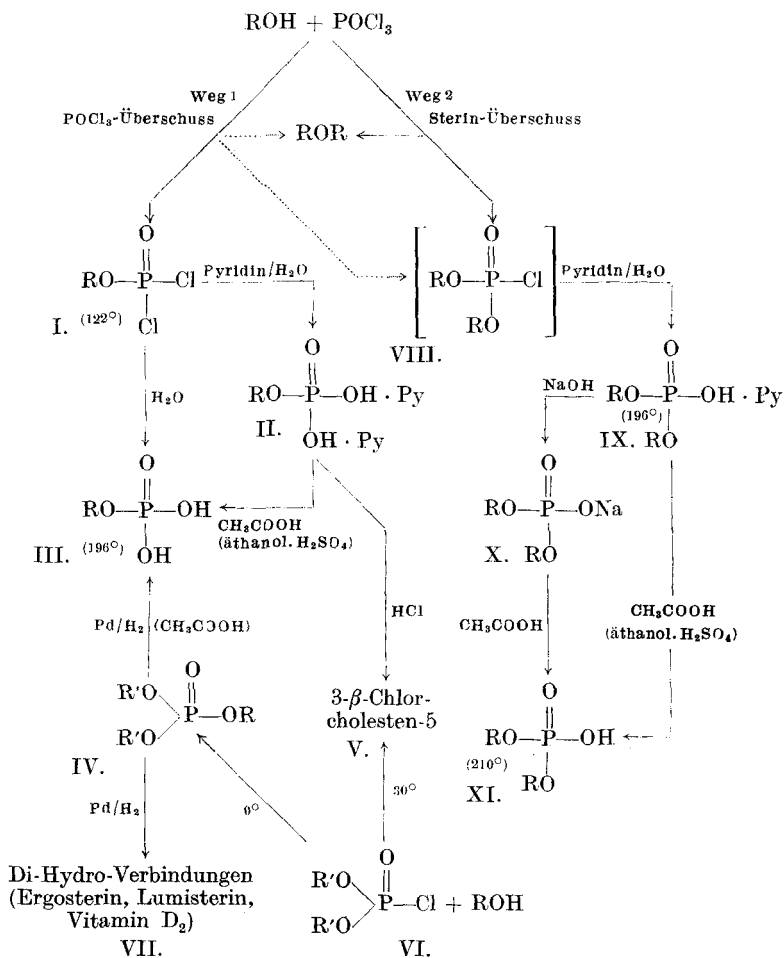
Hinderung vor, die eine Bildung der Tristerylphosphate aus Raumerfüllungsgründen nicht zuläßt. Dies steht in Übereinstimmung mit Betrachtungen am Kalottenmodell.

Bei der Veresterung des Cholesterins erhält man, je nachdem ob man Phosphoroxychlorid oder das in Pyridin gelöste Cholesterin zu Beginn der Reaktion im Überschuß hält, entweder das Mono- oder das Dicholesterylphosphat als Endprodukt. Bei der Darstellung des Monocholesterylphosphates läßt man Cholesterin, gelöst in wasserfreiem Pyridin, zu einer ausreichenden Menge in Aceton gelöstem Phosphoroxychlorid zutropfen. Dabei erfolgt lebhaftere Reaktion und unter starkem Erwärmen wird zunächst das Dichlor-Derivat (I) gebildet, das in Übereinstimmung mit v. EULERS Befund<sup>2)</sup> einen Schmelzpunkt von 122° besitzt, nebenher entsteht Pyridiniumchlorid. Unterwirft man Monocholesterylphosphatdichlorid (I) der Hydrolyse durch Kochen in Wasser, so erhält man in Abwesenheit von Pyridin direkt das Monocholesteryldihydrogenphosphat (III). Wird jedoch das Dichlorid (I) nicht isoliert bzw. nach Isolierung nicht völlig von Pyridin befreit, wie es bei den bisher beschriebenen Verfahren der Fall ist, so erhält man zunächst das reine Pyridin-Addukt (II) oder ein Gemisch des Pyridin-Adduktes mit dem Monophosphat(III). Das Pyridin-Addukt(II) bzw. die zuletzt erwähnten Gemische können durch Erhitzen in Eisessig oder in verdünnter alkoholischer Schwefelsäure in das Monophosphat(III) überführt werden. Salzsäure ist zu vermeiden, da dann Übergang in das 3- $\beta$ -Chlorcholesten-5(V) unter Umständen erfolgen kann. In ähnlicher Weise erhält man über analoge Zwischenverbindungen Dicholesterylmonohydrogenphosphat(XI), wenn man zu Beginn der Reaktion Cholesterin im Überschuß hält und Phosphoroxychlorid zutropft. Ein nachträglicher Überschuß an Phosphoroxychlorid führt nicht mehr zur Bildung des Monophosphates(III), jedoch muß vermerkt werden, daß bei der Darstellung des Monophosphates(III) nebenher etwas Diphosphat(XI) gebildet wird. Aus diesem Grund ist die Phosphorylierung mit Phosphoroxychlorid besser zur Darstellung des Diphosphates(XI) geeignet.

Das im Verlauf der Darstellung des Diphosphates(XI) gebildete Dicholesterylpyridin-Addukt(IX), Schmp. 194–196°, konnte isoliert werden, während das als Zwischenstufe vermutlich in Analogie zu Weg 1 auftretende Chlor-Derivat(VIII) nicht nachweisbar war. Wie sich aus dem folgenden Schema ergibt, entspricht dieser Wert dem des Monophosphates(III).

Bei der Darstellung des Diphosphates(XI), bei der Pyridin von Anfang an im Überschuß vorliegt, erhält man stets zunächst das Pyridin-Addukt(IX), das entweder durch längeres Kochen mit verdünnter alkoholischer

Schwefelsäure oder besser durch Umkristallisation aus Eisessig (Erhitzen am Rückflußkühler), um Nebenreaktionen zu vermeiden, in das Diphosphat(XI) überführt werden kann.



R = Cholesteryl-, (Ergosteryl-, Lumisteryl-, Vitamin D<sub>2</sub>-); R' = Benzyl-.

Die Bildung der oben erwähnten Pyridin-Addukte dürfte daher für die Widersprüche der verschiedenen Autoren verantwortlich sein. Da die Pyridin-Addukte bisher nicht bekannt waren, bestand die Gefahr der Verwechslung des Pyridin-Adduktes des Dicholesterylphosphates(IX) mit dem Monophosphat(III) auf Grund des gleichen Schmelzpunktes (195–196°). Des weiteren können die Mono- bzw. Dicholesterylphosphate(III und XI) von ihren entsprechenden Pyridin-Addukten auf Grund

des Analysenbefundes kaum auseinandergelassen werden, da die berechneten Werte für die Gehalte an C, H und P bei den Pyridin-Addukten, verglichen mit den zugehörigen freien Phosphaten, sehr dicht beieinanderliegen. Sie befinden sich zum Teil innerhalb der Fehlergrenze der analytischen Methoden.

Die geringe Spezifität der Reaktion gibt sich des weiteren zu erkennen, wenn man zur Phosphorylierung der anderen eingangs erwähnten Sterine übergeht. Es entsteht zwar bei der Reaktion von Ergosterin mit Phosphoroxychlorid in Analogie das Monoergosterylphosphat, jedoch erhält man bei der Reaktion gemäß Weg 2 fast ausschließlich Diergosteryläther. Von PLIMMER und BURCH<sup>3)</sup> wurde auch bei der Reaktion nach Weg 2 beim Cholesterin neben dem Diphosphat(XI) Dicholesteryläther in geringer Menge erhalten, was auch von uns beobachtet wurde. Die Di-sterylätherbildung tritt vermutlich in allen Fällen als Nebenreaktion in gewissem Umfang auf und kann unter Umständen, wie z. B. bei Ergosterin, völlig in den Vordergrund treten<sup>3)</sup>.

Bei der Reaktion von Phosphoroxychlorid in Pyridin mit Lumisterin bzw. Vitamin-D<sub>2</sub> wird sowohl nach Weg 1 als auch Weg 2 stets nur das Dilumisteryl- bzw. Divitamin-D<sub>2</sub>-monohydrogenphosphat erhalten. Die Pyridin-Addukte der letztgenannten Verbindungen wurden nicht isoliert.

Was die Bildung des Pyridin-Adduktes als Zwischenverbindung bei der Darstellung des Cholesterylphosphates angeht, so handelt es sich um eine Allgemeinreaktion, wie sie bei der Veresterung mit Säurechloriden an

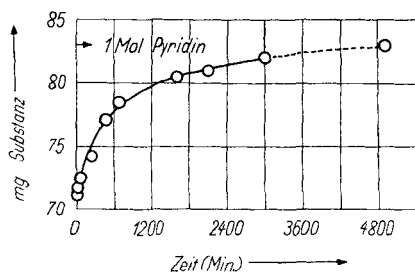


Abb. 1. Pyridin-Aufnahme des Monocholesterylphosphates bei 22°

anderen Systemen schon früher beobachtet wurde<sup>5)</sup>. Zu bemerken ist, daß die Bildung der Pyridin-Addukte der Sterylphosphorsäureester jedoch nur bei der Hydrolyse der Sterylphosphorsäurechloride in Gegenwart von Pyridin erfolgt, während bei der Einwirkung von Pyridin auf die bereits gebildeten Sterylphosphate lediglich vom Monophosphat(III) 1 Mol Pyridin/Mol Ester aufgenommen wird (Abb. 1).

Das Diphosphat(XI) lagert unter diesen Bedingungen kein Pyridin mehr an. Das unterschiedliche Verhalten der Phosphorsäureester bzw.

<sup>5)</sup> H. VENNERT, J. prakt. Chem. [3], **275**, 13 (1956); H. ADKINS u. QU. E. THOMSON, J. Amer. chem. Soc. **71**, 2242 (1949).



sterin und Phosphoroxychlorid in Pyridin gemäß Weg 1 erhaltenen Monocholesterylphosphat(III), wodurch die Identität des auf dem ersten Weg erhaltenen Cholesterylphosphates weiterhin bestätigt wurde.

Läßt man die Reaktion bei höherer Temperatur (oberhalb 0°) verlaufen, so erhält man in steigendem Maße, bei 30–40° in etwa 90proz. Ausbeute, 3- $\beta$ -Chlorcholesten-5(V) neben wenig anderen phosphorfreen Produkten. Man kann daher diese Reaktion auch zur Darstellung von 3- $\beta$ -Chlorcholesten-5(V) verwenden. Da andererseits bei niedriger Temperatur keine Umsetzung erfolgt, sind die Reaktionsbedingungen sehr kritisch.

Anders als bei dem Cholesterin liegen die Verhältnisse bezüglich der Hydrierbarkeit der Doppelbindung bei den Sterinen der Ergosterin-Reihe. Zwar ist beim Ergosterin die Doppelbindung in Stellung 5, da Ring B geschlossen ist, ebenfalls nicht hydrierbar<sup>9)</sup>, wohl jedoch die übrigen in Stellung 7 bzw. 22. Für Lumisterin gilt das gleiche, jedoch ist hier infolge anderer Ringverknüpfung Doppelbindung 5 außerdem hydrierbar. Im Falle des Vitamin-D<sub>2</sub> sind vor allem die Doppelbindungen 10, 5 und 7 in der angegebenen Reihenfolge hydrierbar; je nach Reaktionsbedingungen erhält man partiell hydrierte Dehydrovitamine<sup>10)</sup>, die verschiedene Isomere bilden. Aus diesem Grunde konnten bei Ergosterin, Lumisterin und Vitamin-D<sub>2</sub> nur die Dibenzylmonoergosterylphosphate hergestellt werden, während bei Lumisterin und Vitamin-D<sub>2</sub> Produkte entstanden, die auf die Tetrabenzylsterylpyrophosphate hinweisen. Die Hydrogenolyse verlief beim Vitamin-D<sub>2</sub>-Präparat unter Aufnahme von fast der dreifachen Wasserstoffmenge, wobei gelbe Kristalle erhalten wurden, die einen unscharfen Zersetzungspunkt bei 130° besaßen. Sie wurden nicht näher untersucht.

Des weiteren wurde die Spaltung der Phosphorsäureester des Cholesterins in äthanol. KOH, bzw. NaOH und Natriumäthylat bei normalem Druck sowie im geschlossenen Rohr untersucht. Dabei konnte die von anderen Autoren festgestellte Alkali-Stabilität der Sterylphosphate bestätigt werden. Unter diesen Bedingungen wurden stets nur die K- bzw. Na-Salze der entsprechenden Phosphate(X) erhalten, obwohl die Ver-

<sup>9)</sup> Die Nicht-Hydrierbarkeit der Doppelbindung in Stellung 5 hat bei Cholesterin wie auch Ergosterin seine Ursache in der schweren Zugänglichkeit des C<sub>5</sub>, da bei der vorhandenen *cis*-Verknüpfung der Ringe A und B die anderen benachbarten Kohlenstoffatome abschirmend wirken, wie sich am Kalottenmodell leicht zeigen läßt.

<sup>10)</sup> K. SCHUBERT, *Biochem. Z.* **326**, 132 (1954); *Biochem. Z.* **328**, 199 (1956); F. v. WERDER, *Liebigs Ann. Chem.* **603**, 15 (1957); vgl. auch H. H. INHOFFEN, in *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe* (herausgegeben von L. ZECHMEISTER) XVII, S. 70 (1959), Verlag Springer, Wien; H. DANNENBERG, H. SCHEUERLEN, D. DANNENBERG u. v. DRESLER, *HOPPE-SEYLER'S Z. physiol. Chem.* **303**, 282 (1956).

seifung bis zu 15 Stdn. bei 120–150° durchgeführt wurde. Die Alkali-Salze konnten durch Behandeln mit siedendem Eisessig wieder in die freien Phosphorsäure-Ester(III) bzw. XI) überführt werden. Wenn man das Pyridin-Addukt des Dicholesterylphosphates(IX) zunächst mit Alkali behandelt, so erhält man unter Abspaltung von Pyridin das Alkali-Salz, welches beim Behandeln mit Eisessig in das freie Diphosphat(XI), Schmp. 210°, übergeht. Das Alkali-Salz(X) sowie das auf diesem Weg hergestellte Diphosphat(XI) erwiesen sich identisch mit dem gemäß Weg 2 hergestellten Dicholesterylphosphat(XI) bzw. dessen Natrium-salz(X).

Während auch die Ca-Salze des Mono- und Dicholesterylesters erhalten werden konnten, gelang es nicht, die entsprechenden Barium Salze zu isolieren.

## Beschreibung der Versuche

### Monocholesteryldihydrogenphosphat

10 g Cholesterin, i. Vakuum getrocknet, werden nach dem Lösen in 50 cm<sup>3</sup> wasserfreiem Pyridin langsam unter Außenkühlung mit Wasser in eine Lösung von 8,8 cm<sup>3</sup> frisch destilliertem POCl<sub>3</sub> in 50 cm<sup>3</sup> getrocknetem Aceton einfließen lassen, bei einer Temperatur nicht über 40°. Der erhaltene farblose kristalline Niederschlag wird abgesaugt, mit Aceton nachgewaschen und aus Äther umkristallisiert. Das reine Dichlorid des Monocholesterylphosphates wird dabei als prismatische Nadeln, Schmp. 122°, erhalten. Ausbeute 12,7 g (98,5% d. Th.). Zu beachten ist, daß das Dichlorid so lange mit Aceton ausgewaschen wird, bis sämtliches Pyridin entfernt ist. Das so gereinigte Dichlorid wird anschließend durch mehrstündiges Kochen mit Wasser am Rückflußkühler hydrolysiert, wobei man eine voluminöse Masse erhält, die über Ton getrocknet einen Schmp. 193° besitzt. Nach Umkristallisation aus absolutem Alkohol erhält man das Monocholesteryldihydrogenphosphat als mikroskopisch kleine Nadeln, Schmp. 195–196°. Ausbeute 2 g (16,5% d. Th.).

l. in Chloroform und Pyridin; sl. in Eisessig, Äther, Benzol, Äthanol und Methanol; ul. in Wasser und Aceton.

$C_{27}H_{47}O_4P$  (466,6) ber.: C 69,53; H 10,16; P 6,64

gef.: C 69,56; H 9,81; P 6,35 (MG 450) (BARGER-RAST)

$[\alpha]_D^{24}$ : – 40,8° (c = 0,5 in CHCl<sub>3</sub>)

Als Nebenprodukt wird Dicholesterylphosphat in Gestalt weißer Nadeln, Schmp. 210°, aus der Alkohol-Mutterlauge erhalten. Ausbeute etwa 0,5 g (4,6% d. Th.) (vgl. 2)). Wenn man das Dichlorid nicht isoliert bzw. nicht von Pyridin durch Waschen mit Aceton befreit, so gelangt man über das Pyridin-Addukt auch zum Monocholesterylphosphat. Die Aufarbeitung ist jedoch wesentlich schwieriger. Das ursprünglich Pyridin enthaltende Reaktionsgemisch, ausgehend von 10 g Cholesterin, wird mit Wasser hydrolysiert, indem man das Wasser zu Anfang vorsichtig zum Reaktionsgemisch zusetzt. An dieser Stelle erhält man leicht Emulsionen, die sich mit organischen Lösungsmitteln nicht zur Trennung bringen lassen, da die letzteren mitemulgieren werden. Bei vorsichtigem Arbeiten erhält man eine Suspension, aus der der flockige Niederschlag durch Filtration abgetrennt werden kann. Nach gründlichem Auswaschen mit Wasser und Umkristallisation aus Äthanol besitzt die Substanz einen Schmp. von 160–170°, der sich auch durch Umkristallisation

aus anderen organischen Lösungsmitteln nicht verändern läßt. Die Substanz enthält Pyridin, wie sich durch Erhitzen mit Natronlauge ergibt, und ist das Gemisch des 1 Mol bzw. 2 Mol. Pyridin enthaltenden Monocholesterylphosphates. Nebenher entsteht das Pyridin-Addukt des Dicholesterylphosphates vom Schmp. 195°, das aus der alkoholischen Mutterlauge erhalten wird.

Durch „Umkristallisation“ des Pyridin-Adduktes des Monocholesterylphosphates aus siedendem Eisessig erhält man weiße Nadeln vom Schmp. 195–196°, auf Grund des Misch-Schmp. identisch mit dem Monocholesterylphosphat. Auf die gleiche Weise wurde das Pyridin-Addukt des Dicholesterylphosphates in das freie Phosphat überführt. Die Identität wurde durch Misch-Schmp. mit gemäß Weg 2 hergestelltem Dicholesterylmonohydrogenphosphat bewiesen.

Andererseits erhält man das Monocholesterylphosphat nach dem letzteren Verfahren in Gegenwart von Pyridin, wenn man die Hydrolyse mit verdünnter äthanol. Schwefelsäure unter den zuletzt geschilderten Bedingungen vornimmt.

### Dicholesterylmonohydrogenphosphat

Eine Lösung von 50 g Cholesterin, im Vakuum getrocknet, in 200 cm<sup>3</sup> wasserfreiem Pyridin, werden unter Eiskühlung mit 20 cm<sup>3</sup> frisch destilliertem POCl<sub>3</sub> tropfenweise versetzt, bei einer Temperatur nicht über 40°. Der erhaltene dicke kristalline Brei wird 1 Stunde stehengelassen, wobei er sich rosa färbt, und anschließend vorsichtig mit Wasser angespritzt, um eine Emulsionsbildung zu vermeiden (wenn an dieser Stelle Emulsionsbildung auftrat, so konnte sie durch keine der üblichen Maßnahmen zur Phasentrennung gebracht werden). Der unter der gelb bis rosa gefärbten klaren Mutterlauge sich absetzende dicke kristalline Brei wird nach ca. 12 Stunden abgesaugt und mit Methanol nachgewaschen. Nach scharfem Absaugen und Trocknen im Vakuum über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> erhält man das Pyridin-Addukt des Dicholesterylmonohydrogenphosphats, Schmp. 195–196°, nach Umkristallisieren aus Äthanol. Ausbeute 15 g (25,4% d. Th.).

l. in Pyridin; sl. in Äthanol, Chloroform, Eisessig und Benzol; ul. in Wasser und Methanol. Farbreaktion nach SALKOWSKY: zitronengelb → dunkelgelb → orange → rot → violett → grün fluoreszierend. LIEBERMANN-BURCHARDT: hellblau → blaugrün → olivgrün.

C<sub>59</sub>H<sub>96</sub>O<sub>4</sub>NP (914,2) ber.: C 77,50; H 10,58; N 1,53

gef.: C 77,14; H 10,71; N 1,08

ber.: Py 8,66

gef.: Py 8,16 als Kupferrhodanidpyridin (nach BAUER<sup>11)</sup>)

Pyridin wird auch bei 110° über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> nicht abgegeben. Beim Aufarbeiten der alkoholischen Mutterlauge der Umkristallisation erhält man eine feste Masse über öligbraunem Rückstand, der nach Umkristallisieren aus Eisessig Kristalle vom Schmp. 64° lieferte, frei von Pyridin. Nach Umkristallisation aus Äther wurde Dicholesteryläther vom Schmp. 74° erhalten. Ausbeute 10,2 g (20,9% d. Th.).

Beim Vergleich mit authentischem Material keine Schmp.-Depression und gleiches Löslichkeitsverhalten.

Aus dem oben erhaltenen Pyridin-Addukt wird das freie Dicholesterylphosphat durch Umkristallisation aus Eisessig oder Kochen mit alkoholischer Schwefelsäure erhalten, Schmp. 210°.

<sup>11)</sup> K. H. BAUER, Die organische Analyse, Akademische Verlagsges. Becker & Erler, Kom.-Ges. 1945, S. 166.



l. in Chloroform, Benzol, Pyridin, Tetrachlorkohlenstoff; sl. in Eisessig, Äthanol, Methanol. Ausbeute 11,2 g (18,6% d. Th.).

$[\alpha]_D^{24}$ :  $-22,15^\circ$  ( $c = 0,5$ , in  $\text{CHCl}_3$ )

$\text{C}_{54}\text{H}_{91}\text{O}_4\text{P}$  (835,2) ber.: C 77,66; H 10,98; P 3,71

gef.: C 77,65; H 10,96; P 3,83 (MG 835) (BARGER-RAST)

### Monoergosteryldihydrogenphosphat

Zu 7,6 g frisch destilliertem  $\text{POCl}_3$  läßt man eine Lösung von 39,6 g Ergosterin, getrocknet im Vakuum in  $360\text{ cm}^3$  wasserfreiem Pyridin unter Rühren zutropfen. Die nach einer halben Stunde Stehenlassen gebildete kristalline weiße Masse wird portionsweise in 1 l Wasser eingegossen. Die abgeschiedenen Kristalle werden nach Stehen über Nacht abgesaugt, mit Wasser und Methanol gewaschen und über  $\text{P}_2\text{O}_5$  im Vakuum mehrere Tage getrocknet. Anschließend wird wiederholt aus Aceton umkristallisiert. Ausbeute 1,2 g Monoergosteryldihydrogenphosphat (2,6% d. Th., bezogen auf das gesamte eingesetzte Cholesterin), Schmp.  $165\text{--}168^\circ$ ; 2,5 g Diergosteryläther (6,5% d. Th., bezogen auf das gesamte eingesetzte Cholesterin), Schmp.  $99,5^\circ$ , nach Umkristallisation aus Methanol neben 18,5 g nicht umgesetztem Ergosterin. Außerdem 17 g Substanz, Schmp.  $140\text{--}141^\circ$  nach Umkristallisation aus Methanol, die kein P und Halogen enthielt (nicht näher identifiziert).

### Monoergosteryldihydrogenphosphat

l. in  $\text{CHCl}_3$ ; sl. in Aceton; ul. in Äther.

$\text{C}_{28}\text{H}_{45}\text{O}_4\text{P}$  (476,6) ber.: C 70,56; H 9,52; P 6,5

gef.: C 70,26; H 9,74; P 4,7 (MG 470) (BARGER-RAST)

### Diergosteryläther

$\text{C}_{56}\text{H}_{86}\text{O}$  (775,2) ber.: C 86,76; H 11,18

gef.: C 86,51; H 11,21

### Inverse Reaktion zwischen Ergosterin und $\text{POCl}_3$ in Pyridin (Darstellung von Diergosteryläther)

Die Lösung von 20 g Ergosterin, getrocknet im Vakuum in  $60\text{ cm}^3$  wasserfreiem Pyridin, wurde nach Erwärmen von  $60^\circ$  auf  $0^\circ$  im Eisbad abgekühlt, und anschließend mit frisch destilliertem  $\text{POCl}_3$  langsam versetzt bei einer Temperatur nicht höher als  $20^\circ$ . Nach einer halben Stunde Stehenlassen schied sich ein dicker gelber Kristallbrei ab, der sich beim Versetzen mit Wasser kristallin von der überstehenden orangefarbenen Lösung trennte. Nach dem Stehenlassen über Nacht, Absaugen, Waschen mit Wasser und Trocknen wurden 11 g gelbe Rohsubstanz erhalten, die nach Umkristallisation aus Äthanol 8,4 g noch etwas gelb gefärbten Diergosteryläther vom Schmp.  $93^\circ$  lieferte. Nach wiederholtem Umkristallisieren aus Äthanol unter Entfärben mit Aktivkohle wurden schließlich 2,3 g Diergosteryläther (11,8% d. Th.) als weiße, silbrig glänzende Blättchen, Schmp.  $102^\circ$ , auch im Gemisch mit authentischer Substanz, erhalten.

l. in Methanol, Äthanol, Chloroform, Benzol, Xylol; sl. in Eisessig.

$\text{C}_{56}\text{H}_{86}\text{O}$  (775,2) ber.: C 86,76; H 11,18

gef.: C 86,71; H 11,32

$[\alpha]_D^{24}$ :  $+88,1^\circ$  ( $c = 1,0$ , in Chloroform)

Diergosterinphosphat konnte nicht als Nebenprodukt erhalten werden, in Übereinstimmung mit PLIMMER und BURCH<sup>3)</sup> und im Gegensatz zu v. EULER, WOLF und HELLSTRÖM<sup>2)</sup>.

### Apparatur zur Phosphorylierung unter Luftausschluß

Zur Durchführung der Phosphorylierung des bedeutend empfindlicheren Lumisterins und des Vitamin-D<sub>2</sub> mit Phosphoroxchlorid, desgleichen für alle Phosphorylierungen mit Dibenzylchlorphosphonat erwies es sich auf Grund von Vorversuchen als notwendig, die Technik abzuändern. Demgemäß wurde die Apparatur nach Abb. 2 zur Vermeidung des Einflusses von Luftsaauerstoff und Luftfeuchtigkeit für alle weiteren Phosphorylierungen benutzt.

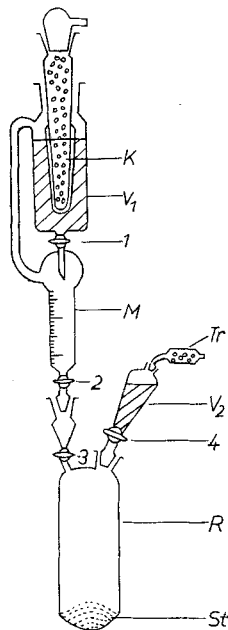


Abb. 2. Apparatur zur Phosphorylierung von Sterinen. K = Filterkerze mit Kalziumhydrid, M = Meßgefäß, V<sub>1</sub> = Pyridin-Vorratsgefäß, V<sub>2</sub> = Vorratsgefäß für Phosphorylierungsmittel, R = Reaktionsgefäß, Tr = Trockenrohr mit Kalziumhydrid, St = Sterin, 1, 2, 3, 4 = Glasähne (nicht maßstäblich)

Das Pyridin-Vorratsgefäß (V<sub>1</sub>) wird mit destilliertem Pyridin beschildet und die Filterkerze (K), die mit Kalziumhydrid gefüllt ist, wird eingesetzt, wobei die Hähne 1 und 2 geschlossen sind. Nach mehrtägigem Stehen ist das Pyridin und die Luft im Vorratsgefäß sowie im Meßgefäß ausreichend getrocknet. In das zunächst von der Apparatur getrennte Reaktionsgefäß wird das zu phosphorylierende Sterin durch den Schliff unter dem Hahn 4 eingefüllt und mit dem Hahn 3 nach Aufsetzen des Vorratsgefäßes für Phosphorylierungsmittel (V<sub>2</sub>) an eine Vakuumapparatur angeschlossen. Dann wird das Sterin im siedenden Wasserbad mehrere Stunden im Vakuum getrocknet und das Reaktionsgefäß in der in Abb. 2 skizzierten Weise angeschlossen<sup>12)</sup>. Anschließend wird bei geöffnetem Hahn 2 etwa 10 Minuten lang durch vorsichtiges Fächeln mit einem Bunsenbrenner ausgeheizt. Nach dem Abkühlen wird Hahn 2 wieder geschlossen und nun durch Öffnen des Hahnes 1 die benötigte Menge Pyridin in das Gefäß eingelassen. Nach Öffnen des Hahnes 2 wird vorsichtig das Pyridin in das Reaktionsgefäß eingesaugt. Einen kleinen Rest an Pyridin läßt man über dem Hahn 3 stehen. Nach Schließen des Hahnes 3 wird Hahn 2 geöffnet und das Reaktionsgefäß von der Apparatur getrennt. Das bereits vorher in das seitliche Gefäß eingefüllte Phosphorylierungsmittel, das durch ein Kalziumhydrid-Rohr von der Außenluft abgetrennt aufbewahrt wird, wird ebenfalls langsam zugelassen. Dabei wird geschüttelt und je nach den Reaktionsbedingungen im Kältebad gekühlt.

### Dilumisterinhydrogenphosphat

13,5 g Lumisterin vom Schmp. 116–118° wurden nach 4 Stunden Trocknen bei 10<sup>-4</sup> Torr, Badtemperatur 60°, in 50 cm<sup>3</sup> wasserfreiem Pyridin in der oben erwähnten Apparatur gelöst. In der angegebenen Weise wurden 1,9 cm<sup>3</sup> POCl<sub>3</sub> zugegeben. Es erfolgte starke Erwärmung bis auf etwa 50° unter Auskristallisieren von Pyridiniumchlorid. Nach 3stündigem Stehen wurde mit wenig Wasser versetzt, bis alles Pyridiniumchlorid gelöst

<sup>12)</sup> Der leere Raum zwischen Hahn 2 und 3 wird so gering als möglich bemessen, um die dort vorhandene Feuchtigkeit gering zu halten.

war, wobei sich in der roten Reaktionslösung gelbe Öltropfen abschieden und die Lösung sofort in 1 l Eiswasser eingegossen. Dabei schied sich unter Rühren eine weißgelbe fädige Masse ab, die sofort abgesaugt wurde<sup>13)</sup>. Die gelbe klebrige Masse wurde gut mit Wasser ausgewaschen und durch mehrtägiges Trocknen im Exsikkator über  $P_2O_5$  von Pyridin und Wasser befreit. Die noch etwas klebrige Substanz wurde verrieben und über  $P_2O_5$  10 Tage getrocknet. Es wurden 12,6 g Dilumisterinhydrogenphosphat als gelbes Rohprodukt vom Schmp. 98–100° erhalten. Das Filtrat wurde mehrmals mit je 1,5 l Chloroform ausgeschüttelt bis es farblos war. Die vereinigten Chloroform-Extrakte wurden auf ca. 200 cm<sup>3</sup> eingengt, 3mal mit Wasser, 2mal mit Natriumbikarbonat, nochmals mit Wasser gewaschen und schließlich mit Natriumsulfat getrocknet. Nach anschließendem Einengen und gutem Trocknen im Vakuum wurde ca. 1 g ölicher Rückstand erhalten, der nach Veresterung mit 3,5-Dinitrobenzylchlorid in Pyridin eine öligharige Substanz ergab, die auch nach Umkristallisation aus Äthanol nicht zur Kristallisation zu bringen war. Es handelt sich vermutlich um ein Umwandlungsprodukt des Lumisterins.

Das oben erwähnte Rohprodukt vom Schmp. 98–100° lieferte nach Umkristallisation aus Aceton 10 g Dilumisterinphosphat (86,5% d. Th.) als amorphes Pulver, Schmp. 100–102°.

ll. in Chloroform, Äthanol, Benzol, Toluol; l. in  $CCl_4$  und Methanol; sl. in Aceton; ul. in Wasser.

$C_{56}H_{87}O_4P$  (855,2) ber.: C 78,64; H 10,26; P 3,62  
gef.: C 78,53; H 10,54; P 3,40

Aus der Mutterlauge wurde eine geringe Menge einer phosphorfreien Substanz vom Schmp. 78–82° erhalten, die nicht näher untersucht wurde.

### Divitamin-D<sub>2</sub>-Phosphat

Eine Lösung von 10,6 g Vitamin-D<sub>2</sub> vom Schmp. 115°, getrocknet bei 10<sup>-4</sup> Torr, Badtemperatur 60°, in 40 cm<sup>3</sup> wasserfreiem Pyridin wurde in der oben erwähnten Apparatur mit 2 cm<sup>3</sup> frisch destilliertem  $POCl_3$  tropfenweise versetzt. Die Temperatur stieg dabei auf 50°. Es wurde von außen mit Wasser gekühlt. Es schied sich ein gelber Kristallbrei von Pyridiniumchlorid aus der rotgefärbten Lösung ab, der mit wenig Wasser versetzt wurde und anschließend in etwa 1 l Eiswasser eingegossen wurde. Der weiße teilweise fädige Niederschlag wurde über Nacht stehengelassen und abgesaugt. Im Verlauf der Filtration wurde die Masse gallertartig, so daß nicht trockengesaugt werden konnte und wurde daher im gleichen Vol. Chloroform aufgenommen, wobei sich eine wäßrige Schicht abtrennte. Aus der Chlorformschicht wurde das Pyridiniumchlorid, wie voranstehend, ausgewaschen. Aus dem getrockneten Chloroform wurde nach Einengen im Vakuum eine gelbe ölige Substanz erhalten, die durch mehrmaliges Behandeln mit Äthanol und Versetzen mit Aceton nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte. Nach Einengen im Vakuum erstarrte das Öl zu einer schaumigen Masse, die nach Zerreiben 9,1 g Divitamin-D<sub>2</sub>-Phosphat als gelbes, amorphes Rohprodukt vom Schmp. 120–122° lieferte.

Aus der beim Filtrieren erhaltenen Mutterlauge wurden durch 2maliges Extrahieren mit je 300 cm<sup>3</sup> Äther nach Waschen und Trocknen der Ätherschicht etwa 0,2 g braune, ölige phosphorfreie Substanz erhalten, die nicht zur Kristallisation zu bringen war.

<sup>13)</sup> Die Filtration ist meist nach 15 Minuten beendet, jedoch verstopfen die Filterporen (G 2) gelegentlich, so daß die Filtration dann wesentlich länger dauert.

Das Rohprodukt vom Schmp. 120–122° wurde im Mörser mit absol. Alkohol schnell verrieben, wobei sich eine weiße, flockige Substanz bildete. Nach Trocknen im Vakuum über  $P_2O_5$  wurden 8,3 g (72,6% d. Th.) weißes, amorphes Pulver vom Schmp. 143–144,5° erhalten. ll. in Chloroform und Pyridin; l. in Äthanol; sl. in Benzol und Toluol; ul. in Wasser, Methanol und Aceton.

$C_{56}H_{87}O_4P$  (855,2) ber.: C 78,64; H 10,26; P 3,62  
gef.: C 78,50; H 10,09; P 3,91

Aus der Mutterlauge wurden noch 1,6 g weiße, kristallisierte Flocken einer nicht näher untersuchten Substanz vom Schmp. 100–102° erhalten.

### Moncholesteryldibenzylphosphat

10,5 g Cholesterin, Schmp. 148°, getrocknet bei  $10^{-4}$  Torr/20°, wurden in 100 cm<sup>3</sup> wasserfreiem Pyridin gelöst. Die Lösung wurde in der oben genannten Apparatur durch Abkühlen im  $CO_2$ /Methanol-Bad eben zum Erstarren gebracht (Badtemperatur – 40°), wobei intensive Thermochromie-Effekte zu beobachten waren (weiß/violett). Es wurde mit frisch bereitetem Dibenzylphosphorylchlorid<sup>14)</sup> portionsweise versetzt, das durch Einengen im Vakuum bei 5 Torr, nicht über 35°, vom Lösungsmittel und überschüssigem Halogen befreit wurde. Das Reaktionsgemisch erwärmte sich unter Gelbfärbung und wurde 3 Stunden bei – 40° in einem  $CO_2$ /Methanol-Bad und anschließend über Nacht bei Zimmertemperatur stehengelassen. Dann wurde mit 25 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt, wobei vorübergehend Trübung und Schichtentrennung eintrat<sup>15)</sup>.

Die obere Schicht wurde zur Isolierung des Kalziumsalzes des Moncholesterinphosphates verwendet (siehe unten). Die untere Schicht wurde nach dem Abtrocknen mit etwa dem doppelten Volumen frisch destilliertem Chloroform mehrmals ausgeschüttelt, wobei zu Beginn wegen Emulsionsbildungsneigung vorsichtig geschüttelt wurde. Die vereinigten Chloroform-Extrakte wurden durch mehrmaliges Waschen mit 2 n HCl von Pyridin befreit, anschließend wurde mit Natriumbikarbonat und mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Aus dem getrockneten Extrakt wurde nach Einengen im Vakuum eine gallertartige Masse erhalten, die in wenig Methanol gelöst wurde. Nach kurzem Stehen schieden sich Flocken, Schmp. 198°, aus. Nach Umkristallisation aus Essig-Ester wurden 4,7 g Dibenzylcholesteryldibenzylphosphat (26,8% d. Th.) als mikroskopisch kleine weiße Nadelchen vom Schmp. 210° erhalten.

l. in Benzol, Chloroform und Äther; sl. in Eisessig und Essigester; ul. in Wasser, Äthanol und Methanol.

$C_{41}H_{61}O_4P$  (646,9) ber.: C 76,12; H 9,20; P 4,79  
gef.: C 75,85; H 9,14; P 4,98

Aus der Mutterlauge konnten etwa 6 g Cholesterin, Schmp. 148°, nach Umkristallisation aus Methanol zurückgewonnen werden. Als Nebenprodukt fiel noch eine geringe Menge  $\beta$ -Chlorcholesten-5 in Gestalt feiner Nadeln vom Schmp. 93° an.

<sup>14)</sup> hergestellt durch Zugabe einer 1,4 n Chlörlösung in 100 cm<sup>3</sup>  $CCl_4$  zu 19,5 g Dibenzylphosphit, n 25° D = 1,5535 in 100 cm<sup>3</sup>  $CCl_4$ .

<sup>15)</sup> Ein weiterer Zusatz von Wasser führt zu Emulsionen, die sich schlecht trennen lassen. Schichttrennung kann gegebenenfalls durch Zugabe von Chloroform, welches mit etwas Methanol versetzt ist, erreicht werden.

**Monocholesterylphosphat aus vorstehender Verbindung**

a) Eine Lösung von 1,4 g Dibenzylcholesterylphosphat, Schmp.  $210^\circ$ , wurde gut gepulvert in eine Suspension von  $200\text{ cm}^3$  Alkohol gegeben und mit 0,4 g Palladium und 3 g Aktivkohle versetzt und anschließend bei Zimmertemperatur hydriert. Nach 4 Stunden waren  $270\text{ cm}^3$  Wasserstoff (korr.) aufgenommen (ber.  $277,1\text{ cm}^3$ ). Die Suspension wurde abgesaugt und 3mal mit je  $50\text{ cm}^3$  Chloroform extrahiert und das Chloroform im Vakuum eingengt. Nach Umkristallisation aus absol. Alkohol wurden 2,85 g Monocholesterylphosphat (98,7% d. Th.), Schmp.  $195\text{--}196^\circ$ , auch im Gemisch mit der nach Weg 1 weiter oben erhaltenen Substanz, als weiße mikroskopisch kleine Nadelchen erhalten.

$\text{C}_{27}\text{H}_{47}\text{O}_4\text{P}$  (466,6) ber.: C 69,53; H 10,16; P 6,64  
gef.: C 69,46; H 9,98; P 6,60

$[\alpha]_{\text{D}}^{24}$ :  $-39,9^\circ$  ( $c = 0,5$ , in Chloroform)

b) Beim Umkristallisieren von 1,1 g Dibenzylcholesterylphosphat aus siedendem Eisessig<sup>16)</sup>, 30 Minuten, wurden 0,6 g Monocholesterylphosphat (75,6% d. Th.), Schmp.  $195\text{--}196^\circ$ , auch im Gemisch mit den oben genannten Substanzen, erhalten.

**Monoergosteryldibenzylphosphat (mit Dibenzylphosphit)**

In der oben erwähnten Apparatur wurde eine Lösung von 13,2 g Ergosterin, Schmp.  $160\text{--}163^\circ$ , getrocknet bei  $10^{-4}$  Torr/ $30^\circ$ , in  $150\text{ cm}^3$  wasserfreiem Pyridin portionsweise bei Zimmertemperatur mit Dibenzylchlorphosphat, hergestellt wie voranstehend angegeben, aus 20 g Dibenzylphosphit, versetzt. Die Suspension wurde 3 Stunden bei  $60^\circ$  gehalten. Die dunkelrote Lösung wurde nach Stehen über Nacht bei Zimmertemperatur von dem ausgeschiedenen Pyridiniumchlorid durch Absaugen befreit. Nach dem Versetzen mit Wasser wurde die obere Phase mit Äther extrahiert und lieferte 4 g Ergosterin, Schmp.  $160^\circ$ , nach Umkristallisation aus Äthanol. Aus der Unterphase konnten durch Extraktion mit Chloroform, Aufarbeiten des Chloroform wie üblich, und Einengen des Extraktes bis zur Trockne, nach anschließendem Behandeln mit absol. Äthanol, 1,7 g Ergosterindibenzylphosphat (7,8% d. Th.)<sup>17)</sup>, Schmp.  $180^\circ$ , erhalten werden.

ll. in Chloroform, Pyridin und Toluol; l. in  $\text{CCl}_4$ , Benzol; sl. in Methanol, Äthanol; ul. in Wasser, Äther, Aceton.

$\text{C}_{42}\text{H}_{57}\text{O}_4\text{P}$  (656,9) ber.: P 4,72  
gef.: P 4,85

Bei dem Versuch, entsprechend der Darstellung des Ergosteryldibenzylphosphates, die analogen Lumisterin- bzw. Vitamin-D<sub>2</sub>-Derivate zu erhalten, wurden phosphorhaltige Substanzen isoliert, die auf Grund der Elementaranalyse etwa den jeweiligen Pyrophosphaten entsprechen. Sie wurden nicht näher untersucht. Bei dem Versuch das Vitamin-D-Derivat zu hydrieren, wurden gelbe, phosphorhaltige Kristalle erhalten, die sich bei  $130^\circ$  teilweise zersetzten, jedoch bis  $270^\circ$  nicht völlig geschmolzen waren. Es handelt sich vermutlich um Phosphatester der Dehydro-Verbindung.

<sup>16)</sup> Nach TURNBULL und WILSON<sup>1)</sup> erfolgt mit Eisessig in Gegenwart von HCl Umwandlung in 3- $\beta$ -Chlorcholesten-5 bei dem analogen Diphenylcholesterylphosphat.

<sup>17)</sup> bezogen auf das gesamte eingesetzte Ergosterin.

### Alkali-Salze des Monocholesterylphosphates

a) Eine Suspension von 150 mg Monocholesterylphosphat, Schmp. 195–196°, in 30 cm<sup>3</sup> 5proz. alkohol. Kalilauge, wurde im Bombenrohr 15 Stunden bei 120–150° gehalten. Aus der gelblichen Lösung kristallisierten 50 mg feine kleine Nadeln, Schmp. ab 280° (Z), jedoch unvollständig bis 320°. Die Substanz enthielt Kalium (nachgewiesen als Perchlorat). Durch Behandeln mit siedendem Eisessig konnten daraus 30 mg Monocholesterylphosphat, Schmp. 195–196°, zurückerhalten werden.

b) 200 mg Monocholesterylphosphat, Schmp. 195–196°, wurden mit Natriumäthylat, hergestellt aus 350 mg metall. Natrium in 30 cm<sup>3</sup> absol. Äthanol, 6 Stunden am Rückfluß erhitzt. Aus der gelben Lösung schieden sich amorphe Flocken ab, die nach Absaugen, Waschen mit Alkohol und Wasser 210 mg Monocholesterylphosphat als Natriumsalz lieferten, Schmp. ab 280° (Z), jedoch kein völliges Schmelzen bis 320° (plastische Masse).

Durch Behandeln mit Eisessig wurden etwa 150 mg Monocholesterylphosphat, Schmp. 195–196°, zurückerhalten. Die Alkali-Salze des Monocholesterylphosphates zeigten gleiches Löslichkeitsverhalten.

l. in Chloroform, Pyridin; sl. in Toluol; ul. in Wasser, Äthanol, CCl<sub>4</sub>.

### Erdalkali-Salze des Monocholesterylphosphates

a) Kalziumsalz. Die obere Pyridin/Wasser-Schicht, entstanden bei der Reaktion von Cholesterin mit Dibenzylchlorphosphat (siehe oben), wurde im Vakuum eingeeengt und mehrmals mit Äther ausgeschüttelt. Anschließend wurde über grobkörnigem Kalziumchlorid aufbewahrt. Dabei bildete sich ein voluminöser Niederschlag, der nach Abfiltrieren durch Auswaschen mit Wasser zur Entfernung des überschüssigen Kalziumchlorids gereinigt wurde, Schmp. 230–240°.

ul. in Wasser, Methanol, Aceton; in Chloroform erfolgt Tropfenbildung, jedoch bleiben 2 Phasen bestehen.

Kalzium wurde spektroskopisch nachgewiesen; der organische Rest durch Rücküberführung in das Monocholesterylphosphat.

Das Bariumsalz konnte nach <sup>2)</sup> nicht eindeutig erhalten werden.

### Alkali-Salze des Dicholesterylphosphates

Diese wurden bei dem Versuch der Verseifung des Dicholesterylphosphates, Schmp. 212°, mit Kalilauge bzw. Natriumäthylat (wie oben) erhalten. Sie ließen sich ebenfalls durch Behandlung mit siedendem Eisessig wieder in das Dicholesterylphosphat zurückverwandeln. Beide Salze bildeten amorphe Flocken nach Umkristallisieren aus Äthanol, die ab 280° sinterten und bis 320° noch nicht völlig geschmolzen waren. Kalium und Phosphor wurden qualitativ als Perchlorat bzw. als Magnesiumammoniumphosphat nachgewiesen.

### Kalziumsalz des Dicholesterylphosphates

Eine Lösung von 0,1 g Dicholesterylphosphat, Schmp. 212°, in 50 cm<sup>3</sup> Chloroform, wurde mit einer wäßrigen Kalziumchloridlösung geschüttelt. Dabei bildete sich sofort ein weißer Niederschlag.

sl. in Chloroform, Trichloräthylen; ul. in Wasser, Methanol, Aceton; Kalzium wurde spektroskopisch nachgewiesen.

Durch Behandeln mit siedendem Eisessig wurde Dicholesterylphosphat, Schmp. 212°, zurückerhalten.

Das Bariumsalz konnte nach <sup>2)</sup> ebenfalls nicht eindeutig erhalten werden.

### 3- $\beta$ -Chlorcholesten-5

12,8 g Cholesterin, Schmp. 148°, getrocknet bei  $10^{-4}$  Torr/20°, wurden in der mehrfach erwähnten Apparatur in 150 cm<sup>3</sup> wasserfreiem Pyridin gelöst. Nach Abkühlen auf 0° wurde mit frisch bereitetem Dibenzylphosphorylchlorid versetzt, hergestellt aus 20 g Dibenzylhydrogenphosphit. Die Lösung erwärmte sich auf etwa 40° und wurde anschließend auf -20° abgekühlt und 15 Minuten geschüttelt. Nach Stehen über Nacht bei Zimmertemperatur färbte sich der Rückstand rot. Das abgeschiedene Pyridiniumchlorid wurde filtriert und die Lösung mit dem gleichen Volumen Wasser versetzt. Es wurde 2 mal mit je 50 cm<sup>3</sup> Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Schicht wurde wie üblich gewaschen und getrocknet. Nach Einengen der Lösung im Vakuum wurden 14,5 g 3- $\beta$ -Chlorcholesten-5 als gelbes Rohprodukt, Schmp. 68–76°, erhalten. Nach Umkristallisation aus 1 l Äthanol wurden daraus neben 1,5 g Dibenzylcholesterylphosphat, Schmp. 210°, das nach Behandeln in Eisessig 0,5 g Monocholesterylphosphat (3,3% d. Th., bezogen auf das gesamte eingesetzte Cholesterin), Schmp. 196°, lieferte, noch etwa 8 g 3- $\beta$ -Chlorcholesten-5 (59,5% d. Th., bezogen auf das gesamte eingesetzte Cholesterin), Schmp. 90–92°, auch im Gemisch mit authentischem Material, nach erneuter Umkristallisation aus Äthanol erhalten. Die Mutterlauge lieferte noch etwa 2 g unumgesetztes Cholesterin.

### Pyridin-Aufnahme der Cholesterinphosphate

Die Proben (0,0711 g Monocholesterylphosphat, Schmp. 196°; 0,0719 g Dicholesterylphosphat, Schmp. 212°) wurden in einem abgeschlossenen System über Pyridin bei 22° (Temperatur konstant) aufbewahrt. Die Gewichtszunahme wurde durch Wägung der Substanz ermittelt. Monocholesteryldihydrogenphosphat: vgl. Abb. 1; Dicholesterylphosphat zeigte im gleichen Zeitraum praktisch keine Gewichtszunahme (0,0721 g).

Schmp. nach Beendigung des Versuches: bei Monocholesterylphosphat 170°; bei Dicholesterylphosphat 199°. Die UV-Spektren wurden mit Hilfe eines Universal-Spektrophotometers gemessen. Die optische Aktivität wurde mit Hilfe des LIPPICH-Polarimeters von SCHMIDT u. HÄNSCH bestimmt.

Die Bestimmung der CH-Werte stieß auf sehr große Schwierigkeiten, da das entstehende P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> die Rohre oft schon nach einer Bestimmung so beschädigte, daß sie unbrauchbar wurden. Aus dem gleichen Grunde konnten die Alkali- und Erdalkali-Salze der Sterylphosphate, hier jedoch noch erschwert durch den Metallgehalt, überhaupt nicht bestimmt werden.

Für die Mithilfe bei den Versuchen möchte ich Fr. T. NEBE und Fr. R. EHRLICHER danken, sowie für die Durchführung der z. T. sehr schwierigen Analysen der organ.-analyt. Abteilung meinen Dank sagen.

*Jena, Institut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin.*

Bei der Redaktion eingegangen am 20. Januar 1960.