
Liebigs Ann. Chem. 1981, 387 – 395Sila-Pharmaka, 22¹⁾

Cholinesterase-hemmende Organophosphorsäureester und ihre Sila-Analoga

Reinhold Tacke^{*a}, *Michael Strecker*^a und *Roland Niedner*^bInstitut für Anorganische Chemie der Technischen Universität Braunschweig^a,
Pockelsstraße 4, D-3300 BraunschweigInstitut für Pharmakologie und Toxikologie der Technischen Universität Braunschweig^b,
Bültenweg 17, D-3300 Braunschweig

Eingegangen am 4. Juni 1980

Die Organophosphorsäureester **1a–4a** und ihre Sila-Analoga **1b–4b** des Typs $R^1R^2P(O)-(p-OC_6H_4ElMe_3)$ (El = C, Si) wurden synthetisiert. Die Kohlenstoff-Verbindungen **1a–4a** zeigen hinsichtlich ihrer Anticholinesterase-Aktivität die gleichen Struktur-Wirkungs-Beziehungen wie die Silicium-Verbindungen **1b–4b**. Letztere sind jeweils wirksamer als die entsprechenden C-Analoga.Sila-Pharmaka, 22¹⁾

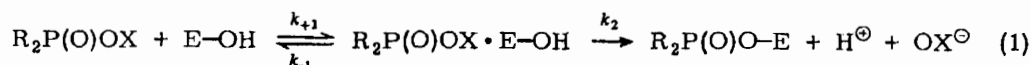
Organophosphates with Anticholinesterase Activity and their Sila-Analogues

The organophosphates **1a–4a** and their sila-analogues **1b–4b** of the type $R^1R^2P(O)-(p-OC_6H_4ElMe_3)$ (El = C, Si) were synthesized. With regard to their anticholinesterase activity, the carbon compounds **1a–4a** exhibit the same structure-activity relationships as the silicon compounds **1b–4b**. The latter are more active than the corresponding C-analogues.

In einigen vorangegangenen Mitteilungen zeigten wir, daß sich die biologische Aktivität bekannter Pharmaka in bestimmten Fällen durch gezielte Sila-Substitution steigern läßt^{2–6)}. In der vorliegenden Mitteilung wird ein weiteres Beispiel für die erfolgreiche Anwendung dieses „Prinzips der Wirksamkeitssteigerung durch gezielte Sila-Substitution“ demonstriert, diesmal anhand einiger Cholinesterase-hemmender Organophosphorsäureester und deren Sila-Analoga.Die Anticholinesterase-Aktivität von Organophosphorsäureestern $[R_2P(O)OX]$ wird hauptsächlich durch die chemische Reaktivität dieser Verbindungen bestimmt^{7–9)}. Sie phosphorylieren die Acetylcholinesterase (AChE) durch einen elektrophilen Angriff des P-Atoms auf eine Serin-OH-Gruppe und inhibieren das Enzym dadurch. Nach heutiger Vorstellung^{7,8)} (vgl. (1)) bildet sich dabei zunächst zwischen $R_2P(O)OX$ und AChE (E–OH) ein Komplex $[R_2P(O)OX \cdot E-OH]$ aus, dessen Bildungs- und Zerfallsgeschwindigkeit mit den entsprechenden Geschwindigkeitskonstanten k_{+1} bzw. k_{-1} beschrieben werden kann. Die Dissoziationskonstante K_d dieses Komplexes ($K_d = k_{-1}/k_{+1}$) läßt sich dabei als ein Maß für die Affinität des Inhibitors $R_2P(O)OX$ zum Enzym AChE verstehen und hängt wesentlich von den strukturellen und sterischen Eigenschaften des Phosphorsäureesters ab. Die aus dem Komplex erfolgende Bildung der phosphorylierten Spezies

Liebigs Ann. Chem. 1981

$R_2P(O)O-E$ wird durch die Geschwindigkeitskonstante k_2 beschrieben, deren Größe vornehmlich durch die chemische Reaktivität von $R_2P(O)OX$ bestimmt wird. Heute ist es üblich, die *in vitro*-Inhibition der AChE durch die sog. bimolekulare Reaktionskonstante $k_i^{10)}$ zu charakterisieren, welche sich aus dem Affinitätsterm K_d und dem Phosphorylierungsterm k_2 gemäß $k_i = k_2/K_d$ zusammensetzt. Eine Dephosphorylierung kann grundsätzlich auch ablaufen, ist in der Regel jedoch so langsam, daß sie bei dieser Betrachtung vernachlässigt werden kann.

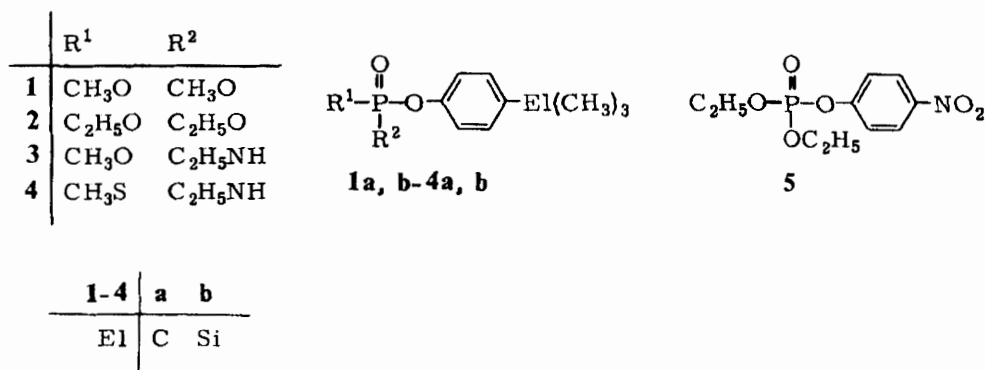


Die Reaktivität und damit die Anticholinesterase-Aktivität von Phosphorsäureestern ließ sich in vielen Fällen mit physikochemischen Parametern in Beziehung setzen (vgl. hierzu Lit. 7)). Im Falle von Phenylestern korrelierten die k_i -Werte gut mit den Hammett- σ -Konstanten. Bei *p*-Substituenten führten die entsprechenden σ^- -Konstanten z. T. zu noch besseren Korrelationen¹¹⁾. Bei sonst gleichbleibendem Substitutionsmuster am P-Atom nimmt die Anticholinesterase-Aktivität solcher Ester mit größer werdenden σ^- - bzw. σ^- -Werten zu.

Die *p*-Si(CH₃)₃-Gruppe besitzt einen -M-Effekt, der den entgegengerichteten +I-Effekt überwiegt. Dies kommt in den verschiedenen positiven Hammett- σ^- - bzw. σ^- -Konstanten (+0.07¹²⁾, +0.19¹³⁾, +0.17¹⁴⁾, +0.06¹⁵⁾) zum Ausdruck, die für die *p*-Si(CH₃)₃-Gruppierung gefunden wurden.

Zur Deutung dieses -M-Effektes werden (*p* → *d*)_π-Bindungsanteile zwischen dem Si-Atom und der Arylgruppe angenommen, die im übrigen gleichermaßen für andere Si-Aryl-Systeme postuliert werden¹⁶⁾. Für die *p*-C(CH₃)₃-Gruppierung ist eine solche Konjugation nicht möglich. Die entsprechende σ^- -Konstante besitzt einen Wert¹⁷⁾ von -0.20.

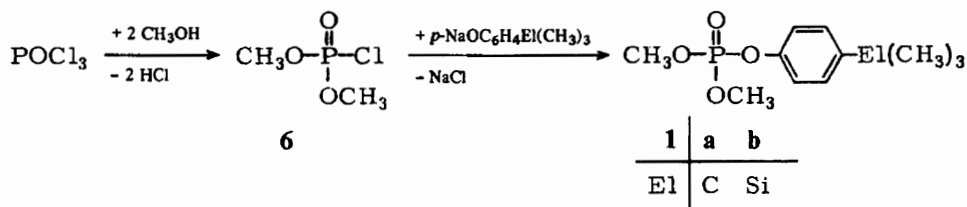
Nach dem Gesagten war zu erwarten, daß *p*-(Trimethylsilyl)phenylester stärkere Inhibitoren der AChE sein sollten als die entsprechenden *p-tert*-Butylphenylester. Zur Überprüfung dieser Arbeitshypothese wurden die mit unterschiedlichen Substitutionsmustern am P-Atom versehenen Phosphorsäurederivate **1a**–**4a** und deren Sila-Analoga **1b**–**4b** synthetisiert und durch Messung der k_i -Werte in Hinblick auf ihre Anticholinesterase-Aktivität vergleichend getestet. Dabei war vorauszusehen, daß sich die hergestellten Verbindungen, von denen **1b**¹⁸⁾ und **2b**¹⁹⁾ bekannt waren, im Vergleich zu der Standardsubstanz Paraoxon (**5**) als deutlich schwächer wirksam erweisen würden, da die σ^- -Hammett-Konstante des *p*-NO₂-Restes (+1.27¹⁷⁾) wesentlich größer ist als die entsprechenden Werte der *p*-C(CH₃)₃- und *p*-Si(CH₃)₃-Gruppe.



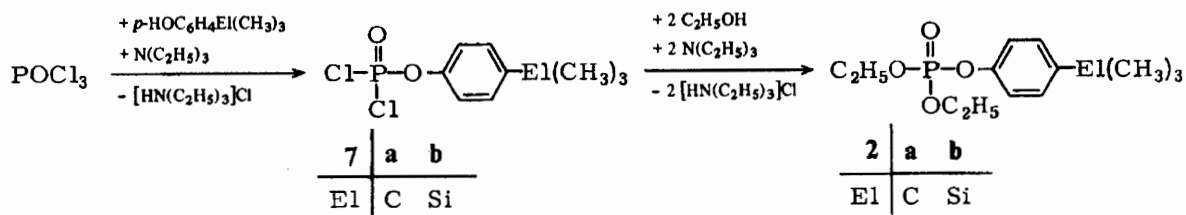
1. Synthese, Charakterisierung und Strukturaufklärung von 1a,b – 4a,b

Die Synthese der Phosphorsäurederivate 1–4 erfolgte – ausgehend von Phosphorylchlorid bzw. Thiophosphorylchlorid – in Anlehnung an bekannte Darstellungsmethoden²⁰⁾, wobei die jeweiligen C/Si-Analoga stets auf dem gleichen Wege hergestellt wurden.

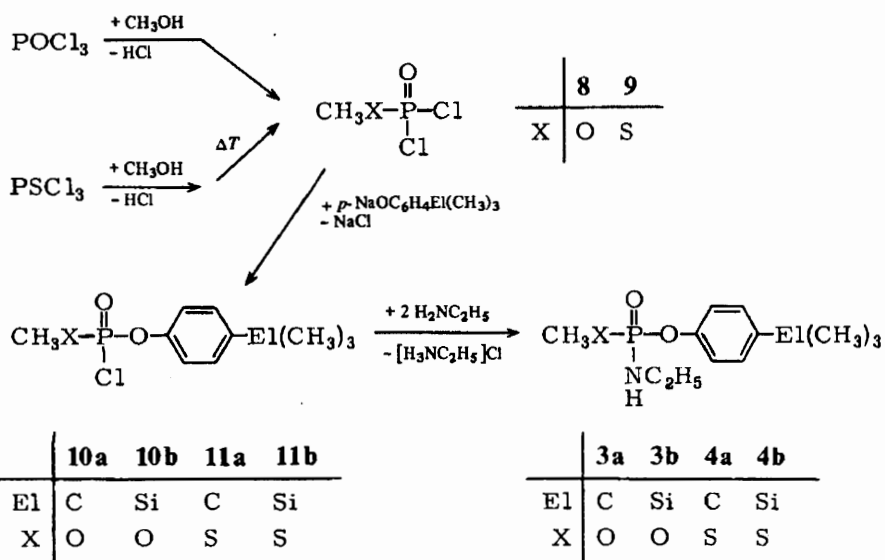
Die Darstellung von 1a und b gelang durch Umsetzung der entsprechenden Natriumphenolate $p\text{-NaOC}_6\text{H}_4\text{El}(\text{CH}_3)_3$ (El = C, Si) mit Phosphorsäure-dimethylester-chlorid (6), das gemäß Lit.²¹⁾ durch Methanolyse von POCl_3 erhalten wurde.



Zur Synthese der Phosphorsäureester 2a und b stellte man zunächst durch HCl-Kondensation von POCl_3 mit den entsprechenden Phenolen die Vorstufen 7a und b her, welche sich durch Ethanolyse in 2a bzw. b überführen ließen.



Die Phosphorsäurederivate 3a, b und 4a, b wurden dargestellt, indem man zunächst nach bekanntem Verfahren (vgl. exp. Teil) die Vorstufen 8 bzw. 9 synthetisierte und diese durch Umsetzung mit den entsprechenden Natriumphenolaten in die Verbindungen 10a, b und 11a, b überführte. Hieraus konnten dann mit Ethylamin (Überschuß) die Phosphorsäureamide 3a, b und 4a, b erhalten werden.



Die Ausbeuten (Tab. 3) der synthetisierten Verbindungen (67–83%) sind zumeist gut reproduzierbar. Gelegentlich auftretende Zersetzungserscheinungen bei der Destillation der P–Cl-haltigen Verbindungen führten zwar immer zu einem fast vollständigen Produktverlust, waren jedoch stets auf nur wenige Ansätze beschränkt. Die Endstufen **1a, b**–**4a, b** sind ausreichend hydrolysestabil und wurden mit Ausnahme von **1a, b** vor der Destillation bzw. Kristallisation durch wässrige Aufarbeitung von noch anhaftenden Salzresten befreit und ließen sich so in einer für die biologischen Untersuchungen befriedigenden Reinheit isolieren.

Die dargestellten Verbindungen sind bei Raumtemperatur flüssig oder kristallin (**3a, 4a, b, 11a**) (physikalische Daten in Tab. 3). Ihre Konstitutionen wurden durch die ¹H-NMR- (Tab. 4) und Massenspektren (Tab. 3) sichergestellt.

2. Anticholinesterase-Aktivität von **1a, b**–**4a, b**

Die Cholinesterase-hemmenden Eigenschaften der Verbindungen **1–4** wurden in Anlehnung an die Methode von *Main* und *Dauterman*¹⁰⁾ ermittelt und durch die bimolekularen Reaktionskonstanten k_i (Tab. 1) charakterisiert. Die Bestimmung der Acetylcholinesterase-Aktivität erfolgte photometrisch nach *Ellman* et al.²⁸⁾ (vgl. exp. Teil).

Tab. 1. Bimolekulare Reaktionskonstanten k_i [$\text{mol}^{-1} \text{l min}^{-1}$] von **1–4** und **5**^{a)}

	k_i	r	n
1a	36.4 (30.7–42.1)	0.875	20
1b	88.5 (72.1–105.0)	0.899	15
2a	4.3 (3.4–5.2)	0.660	30
2b	17.2 (12.1–22.3)	0.692	20
3a	5.8 (3.6–8.0)	0.516	25
3b	15.1 (12.8–17.4)	0.825	25
4a	167.0 (124.1–209.9)	0.741	20
4b	239.0 (202.1–275.9)	0.832	24
5	6.388×10^5	0.962	32

^{a)} Angegeben sind die 95%-Vertrauensgrenzen (in Klammern), der Korrelationskoeffizient r und die Anzahl n der Einzelversuche.

Die in Tab. 1 aufgeführten Ergebnisse zeigen, daß die untersuchten Verbindungen im Vergleich zu Paraoxon (**5**) – wie erwartet – sehr viel weniger wirksam sind. Als aktivste Substanz erwies sich dabei die Si-Verbindung **4b** mit einem k_i -Wert von $239.0 \text{ mol}^{-1} \text{ l min}^{-1}$, gefolgt von dem C-Analogon **4a** mit $k_i = 167.0 \text{ mol}^{-1} \text{ l min}^{-1}$. Alle anderen Phosphorsäureester weisen eine deutlich geringere Hemmwirkung auf. Als bemerkenswertestes Ergebnis sei herausgestellt, daß die C-Verbindungen **1a–4a** die gleichen Struktur-Wirkungs-Beziehungen zeigen wie ihre entsprechenden Sila-Analoga **1b–4b**, wobei letztere in allen Fällen ihren jeweiligen C-analogen Substanzen überlegen sind. Dies steht völlig im Einklang mit den eingangs formulierten Erwartungen und kann als weiterer Hinweis darauf gewertet werden, daß eine Wirksamkeitssteigerung oder – allgemein gesagt – Wirksamkeitsbeeinflussung von Pharmaka durch gezielte Sila-Substitution grundsätzlich möglich ist.

Unser Dank gilt der *Bayer AG*, Leverkusen, für die Unterstützung mit Chemikalien und der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* für die Förderung durch eine Sachbeihilfe.

Experimenteller Teil

Schmelzpunkte (unkorrigiert): Kofler-Heiztischmikroskop (Reichert, Wien). – Brechungsindizes: Abbé-Refraktometer (Zeiss). – Dichten: Digitaler Dichtemesser DMA 10 (Heraeus/Paar, Graz). – $^1\text{H-NMR}$ (interner Standard TMS): für **7b** und **10b** Bruker-HFX-90-Gerät (90 MHz); für die übrigen Verbindungen Varian-XL-100-Gerät (100 MHz). – Massenspektren (70 eV, Direktinlaß): für **4a** Gerät CH 4 (Atlas MAT, Bremen), sonst MS 9 (AEI, Manchester). – Alle Reaktionen wurden, wenn nicht anders angegeben, unter trockenem Stickstoff in absolutierten Lösungsmitteln durchgeführt.

Tab. 2. Elementaranalytische Daten von **1–4, 7, 10** und **11**

	Summenformel (Molmasse)	Analyse						
		C	H	Cl	N	P	S	
1a	$\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{O}_4\text{P}$ (258.3)	Ber.	55.8	7.4				
		Gef.	55.8	7.6				
1b	$\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{O}_4\text{PSi}$ (274.3)	Ber.	48.2	7.0				
		Gef.	48.4	7.1				
2a	$\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{O}_4\text{P}$ (286.3)	Ber.	58.7	8.1			10.8	
		Gef.	58.5	8.1			10.7	
2b	$\text{C}_{13}\text{H}_{23}\text{O}_4\text{PSi}$ (302.4)	Ber.	51.6	7.7			10.2	
		Gef.	51.7	7.7			10.2	
3a	$\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{NO}_3\text{P}$ (271.3)	Ber.	57.6	8.2		5.2	11.4	
		Gef.	58.4	8.3		5.1	10.7	
3b	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{NO}_3\text{PSi}$ (287.4)	Ber.	50.2	7.7		4.9	10.8	
		Gef.	50.2	7.8		4.9	10.7	
4a	$\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{NO}_2\text{PS}$ (287.4)	Ber.	54.3	7.7		4.9	10.8	11.2
		Gef.	53.8	7.7		4.9	10.7	11.2
4b	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{NO}_2\text{PSSi}$ (303.4)	Ber.	47.5	7.3		4.6	10.2	10.6
		Gef.	47.2	7.2		4.8	10.2	10.6
7a	$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{O}_2\text{P}$ (267.1)	Ber.	45.0	4.9	26.5			
		Gef.	45.2	4.9	26.6			
7b	$\text{C}_9\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{O}_2\text{PSi}$ (283.2)	Ber.	38.2	4.6	25.0		10.9	
		Gef.	38.2	4.6	24.9		10.8	
10a	$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{ClO}_3\text{P}$ (262.7)	Ber.	50.3	6.1	13.5		11.8	
		Gef.	50.3	6.1	14.1		11.2	
10b	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{ClO}_3\text{PSi}$ (278.7)	Ber.	43.1	5.8	12.7			
		Gef.	43.8	5.7	12.9			
11a	$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{ClO}_2\text{PS}$ (278.7)	Ber.	47.4	5.8	12.7		11.1	11.5
		Gef.	47.3	5.9	12.4		11.1	11.4
11b	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{ClO}_2\text{PSSi}$ (294.8)	Ber.	40.7	5.5	12.0			10.9
		Gef.	41.2	5.5	11.7			11.2

Phosphorsäure-(4-tert-butylphenylester)-dimethylester (1a): Zu einer Suspension von 1.92 g (80 mmol) Natriumhydrid in 150 ml Toluol wird eine Lösung von 12.02 g (80 mmol) 4-tert-Butylphenol in 100 ml Toluol getropft. Man rührt 3 h bei 80 °C, kühlt auf Raumtemp. ab, tropft eine

Lösung von 11.56 g (80 mmol) **6** in 50 ml Toluol zu, rührt 3 h bei 20°C und 2 h bei 80°C, filtriert den Niederschlag ab und verdampft das Lösungsmittel i. Vak. Weitere Aufarbeitung wie bei **10a**. Ausb., physikalische und analytische Daten in Tab. 2–4.

Tab. 3. Ausbeuten, physikalische und massenspektroskopische Daten von **1–4**, **7**, **10** und **11**

	Ausb. [%]	Sdp. [°C/Torr] (Schmp. [°C])	d_4^{20}	n_D^{20}	M ⁺	MS-Daten ^{a)} M ⁺ – CH ₃
1a	72	101/0.05	1.1224	1.4896	258 (15)	243 (100)
1b	76 ^{d)}	98/0.1 ^{d)}	1.1059	1.4899 ^{d)}	274 (16)	259 (100)
2a	67	107–108/0.05	1.0744	1.4817	286 (21)	271 (100)
2b	68 ^{e)}	107–109/0.01 ^{e)}	1.0617	1.4821 ^{e)}	302 (23)	287 (100)
3a	78	145–146/0.05 (39–41) ^{c)}			271 (35)	256 (100)
3b	77	137–138/0.02	1.0746	1.4992	287 (25)	272 (100)
4a	75	(52–54) ^{f)}			287 (95)	272 (100)
4b	70	(73–75) ^{f)}			303 (30)	288 (100)
7a	82	86–88/0.01 ^{b)}	1.2466	1.5147	266/268/270 (15/10/1)	251/253/255 (100/65/13)
7b	83	81/0.05	1.2201	1.5130	282/284/286 (12/8/2)	267/269/271 (100/67/15)
10a	76	123–124/0.05	1.1821	1.5017	262/264 (5/1)	247/249 (100/28)
10b	71	127/0.02	1.1667	1.5018	278/280 (5/2)	263/265 (100/37)
11a	69	128–129/0.02 (26–28) ^{c)}			278/280 (22/8)	263/265 (100/37)
11b	70	128–129/0.02	1.1887	1.5387	294/296 (20/8)	279/281 (100/40)

^{a)} m/e -Werte und relative Intensitäten (in Klammern) der Molekül-Ionen (M⁺) und intensitätsstärksten Fragmente (M⁺ – CH₃). – ^{b)} Lit.²⁷⁾: Vergleichbare Darstellung, Sdp. 150–153°C/6 Torr. – ^{c)} Kristallisiert nach der Destillation aus. – ^{d)} Lit.¹⁸⁾: Gleiche Darstellung, Ausb. 44%, Sdp. 152–154°C/4 Torr, n_D^{20} 1.4862. – ^{e)} Lit.¹⁹⁾: Dargestellt durch Umsetzung von (C₂H₅O)₂P(O)Cl mit *p*-NaOC₆H₄Si(CH₃)₃, Ausb. 45%, Sdp. 145–150°C/2–2.5 Torr, n_D^{25} 1.4840. – ^{f)} Aus Petrolether umkristallisiert.

Phosphorsäure-dimethylester-[4-(trimethylsilyl)phenylester] (**1b**) wurde in Analogie zu **1a** durch Umsetzung von **6** mit *p*-NaOC₆H₄Si(CH₃)₃ hergestellt (Tab. 2–4).

Phosphorsäure-(4-tert-butylphenylester)-diethylester (**2a**): Zu einer Lösung von 19.50 g (73 mmol) **7a** und 15.18 g (150 mmol) Triethylamin in 250 ml Ether/Petrolether (3:2) tropft man bei 0°C unter Rühren eine Lösung von 6.91 g (150 mmol) Ethanol in 50 ml Ether, rührt 18 h bei 20°C und 90 min unter Rückfluß, filtriert den Niederschlag ab, verdampft die Lösungsmittel i. Vak., nimmt den Rückstand in Petrolether auf und filtriert erneut. Das Filtrat wird mit Wasser versetzt, und die Phasen werden getrennt. Man extrahiert die wäßrige Lösung mit Petrolether, vereinigt die organischen Extrakte, wäscht mit Wasser und trocknet über Na₂SO₄. Das Lösungsmittel wird i. Vak. verdampft und das Rohprodukt unter vermindertem Druck über eine Vigreux-Kolonnen fraktionierend destilliert (Tab. 2–4).

Phosphorsäure-diethylester-[4-(trimethylsilyl)phenylester] (**2b**): Analog zu **2a** aus **7b** (Tab. 2–4).

Tab. 4. $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopische Daten von 1–4, 7, 10 und 11^{a)}

	$\text{SiMe}_3/\text{CMe}_3$	$\text{CH}_3-\text{C}-\text{N}$	$\text{CH}_3\text{S}/\text{CH}_3\text{O}$	$\text{C}-\text{CH}_2-\text{NH}$	aromat. H
1a	1.31 s (9)	–	3.88 d (6) $J_{\text{P,H}} \approx 12 \text{ Hz}$	–	7.0–7.5 m (4)
1b	0.27 s (9)	–	3.88 d (6) $J_{\text{P,H}} \approx 12 \text{ Hz}$	–	7.1–7.7 m (4)
2a	1.32 s (9)	e)	–	e)	7.0–7.6 m (4)
2b	0.26 s (9)	d)	–	f)	7.1–7.6 m (4)
3a	1.31 s (9)	1.12 dt (3) $J_{\text{P,H}} \approx 1 \text{ Hz},$ $J_{\text{H,H}} \approx 7 \text{ Hz}$	3.80 d (3) $J_{\text{P,H}} \approx 12 \text{ Hz}$	2.8–3.3 m (3)	7.0–7.4 m (4)
3b	0.26 s (9)	1.12 dt (3) $J_{\text{P,H}} \approx 1 \text{ Hz},$ $J_{\text{H,H}} \approx 7 \text{ Hz}$	3.80 d (3) $J_{\text{P,H}} \approx 12 \text{ Hz}$	2.8–3.3 m (3)	7.1–7.6 m (4)
4a	1.32 s (9)	1.20 dt (3) ^{b)} $J_{\text{P,H}} \approx 1 \text{ Hz},$ $J_{\text{H,H}} \approx 7 \text{ Hz}$	2.28 d (3) $J_{\text{P,H}} \approx 15 \text{ Hz}$	2.9–3.5 m (3)	7.1–7.5 m (4)
4b	0.26 s (9)	1.20 dt (3) $J_{\text{P,H}} \approx 1 \text{ Hz},$ $J_{\text{H,H}} \approx 7 \text{ Hz}$	2.28 d (3) $J_{\text{P,H}} \approx 15 \text{ Hz}$	2.9–3.5 m (3)	7.2–7.6 m (4)
7a	1.34 s (9)	–	–	–	7.1–7.7 m (4)
7b	0.28 s (9)	–	–	–	7.1–7.6 m (4)
10a	1.34 s (9)	–	4.01 d (3) $J_{\text{P,H}} \approx 14 \text{ Hz}$	–	7.1–7.6 m (4)
10b	0.28 s (9)	–	4.01 d (3) $J_{\text{P,H}} \approx 14 \text{ Hz}$	–	7.1–7.6 m (4)
11a	1.34 s (9)	–	2.56 d (3) $J_{\text{P,H}} \approx 20 \text{ Hz}$	–	7.1–7.6 m (4)
11b	0.29 s (9)	–	2.56 d (3) $J_{\text{P,H}} \approx 20 \text{ Hz}$	–	7.2–7.7 m (4)

a) Chemische Verschiebungen in δ [ppm], relative Intensitäten in Klammern, dq = Dublett eines Quartetts, Lösungsmittel CDCl_3 ; Lock intern CDCl_3 ; Standard intern TMS. – b) Durch teilweise Überlagerung mit dem Singulett der $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ -Gruppe sind nur vier Linien sichtbar. – c) $\text{CH}_3-\text{C}-\text{O}$ 1.34 dt (6)^{b)}, $J_{\text{P,H}} \approx 1$, $J_{\text{H,H}} \approx 7 \text{ Hz}$. – d) $\text{CH}_3-\text{C}-\text{O}$ 1.34 dt (6), $J_{\text{P,H}} \approx 1$, $J_{\text{H,H}} \approx 7 \text{ Hz}$. – e) $\text{C}-\text{CH}_2-\text{O}$ 4.21 dq (4), $J_{\text{P,H}} \approx 9$, $J_{\text{H,H}} \approx 7 \text{ Hz}$. – f) $\text{C}-\text{CH}_2-\text{O}$ 4.21 dq (4), $J_{\text{P,H}} \approx 9$, $J_{\text{H,H}} \approx 7 \text{ Hz}$.

Phosphorsäure-(4-tert-butylphenylester)-methylester-ethylamid (3a): Zu einer Lösung von 9.02 g (0.20 mol) Ethylamin in 50 ml Methylenchlorid tropft man bei 0°C unter Rühren 10.51 g (40 mmol) **10a** in 20 ml Methylenchlorid, rührt 30 min bei 0°C und 2 h bei Raumtemp. weiter, versetzt mit Wasser, trennt die Phasen, extrahiert die wäßrige Lösung mit Methylenchlorid, vereinigt die organischen Extrakte, wäscht diese mit Wasser und trocknet über Na_2SO_4 . Das Lösungsmittel wird i. Vak. verdampft und der Rückstand unter vermindertem Druck über eine Vigreux-Kolonnen fraktionierend destilliert (Tab. 2–4).

Phosphorsäure-methylester-[4-(trimethylsilyl)phenylester]-ethylamid (3b), *Thiophosphorsäure-(4-tert-butylphenylester)-S-methylester-ethylamid (4a)* und *Thiophosphorsäure-S-methylester-[4-(trimethylsilyl)phenylester]-ethylamid (4b)* wurden in Analogie zu **3a** durch Umsetzung von **10b**, **11a** bzw. **11b** mit Ethylamin hergestellt. **3b** wurde destilliert, **4a** und **b** wurden aus dem Rohprodukt kristallisiert und rekristallisiert (Tab. 2–4).

Liebigs Ann. Chem. 1981

Phosphorsäure-dimethylester-chlorid (6) wurde in Anlehnung an Lit.²¹⁾ in Ether bei 0°C und 170 Torr hergestellt. Sdp. 73–74°C/20 Torr (Lit.²²⁾ 70–71°C/15 Torr), n_D^{20} 1.4137 (Lit.²²⁾ n_D^{20} 1.4119), d_4^{20} 1.3412.

Phosphorsäure-(4-tert-butylphenylester)-dichlorid (7a): Zu einer Lösung von 92 g (0.60 mol) Phosphorylchlorid und 25.3 g (0.25 mol) Triethylamin in 400 ml Ether/Petrolether (1:1) tropft man bei 0°C unter Rühren innerhalb von 3 h eine Lösung von 30.04 g (0.20 mol) 4-tert-Butylphenol in 300 ml Ether/Petrolether (2:1), rührt 12 h bei 20°C und 3 h unter Rückfluß weiter, filtriert den Niederschlag ab, verdampft die leichtflüchtigen Komponenten bei 20°C i. Vak., nimmt den Rückstand in Petrolether auf, läßt 12 h bei –30°C stehen, filtriert erneut, befreit das Filtrat i. Vak. vom Lösungsmittel und destilliert den Rückstand unter vermindertem Druck fraktionierend über eine Vigreux-Kolonne (Tab. 2–4).

Phosphorsäure-[4-(trimethylsilyl)phenylester]-dichlorid (7b): Analog zu 7a mit 4-(Trimethylsilyl)phenol²⁶⁾ (Tab. 2–4).

Phosphorsäure-methylester-dichlorid (8) wurde in Anlehnung an Lit.²³⁾ hergestellt. Sdp. 48°C/15 Torr (Lit.²⁴⁾ 49°C/13 Torr), n_D^{20} 1.4361, d_4^{20} 1.4975 (Lit.²⁴⁾ d_4^{25} 1.4878).

Thiophosphorsäure-S-methylester-dichlorid (9): In Analogie zur Darstellung von 8 wurde durch Umsetzung von Thiophosphorylchlorid mit Methanol Thiophosphorsäure-O-methylesterdichlorid synthetisiert, welches durch Destillation des Rohproduktes über eine Drehbandkolonne bei einer Blasentemperatur von ca. 100°C analog Lit.²⁵⁾ zu 9 umgelagert wurde. Sdp. 66°C/10 Torr (Lit.²⁵⁾ 74.5–75.5°C/10 Torr), n_D^{20} 1.5293 (Lit.²⁵⁾ n_D^{20} 1.5294), d_4^{20} 1.5328.

Phosphorsäure-(4-tert-butylphenylester)-methylester-chlorid (10a): Zu einer Lösung von 29.78 g (0.20 mol) 8 in 300 ml Toluol tropft man unter starkem Rühren bei 0°C innerhalb von 10 h eine aus 2.4 g (0.10 mol) Natriumhydrid und 15.02 g (0.10 mol) 4-tert-Butylphenol in 300 ml Toluol hergestellte Suspension des entsprechenden Natriumphenolats. Danach rührt man 6 h bei Raumtemp., filtriert den Niederschlag ab und verdampft das Lösungsmittel i. Vak. Der Rückstand wird in Petrolether aufgenommen, der erneut ausgefallene Niederschlag abfiltriert, das Lösungsmittel i. Vak. verdampft und das verbleibende Rohprodukt unter vermindertem Druck über eine Vigreux-Kolonne fraktionierend destilliert (Tab. 2–4).

Phosphorsäure-methylester-[4-(trimethylsilyl)phenylester]-chlorid (10b), *Thiophosphorsäure-(4-tert-butylphenylester)-S-methylester-chlorid (11a)* und *Thiophosphorsäure-S-methylester-[4-(trimethylsilyl)phenylester]-chlorid (11b)* wurden in Analogie zu 10a durch Umsetzung von 8 bzw. 9 mit *p*-NaOC₆H₄C(CH₃)₃ bzw. *p*-NaOC₆H₄Si(CH₃)₃ hergestellt (Tab. 2–4).

Bestimmung der Anticholinesterase-Aktivität: In Anlehnung an die Methode von Main und Dauterman¹⁰⁾ wurde AChE (Acetylcholinesterase, EC 3.1.1.7., Boehringer, Mannheim) mit den zu untersuchenden Substanzen verschieden lange (0–40 min) bei 25°C inkubiert und die AChE-Aktivität nach Ellman et al.²⁸⁾ durch Zugabe von DTNB [5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoesäure), Serva, Heidelberg] und ATChI (Acetylthiocholiniodid, Serva, Heidelberg) ermittelt. Dies geschah mit Hilfe eines Spektralphotometers PMQ 2 (Carl Zeiss, Oberkochen), einer Registriereinrichtung TE-Wandler Multianalog 201 (Optilab, Schweden) und einem Servogor-Schreiber (Metrawatt AG). Die Konzentrationen betragen: ATChI 1×10^{-3} M, DTNB 2.5×10^{-4} M, Inhibitoren 1×10^{-7} – 1×10^{-3} M. Die Auswertung erfolgte durch Regressionsanalyse. Die Ergebnisse sind in Tab. 1 zusammengefaßt.

- 1) 21. Mitteil.: *R. Tacke, R. Niedner, J. Frohnecke, L. Ernst und W. S. Sheldrick*, Liebigs Ann. Chem. **1980**, 1859.
- 2) *L. Steiling, R. Tacke und U. Wannagat*, Liebigs Ann. Chem. **1979**, 1554.
- 3) *R. Tacke, M. Strecker, W. S. Sheldrick, E. Heeg, B. Berndt und K. M. Knapstein*, Z. Naturforsch., Teil B **34**, 1279 (1979).
- 4) *L. Steiling und U. Wannagat*, Z. Naturforsch., Teil B **34**, 1413 (1979).
- 5) *R. Tacke, M. Strecker, W. S. Sheldrick, L. Ernst, E. Heeg, B. Berndt, C.-M. Knapstein und R. Niedner*, Chem. Ber. **113**, 1962 (1980).
- 6) *R. Tacke, E. Zimonyi-Hegedüs, M. Strecker, E. Heeg, B. Berndt und R. Langner*, Arch. Pharm. (Weinheim, Ger.), **313**, 515 (1980).
- 7) *R. D. O'Brien* in Insecticide Biochemistry and Physiology (*C. F. Wilkinson*), S. 271 – 296, Plenum Press, New York 1976.
- 8) *T. R. Fukuto* in Insecticide Biochemistry and Physiology (*C. F. Wilkinson*), S. 397 – 428, Plenum Press, New York 1976.
- 9) *C. Fest und K.-J. Schmidt*, The Chemistry of Organophosphorus Pesticides, S. 40 – 43, Springer, Berlin – Heidelberg – New York 1973.
- 10) *A. R. Main und W. C. Dauterman*, Nature **198**, 551 (1963).
- 11) *C. Hansch* in Biochemical Toxicology of Insecticides (*R. D. O'Brien und I. Yamamoto*), S. 33 – 40, Academic Press, New York 1970.
- 12) *R. A. Benkeser und H. R. Krysiak*, J. Am. Chem. Soc. **75**, 2421 (1953).
- 13) *C. Eaborn und S. H. Parker*, J. Chem. Soc. **1955**, 126.
- 14) *F. Mares und A. Streitwieser*, J. Am. Chem. Soc. **89**, 3770 (1967).
- 15) *H. Sakurai, S. Deguchi, M. Yamagata, S.-I. Morimoto, M. Kira und M. Kumada*, J. Organomet. Chem. **18**, 285 (1969).
- 16) *V. Chvalovský* in Handbook of Organosilicon Compounds, Advances since 1961 (*V. Bazant, M. Horák, V. Chvalovský und J. Schraml*), Bd. 1, S. 80 – 129, Marcel Dekker, New York 1973.
- 17) *J. March*, Advanced Organic Chemistry, 2. Aufl., S. 253, McGraw-Hill Kogakusha, Tokio 1977.
- 18) *A. E. Canavan und C. Eaborn*, J. Chem. Soc. **1959**, 3751.
- 19) *R. W. Bott, B. F. Dowden und C. Eaborn*, J. Organomet. Chem. **4**, 291 (1965).
- 20) *K. Sasse* in Methoden der Organischen Chemie (*Houben-Weyl-Müller*), 4. Aufl., Bd. XII/2, S. 143 – 834, Georg Thieme, Stuttgart 1964.
- 21) *Monsanto Chemical Co.* (Erf. *E. Clemmensen*), US-Pat. 1945183 (30. 1. 1934) [Chem. Zentralbl. **1934** II, 512].
- 22) *A. M. de Roos und H. J. Toet*, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas **77**, 946 (1958).
- 23) *T. Mizuma, Y. Minaki und S. Toyoshima*, Yakugaku Zasshi **81**, 51 (1961) [Chem. Abstr. **55**, 12379 g (1961)].
- 24) *H. Grunze*, Angew. Chem. **71**, 70 (1959).
- 25) *G. Hilgetag, G. Lehmann und W. Feldheim*, J. prakt. Chem. [4] **12**, 1 (1960).
- 26) *R. Tacke, E. Heeg und B. Berndt*, Arch. Pharm. (Weinheim, Ger.) **313**, 142 (1980).
- 27) *Dow Chemical Co.* (Erf. *S. L. Bass*), US-Pat. 2071071 (16. 2. 1937) [Chem. Zentralbl. **1937** I, 4848].
- 28) *G. L. Ellman, K. D. Courtney, V. Andres und R. M. Featherstone*, Biochem. Pharmacol. **7**, 88 (1961).

[114/80]