

3. Zur Bestimmung der Bildungskonstanten des Komplexes aus Isonicotinsäurehydrazid und Cu^{++} .

Metallionen und biologische Wirkung, 11. Mitteilung¹⁾

von S. Fallab und H. Erlenmeyer.

(12. XI. 52.)

Wie in vorangegangenen Mitteilungen²⁾ berichtet wurde, bildet Isonicotinsäurehydrazid mit Cu^{++} eine Komplexverbindung. Verwendet man für die Reaktion Kupfersulfat, so kann ein schwer lösliches Salz von der Summenformel $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_7\text{N}_3\text{SCu}$ isoliert werden³⁾.

Da andererseits in Gegenwart von Cu^{++} die tuberkulostatische Wirkung von Isonicotinsäurehydrazid verstärkt wird³⁾, war es von Interesse, das reaktive Verhalten von Isonicotinsäurehydrazid gegenüber Cu^{++} in wässriger Lösung zu studieren, worüber aus der Zusammensetzung des Festkörpers ja nicht ohne weiteres Schlüsse gezogen werden können.

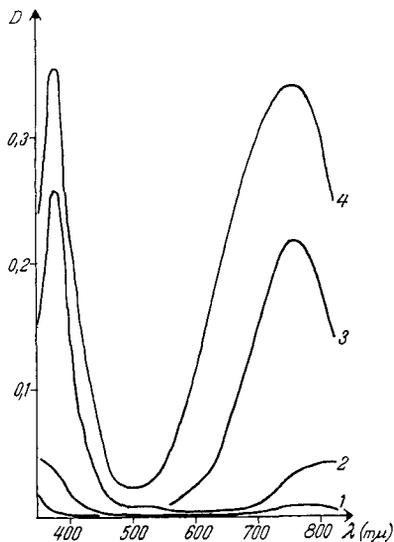


Fig. 1.

1: Is 0,01-m; pH = 6,2.

2: Is 0,01-m; pH = 4,3.

3: $\text{Cu}(\text{aq})$ 0,01-m; pH = 4,6.

4: Is + $\text{Cu}(\text{aq})$; pH = 4,3; $c_{\text{Cu}} = c_{\text{Is}} = 0,005$.

Die Untersuchungen mit dem Ziel, Zusammensetzung und Beständigkeit der in wässriger Lösung sich bildenden Isonicotinsäure-

¹⁾ 10. Mitteilung S. Fallab, *Helv.* **36**, 1 (1953).

²⁾ S. Fallab & H. Erlenmeyer, *Exp.* **8**, 298 (1952).

³⁾ E. Sorkin, W. Roth & H. Erlenmeyer, *Helv.* **35**, 1736 (1952).

hydrazid-Cu-Verbindung zu ermitteln, wurden unter Anwendung spektrophotometrischer Methoden durchgeführt.

Zuerst wurden die Absorptionsspektren von Kupfersulfat, Isonicotinsäurehydrazid(Is) und von einer Mischung der beiden Komponenten ermittelt.

Die weiteren Messungen an Mischungen wurden bei 760 μ durchgeführt. Die gemessene optische Dichte irgendeiner Mischlösung setzt sich dann zusammen aus den Teilabsorptionen der Komponenten und des gebildeten Komplexes.

$$D = \epsilon_{\text{Is}} \cdot l \cdot c_{\text{Is}} + \epsilon_{\text{Cu}} \cdot l \cdot c_{\text{Cu}} + \epsilon_{\text{kompl.}} \cdot l \cdot c_{\text{kompl.}}$$

Es waren deshalb zuerst die Absorptionskoeffizienten ϵ von Cu^{++} und Isonicotinsäurehydrazid zu bestimmen. Die Küvettenlänge l betrug bei allen Messungen 4 cm. Wir fassten deshalb $\epsilon \cdot l$ zu einer Konstanten k zusammen und fanden, dass für $c < 0,008$ $k_{\text{Cu}} = 23$ und pH-unabhängig war. k_{Is} war pH-abhängig und konzentrationsabhängig. Wir verwendeten für $4 < \text{pH} < 5$ und für alle Konzentrationen als Mittelwert $k_{\text{Is}} = 5$. Da die Absorption des Is relativ klein ist, kann der durch die Schätzung des Wertes entstehende Fehler vernachlässigt werden.

Die Anwendung der von P. Job¹⁾ entwickelten „Méthode des variations continues“ erlaubt alsdann die Bestimmung der stöchiometrischen Zusammensetzung des Komplexes in Lösung. Es wurde das Konzentrationsverhältnis der Komponenten Cu^{++} und Is so variiert, dass die Summe der Gesamtkonzentrationen konstant ist.

$$[\text{Cu}^{++}]_{\text{total}} + [\text{Is}]_{\text{total}} = \text{const.}$$

Durch Zusatz einer entsprechenden Menge H_2SO_4 wurde jede Mischung auf $\text{pH} = 4$ gebracht. Die Grösse $D - Y_{0,\text{Cu}} - Y_{0,\text{Is}}$ wird als Funktion des Mischungsverhältnisses aufgetragen (Fig. 2). Die Y_0 bedeuten dabei die aus den k -Werten berechneten Absorptionen der Komponenten für den Fall, dass keine Reaktion eingetreten ist.

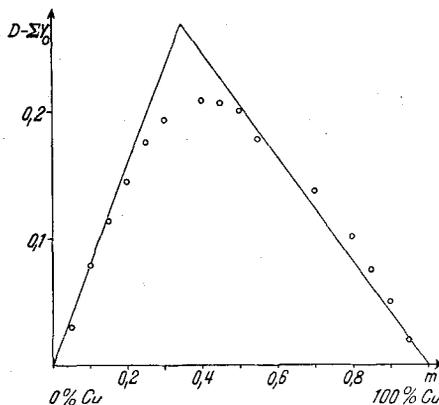


Fig. 2.

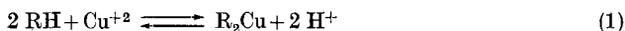
Bildung von Is_2Cu bei $\sum c_0 = 0,01$, $m_{\text{max}} = \frac{b}{a+b}$, $a = 2$, $b = 1$.

Das Maximum der Kurve deutet auf einen Komplex, in dem ein Cu^{++} mit 2 Molekeln Isonicotinsäurehydrazid reagiert hat.

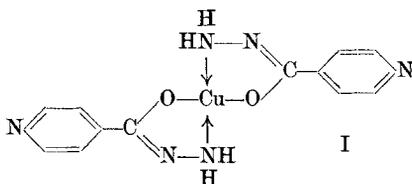
Die Frage, ob bei dieser Reaktion Isonicotinsäurehydrazid als Neutralteil einen Ion-Dipol-Komplex mit Cu^{++} bildet, oder ob Isonicotinsäurehydrazid in der tautomeren Form als Säure mit Cu^{++} zu

¹⁾ P. Job, Ann. chim. **9**, 113 (1928); s. a. G. Charlot & R. Gauguin „Les méthodes d'analyse des réactions en solution“, Paris 1951, p. 73.

reagieren vermag, wurde durch Ermittlung der die Reaktion begleitenden pH-Änderung entschieden. Bei der pH-Titration von Isonicotinsäurehydrazid (pH 6,2) mit 0,01-m. CuSO_4 -Lösung (pH 4,9) fanden wir, dass das pH der Lösung um 0,6 Einheiten unter das pH der CuSO_4 -Lösung sinkt, um dann bei weiterem Cu^{++} -Zusatz konstant zu bleiben. Es besagt dies, dass bei der Reaktion von Isonicotinsäurehydrazid mit Kupferionen H^+ austreten, was wohl so zu deuten ist, dass Isonicotinsäurehydrazid in der tautomeren Form als Säure nach (1) reagiert



und dass demnach dem in Lösung sich bildenden Komplex die Struktur I zukommt.



Die der Reaktion (1) entsprechende Massenwirkungsgleichung lautet

$$K = \frac{[\text{R}_2\text{Cu}] \cdot [\text{H}^+]^2}{[\text{RH}]^2 \cdot [\text{Cu}^{+2}]},$$

wobei K ein Mass für die Beständigkeit des Komplexes R_2Cu ist.

Die zur Ermittlung von K notwendigen Absorptionsmessungen haben wir bei konstantem $\text{pH} = 4,3$ vorgenommen. $[\text{H}^+]^2$ kann daher als konstanter Faktor in die Gleichgewichtskonstante hineingenommen werden. Wir erhalten dann ein

$$K' = \frac{[\text{R}_2\text{Cu}]}{[\text{RH}]^2 \cdot [\text{Cu}^{+2}]}.$$

Beim Äquivalenzpunkt (1 Cu^{++} auf 2 Is) gelten die Beziehungen (2) und (3)¹⁾, die eine Berechnung von K' gestatten, wobei Y_R die am

$$\frac{1}{K'} = \frac{\epsilon^3}{1 - \epsilon} c_0^2 \quad (2); \quad \epsilon = \frac{Y_R - Y_T}{Y_{0, \text{Is}} + Y_{0, \text{Cu}} - Y_T} \quad (3)$$

Äquivalenzpunkt gemessene optische Dichte, Y_T die für eine quantitative Reaktion berechnete Dichte und Y_0 die für den Fall „Reaktion Null“ berechneten Absorptionen der Komponenten bedeuten. c_0 ist die Konzentration des Is.

Die Anwendung dieser Methode setzt voraus, dass Isonicotinsäurehydrazid als freie Base vorliegt. Für die Säure IsH^+ fanden wir die Dissoziationskonstante $K_s = 3,3 \cdot 10^{-4}$. Beim $\text{pH} = 4,3$ ergibt sich demnach für das Verhältnis $[\text{Is}]:[\text{IsH}^+]$ der Wert 6,6, der bei einer

¹⁾ G. Charlot & R. Gauguin, „Les méthodes d'analyse des réactions en solution“, Paris 1951, p. 78.

²⁾ S. Fallab, loc. cit.

größenordnungsmässigen Bestimmung von K' der Voraussetzung genügt.

Zur Ermittlung von Y_T war noch der Absorptionskoeffizient $k_{\text{Kompl.}}$ zu bestimmen. Ein grosser Überschuss an Cu^{++} verschiebt das Gleichgewicht (1) ganz nach rechts, und es wird $c_{\text{Kompl.}} = \frac{1}{2} c_{0, \text{Is}}$. Misst man die optische Dichte D von Mischungen mit steigendem Überschuss an Cu^{++} , so geht die Grösse $D \cdot Y_{0, \text{Cu}}$ gegen einen Grenzwert, der die Teilabsorption des in theoretischer Ausbeute gebildeten Komplexes darstellt, und der sich graphisch abschätzen lässt (Fig. 3).

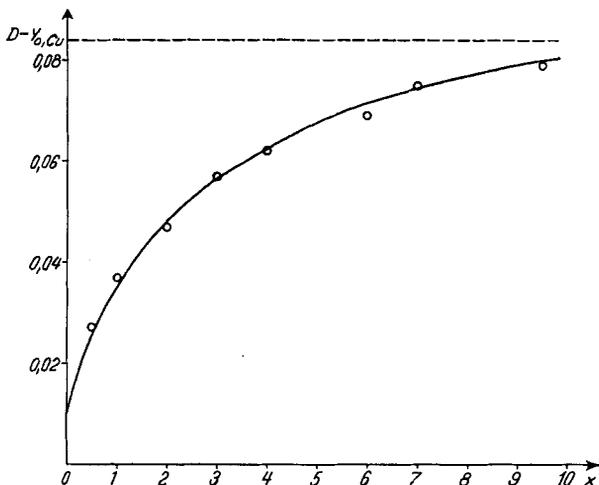


Fig. 3.

$$[\text{Is}] = c_0 = 0,0012, \quad [\text{Cu}^{+2}] = x c_0.$$

Wir erhalten so ein $k_{\text{Kompl.}} = 140$. Das bedeutet, dass der Komplex bei $760 \text{ m}\mu$ etwa 6mal so stark absorbiert wie eine CuSO_4 -Lösung gleicher Konzentration. Mit Hilfe der Beziehungen (2) und (3) lässt sich jetzt K' berechnen. Wir fanden bei der Konzentration $c_0 = 0,0048$ ein $Y_R = 0,207$, woraus folgt:

$$\epsilon = 0,502 \quad \text{und} \quad K' = 0,17 \cdot 10^6.$$

Der gefundene Wert für $K' = 0,17 \cdot 10^6$ bedeutet die der Reaktion (1) entsprechende scheinbare Bildungskonstante für $\text{pH} = 4,3$.

Uns interessierte sodann vor allem der Vergleich mit Komplexbildungskonstanten anderer tuberkulostatisch wirksamer Verbindungen. Wir versuchten deshalb, aus der bereits bekannten Cu-Oxin-Komplexbeständigkeitskonstanten ein diesem Wert entsprechendes K' zu berechnen. *S. M. Rubbo, A. Albert & M. J. Gibson*¹⁾ haben für den Cu-Oxin-Komplex ein $\text{pK} = -12,2$ bestimmt, wobei

$$K = \frac{[\text{OxCu}^+]}{[\text{Ox}^-][\text{Cu}^{+2}]} \quad (4)$$

¹⁾ *S. M. Rubbo, A. Albert & M. J. Gibson, Brit. J. exp. Path. 31, 425 (1950).*

Sie deuten aber an, dass OxCu^+ ein weiteres Ox^- addiert und glauben, dass für das biologische Geschehen auch diese 2. Reaktionsstufe von Bedeutung sei. $\text{pK}_{\text{gesamt}}$ wird dann nach ihrer Abschätzung – 23,4, wobei

$$K_{\text{ges.}} = \frac{[\text{Ox}_2\text{Cu}]}{[\text{Ox}^-]^2[\text{Cu}^{+2}]} \quad (5)$$

Unter Berücksichtigung des Gleichgewichts (6)¹⁾

$$K_{2, \text{Ox}} = \frac{[\text{H}^+][\text{Ox}^-]}{[\text{HOx}]} = 2,86 \cdot 10^{-11} \quad (6)$$

berechneten wir für das $\text{pH} = 4,3$ ein diesen Konstanten K und K_{ges} entsprechendes $K' = 0,91 \cdot 10^6$ bzw. $0,82 \cdot 10^{11}$.

Daraus lässt sich ableiten, dass die Stabilitätskonstante des Cu-Komplexes von Isonicotinsäurehydrazid in der Grössenordnung mit derjenigen des aus Oxin und Cu^{2+} in wässriger Lösung sich bildenden Komplexes OxCu^+ zu vergleichen ist.

Sämtliche pH-Messungen wurden mit dem „Beckman-Glaselectrode-pH-Meter Model G“ bei 21° ausgeführt. Die Absorptionsmessungen wurden mit dem „Coleman Universal-Spectrophotometer Model 14“ vorgenommen.

Wir danken Herrn Dr. *Max Blumer* für anregende Diskussionen.

SUMMARY.

The stability constant of the complex of isonicotinic acid hydrazide with Cu^{2+} has been determined by a spectrophotometric method. It is found to be in the range of the copper-oxine-constant.

Anstalt für anorganische Chemie der Universität Basel.

4. Über Kupferkomplexe von Säureamiden und anderen Verbindungen.

Metallionen und biologische Wirkung, 12. Mitteilung²⁾

von **H. v. Hahn, J. Bäumler, W. Roth** und **H. Erlenmeyer**.

(12. XI. 52.)

Die Beobachtung, dass einerseits aus der Reihe der Oxin-ähnlichen Verbindungen das 5-Oxychinoxalin *in vitro*³⁾ und auch *in vivo*⁴⁾ erst bei Zusatz von Cu^{2+} tuberkulostatisch wirksam wird, und dass andererseits eine so wirksame Verbindung wie das Isonicotinsäurehydrazid in der tautomeren Form als Säure mit Cu^{2+} einen Kom-

¹⁾ *E. B. Sandell & D. C. Spindler*, Am. Soc. **71**, 3806 (1949).

²⁾ 11. Mitteilung *S. Fallab & H. Erlenmeyer*, Helv. **36**, 3 (1953).

³⁾ *E. Sorkin & W. Roth*, Helv. **34**, 427 (1951).

⁴⁾ *E. Sorkin, W. Roth & H. Erlenmeyer*, Helv. **35**, 1736 (1952).