

80. Über das Komplexbildungsvermögen von Penicillin

von A. Weiss, S. Fallab und H. Erlenmeyer.

(7. III. 57.)

Der Strukturtypus des Penicillins (I) ist – vom Standpunkt der Metallchelate-Bildung (Ia) aus betrachtet – derjenige eines acylierten Dipeptids, dessen räumliche Konfiguration durch das bicyclische System z. T. fixiert ist. Über das Metallbindungsvermögen von acylierten Dipeptiden und acylierten Aminosäuren war bisher wenig bekannt.

In einer vorausgegangenen Mitteilung¹⁾ haben wir über das Cu^{2+} -Bindungsvermögen von acylierten Aminosäuren berichtet. Es wurde gegenüber den freien Aminosäuren ein noch messbares, aber stark erniedrigtes Komplexbildungsvermögen beobachtet. Auch im Glycylglycin kann, wie die Untersuchungen von *S. P. Datta & B. R. Rabin*²⁾ gezeigt haben, der Stickstoff der Amidgruppe sich gegenüber Cu^{2+} noch als Ligand betätigen.

Der pK-Wert des Thiazolidin-Ringstickstoffs ist in der 5,5-Dimethylthiazolidin-4-carbonsäure (II) zu 6,0 und in der Benzylpenicilloinsäure (III) zu 5,3 bestimmt worden³⁾. In der β -Lactam-Ringkonfiguration des Benzylpenicillins (I) hat der Ringstickstoff seine basischen Eigenschaften gegenüber H^+ verloren. Wie in acylierten Aminosäuren ist sicher $\text{pK}_{\text{NH}} < 2$. In welcher Weise die andern Strukturfaktoren beim Penicillin die Komplexbildung beeinflussen, war nicht vorauszusehen.

Zu erwähnen ist noch, dass nach *H. Malissa*⁴⁾ Penicillin mit einer Reihe von Metallionen in saurer Lösung Fällungen ergibt, die jedoch, da unter den angewendeten Bedingungen Penicillin nicht beständig ist, als Salze von Hydrolyse- oder Umlagerungsprodukten aufzufassen sein dürften.

Um eine Komplexbildung beim Penicillin zu ermitteln, war es demnach zuerst erforderlich, durch Kontrollversuche festzustellen, unter welchen Bedingungen eine Komplexbildung mit dem intakten Penicillin der Messung zugänglich gemacht werden kann.

Je nach dem pH der Versuchslösung war Verseifung zu Penicilloinsäure (III) oder Umlagerung zu Penillsäure (IV) zu erwarten, die beide – im Gegensatz zu Penicillin selbst – eine auch gegenüber

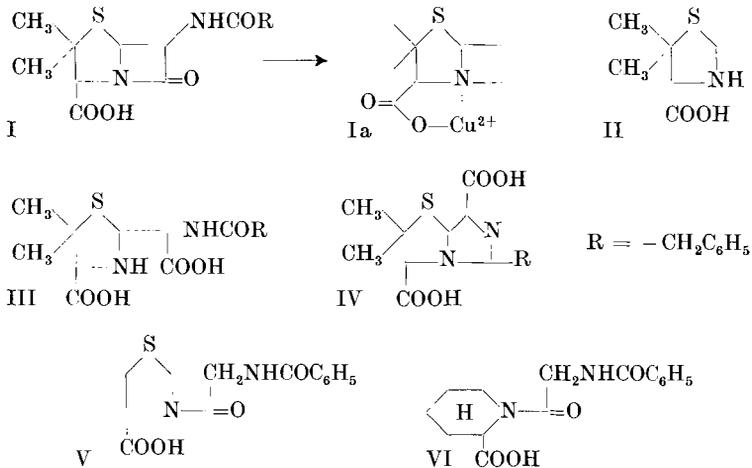
¹⁾ *A. Weiss & S. Fallab*, *Helv.* **50**, 576 (1957).

²⁾ *Trans. Farad. Soc.* **52**, 1117 (1956).

³⁾ *H. T. Clarke, J. R. Johnson & R. Robinson*, *The Chemistry of Penicillin*, Princeton 1949, p. 417.

⁴⁾ *Mikrochem.* **38**, 120 (1951).

Protonen basische Haftstelle besitzen. Dadurch war die Möglichkeit gegeben, den Verlauf dieser Reaktionen auf titrimetrischem Wege zu verfolgen.



Wir untersuchten das Verhalten des K-Salzes von Penicillin G in 0,1-n. KCl-Lösung und fanden, dass auch in Gegenwart von Cu^{2+} nach drei Std. noch mindestens 99% der unveränderten β -Lactamringstruktur vorlag.

Wir haben in der vorangegangenen Mitteilung¹⁾ über eine Methode zur Ermittlung vom Komplexstabilitätskonstanten mit Hilfe von Ionenaustauschern berichtet, die mit einer Reihe von Komplexbildnern von geringerem Komplexbildungsvermögen noch gute Ergebnisse gezeitigt hat.

In Tab. 1 sind die mit dieser Methode ermittelten Komplexstabilitätskonstanten der Verbindungen I, II, V und VI zusammengestellt.

Tabelle 1.

	Komplexbildner	$\log k_1$	$\log k_1 k_2$	$\text{p}K_{\text{COOH}}$
I	Penicillin G	4,8	7,1	2,8
II	5,5-Dimethyl-thiazolidin-4-carbonsäure	4,4	8,7	1,6
V	N-Hippuryl-thiazolidin-4-carbonsäure.	1,8	—	3,9
VI	N-Hippuryl-pipecolinsäure	2,1	—	3,5

Auffallend ist, dass Penicillin, dessen Ringstickstoff H^+ nicht bindet, im Cu^{2+} -Bindungsvermögen der 5,5-Dimethyl-thiazolidin-4-carbonsäure (II) — einer Verbindung mit stark basischem unsubstituiertem Ringstickstoff — gleichkommt. Die Verbindungen V und VI, in denen der Ringstickstoff den Hippuryl-Rest trägt, zeigen ein wesentlich geringeres Cu^{2+} -Bindungsvermögen.

Diese Resultate bestätigen die Auffassung von *R. B. Woodward*⁵⁾, wonach im β -Lactamring eine Blockierung der für die Amidstruktur charakteristischen Resonanz auftritt. Das für die koordinative Bindung wichtige Elektronenpaar liegt damit vorwiegend am Stickstoff.



Eine Beziehung zwischen der Dissoziationskonstanten der Carboxylgruppe und der Komplexstabilitätskonstanten – wie in andern Verbindungsreihen⁶⁾ – lässt sich hier nicht finden.

Von den Verbindungen II, V und VI, die in gewissem Masse dem Penicillin G strukturverwandt sind, zeigte einzig die 5,5-Dimethylthiazolidin-4-carbonsäure (II) eine gewisse biologische Aktivität⁷⁾.

Experimentelles.

Die pK-Werte der Verbindungen I–VI entnahmen wir z. T. der Literatur und z. T. – wenn nichts Besonderes vermerkt ist – ermittelten wir sie durch potentiometrische Titrations in 0,1-n. KCl-Lösung mit 0,1-n. HCl bzw. 0,1-n. NaOH.

Zur Ermittlung der Hydrolyseempfindlichkeit der β -Lactam-Struktur titrierten wir eine Lösung des Kaliumsalzes von Penicillin G in 0,1-n. KCl einmal neutral und dann unter Zusatz von 2 Äquivalenten HCl. Nach 3stünd. Schütteln ergab sich im ersten Fall ein pH-Verlauf, der identisch war mit einer Nulltitration von 0,1-n. KCl mit 0,1-n. NaOH. In saurer Lösung hingegen war nach drei Std. vollständige Umlagerung zu Penillsäure (IV) erfolgt, was in der pH-Titration die Entstehung eines neuen Puffergebietes bei pH 7,5 zur Folge hat. Nach 7,5-stünd. Schütteln in 0,1-n. KCl zeigte die Titrationskurve eine Abweichung von der Nullkurve, die der Umlagerung von ca. 1% des ursprünglichen Penicillins G entspricht. Ein Zusatz von 1 Äquiv. CuSO_4 in neutraler Lösung hatte im 3stünd. Schüttelversuch keinen Einfluss.

Die log k-Werte (Tab. 1), die die Stabilität der gebildeten Chelate wiedergeben, bestimmten wir nach der in der vorausgegangenen Mitteilung beschriebenen Methode¹⁾.

N-Hippuryl-DL-pipecolinsäure (VI). 6 g DL-Pipecolinsäure-äthylester¹⁾ vom Sdp. 93⁰/13 mm in 25 cm³ abs., über P_2O_5 dest. Chloroform wurden unter Eiskühlung portionenweise mit 3,8 g Hippurylchlorid⁸⁾ versetzt und 3 Std. bei 20⁰ stehengelassen. Nach einiger Zeit bildete sich ein voluminöser Niederschlag von DL-Pipecolinsäure-äthylester-hydrochlorid. Nach Zugabe von 25 cm³ Chloroform wurde im Scheidetrichter mit verd. Sodalösung und verd. HCl ausgeschüttelt, mit Eiswasser neutral gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Chloroform abdestilliert.

Der ölige Rückstand wurde während ca. 20 Min. mit 15 cm³ 2-n. NaOH geschüttelt, bis eine klare Lösung entstanden war. Nach Ansäuern mit verd. HCl wurde viermal mit 40 cm³ Essigester extrahiert, über Na_2SO_4 getrocknet, eingedampft und der Rückstand aus Benzol umkristallisiert. Ausbeute 2,7 g (38%), Smp. 143–145⁰.

$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{N}_2$ Ber. C 62,05 H 6,25 N 9,65% Gef. C 61,94 H 6,41 N 9,81%

⁵⁾ Vgl. ³⁾, p. 421.

⁶⁾ *M. Calvin & K. W. Wilson*, J. Amer. chem. Soc. **67**, 2003 (1945); *M. Calvin & R. H. Bailes*, *ibid.* **68**, 949 (1946).

⁷⁾ *R. Neher, A. Weltstein & K. Miescher*, *Helv.* **29**, 1827 (1946). In diesem Zusammenhang ist von Interesse, dass die Wirkung von Penicillin in Gegenwart von Co^{2+} verstärkt ist; siehe z. B. *R. S. Young*, *Science Progress* **44**, 16 (1956).

⁸⁾ *S. Levin*, J. Amer. chem. Soc. **76**, 1382 (1954).

K-Salz von Penicillin G, 5,5-Dimethyl-thiazolidin-4-carbonsäure (II) und N-Hip-puryl-thiazolidin-4-carbonsäure (V) wurden uns in freundlicher Weise von der *CIBA Aktiengesellschaft* zur Verfügung gestellt, wofür an dieser Stelle den Herren Dr. K. *Miescher* und Dr. A. *Marxer* bestens gedankt sei. Die Mikroanalysen verdanken wir dem mikroanalytischen Laboratorium der *CIBA Aktiengesellschaft* (Dr. H. *Gysel*). Für die Durchführung der biologischen Prüfung der Verbindung VI danken wir der pharmakologischen Abteilung der *CIBA Aktiengesellschaft*.

Den Herren J. *Hostýnek* und H. P. *Müller* danken wir für ihre Mithilfe bei den Verteilungsmessungen an Ionenaustauschern.

SUMMARY.

Penicillin has been found to chelate Cu^{2+} although the chelating power of corresponding acylated aminoacids is very small. For comparison, the capacity of binding Cu^{2+} of a few structural analogues of penicillin has been determined by an ion exchange method described in a previous publication.

Anstalt für anorganische Chemie der Universität Basel.

81. Synthese eines hochwirksamen Hypertensin II-amids (L-Asparaginyll-L-arginyll-L-valyll-L-tyrosyll- L-isoleucyll-L-histidyll-L-prolyll-L-phenylalanin)

von W. *Rittel*, B. *Iselin*, H. *Kappeler*, B. *Riniker* und R. *Schwyzler*.

(23. II. 57.)

Hypertensin II aus Pferdeserum (mit Schweine-Renin freigesetzt) besitzt die Konstitution eines Octapeptides mit der Aminosäure-reihenfolge H·Asp-Arg-Val-Tyr-Ileu-His-Pro-Phe·OH¹⁾ und kann als Ileu⁵-Hypertensin II bezeichnet werden²⁾. Wie bereits kurz berichtet²⁾, konnten wir feststellen, dass synthetisches, hochgereinigtes H·Asp(NH₂)-Arg-Val-Tyr-Ileu-His-Pro-Phe·OH (Ileu⁵-Hypertensin II-Asp.β-amid) an der Ratte eine blutdrucksteigernde Wirkung besitzt, welche qualitativ und quantitativ den besten durch Isolierung hergestellten Hypertensinpräparaten vergleichbar ist, bzw. sie übertrifft³⁾.

In der vorliegenden Mitteilung sollen die Einzelheiten der Synthese bekanntgegeben werden. Aufbauprinzip (s. Schema): die Aminosäuren 1 bis 8 wurden in den Synthesestufen A bis H zum Endprodukt zusammengefügt. Der betreffende Aminosäure- oder Peptidrest ist durch einen waagerechten Balken dargestellt, der sich unter den Nummern

¹⁾ K. E. *Lentz*, L. T. *Skeggs*, K. R. *Woods*, J. R. *Kahn* & N. R. *Shumway*, Journ. exper. Med. **104**, 183 (1956).

²⁾ W. *Rittel*, B. *Iselin*, H. *Kappeler*, B. *Riniker* & R. *Schwyzler*, Angew. Chem. **69**, 179 (1957).

³⁾ W. S. *Peart*, Biochem. Journ. **62**, 520 (1956).