

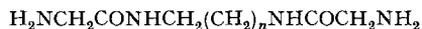
- [3] N. L. DRAKE, J. R. ADAMS, JR., J. Amer. chem. Soc. *61*, 1326 (1939); K. ALDER, F. H. FLOCK, A. HAUSWEILER & R. REEBER, Chem. Ber. *87*, 1752 (1954); D. PETERS, J. chem. Soc. *1959*, 1761.
- [4] K. LEPPÄNEN, Ann. Acad. Sci. fennic., Series A, II; *Chemica* Nr. 131.
- [5] J. R. DUDLEY, J. T. THURSTON, F. C. SCHAEFER, D. HOLM-HANSEN, C. J. HULL & P. ADAMS, J. Amer. chem. Soc. *73*, 2986 (1951).
- [6] M. NEUENSCHWANDER & H. SCHALTEGGER, Helv., in Vorbereitung.
- [7] D. C. KLEINFELTER & P. VON R. SCHLEYER, J. org. Chemistry *26*, 3740 (1961); C. F. GRIFFIN & G. J. WITSCHARD, *ibid.* *27*, 3334 (1962).
- [8] P. LAZLO & P. VON R. SCHLEYER, J. Amer. chem. Soc. *86*, 1171 (1964); *85*, 2709 (1963).
- [9] H. HOGEVEEN, G. MACCAGNANI, F. MONTANARI & F. TADDEI, J. chem. Soc. *1964*, 682.
- [10] E. I. SNYDER & B. FRANZUS, J. Amer. chem. Soc. *86*, 1166 (1964).
- [11] K. ALDER & H. J. ACHE, Chem. Ber. *95*, 503 (1962).
- [12] A. WASSERMANN, «Diels-Alder-Reactions», Elsevier 1965, dort weitere Literaturzitate; C. GANTER, U. SCHEIDEGGER, J. D. ROBERTS, J. Amer. chem. Soc. *87*, 2771 (1965); J. E. BALDWIN, J. org. Chemistry *37*, 2441 (1966).
- [13] D. CRAIG, J. Amer. chem. Soc. *73*, 4889 (1951).
- [14] R. B. WOODWARD & T. J. KATZ, Tetrahedron *5*, 70 (1959).

89. Kupferkomplexe von Bisamiden: Struktur und Stabilität I

von A. ZUBERBÜHLER und S. FALLAB

(19. I. 67)

Oligopeptide wie Glycylglycin, Glycylglycylglycin und höhere Homologe bilden mit Schwermetall-Ionen in wässriger Lösung Chelate. Die quantitative Untersuchung dieser Komplexbildungsreaktionen mit Cu^{2+} und Ni^{2+} als Zentral-Ionen hat ergeben, dass in Abhängigkeit vom pH aus den Peptidgruppen schrittweise Protonen abgespalten werden, wobei koordinative Bindungen zum Peptidstickstoff entstehen [1] [2]. Für die Struktur der in Lösung vorliegenden Partikel folgt hieraus, dass sich die Peptidkette unter Ausbildung von Chelat-Fünfringen um das Metall-Ion legt. In der vorliegenden Arbeit wird die Komplexbildung von Cu^{2+} mit einer



I–VI, $n = 1, 2, 3, 4, 5, 7$

homologen Reihe von Bisamiden I–VI studiert. Der Grundkörper der Reihe N, N' -Diglycyl-äthylendiamin (I) ($n = 1$) ist als Ligand dem bekannten Komplexbildner TRIEN (Triäthylentetramin) ähnlich, indem er, wie die höheren Homologen II–VI, potentiell vierzählig ist.

Die Verbindungen I–VI wurden ausgehend von den entsprechenden Diaminen durch Kondensation mit N -Benzoxycarbonyl-glycinester und anschliessende Entfernung der Schutzgruppen hergestellt. Auf Grund potentiometrischer Basentitrationen in Gegenwart von CuSO_4 wurden die in Lösung sich einstellenden Komplexgleichgewichte analysiert.

Zur Diskussion standen die Fragen, 1., ob analog zur Reaktion von Cu^{2+} mit Peptiden Amidprotonen abgespalten werden, 2., ob die Struktur der sich bildenden Komplex-Partikeln auf Chelat-5- oder höchstens 6-Ringe beschränkt bleibt oder ob

bei grösserem n die Koordinationstendenz der endständigen Ligandgruppen zur Ausbildung eines mittleren Makrorings ausreicht, und 3., ob sich mit steigender Gliederzahl der mittleren CH_2 -Kette eine Tendenz zur Bildung von binuclearen Chelaten abzeichnet.

Experimentelles. – Von den Liganden sind I–IV bereits beschrieben [3] [4]. Dass jedoch – wie unsere Ergebnisse zeigen (siehe Tabelle 1) – bisher nur I rein erhalten wurde [3], hing mit dem verwendeten Syntheseweg zusammen, dessen letzter Schritt in einer Alkylierung von NH_3 besteht, was zu einer Reihe von schwer abtrennbaren Nebenprodukten führte.

Durch Umsatz von N -geschützten Glycinderivaten mit den entsprechenden Diaminen wurden diese Schwierigkeiten umgangen. Als geschützte Vorstufen (Ia–VIa) stellten wir das bekannte [5] N,N' -Di-benzoxycarbonylglycyl-äthylendiamin (Ia) und seine bisher noch nicht beschriebenen Homologen IIa–VIa her, kristallisierten die Verbindungen aus wässrigem Alkohol um und spalteten die Schutzgruppen durch katalytische Hydrierung ab.

Dihydrochlorid von N,N' -Diglycyl-1,5-diaminopentan (IV). 17,8 g IVa werden in 100 ml warmem Eisessig gelöst und im Wasserbad bei 70–80° mit H_2 und Pd/C katalytisch hydriert. Nach Beendigung der CO_2 -Entwicklung wird vom Katalysator abfiltriert und die Lösung im Wasserstrahlvakuum eingedampft. Der Rückstand wird in möglichst wenig Methanol gelöst, die Lösung mit ca. 2,5 Äqu. HCl/Methanol versetzt und das IV-Dihydrochlorid durch tropfenweise Zugabe von Äther ausgefällt. Man kristallisiert aus Methanol/Äther um. Für II, V und VI gilt diese Vorschrift unverändert. Zur Darstellung von I und III löst man den Eindampfungsrückstand in 90–95-proz. Alkohol, fällt direkt durch langsames Zutropfen von 2,5 Äqu. konz. HCl und kristallisiert aus wässrigem Alkohol um (Daten siehe Tabelle 1 und 2).

Tabelle 1. Ausbeuten, Schmelzpunkte^{a)} und Molgewichte^{b)} der Dihydrochloride von I–VI

Ligand · 2HCl	Ausbeute %	Smp. °C Dihydrochloride		Geschützte Vorstufen Ia–VIa	Molgewicht	
		gef.	Lit.		gef.	ber.
I	88	246–248	246 [3]	209–211 ^{c)}	246	247,1
II	95	230–232	165 [4]	179–181	262	261,2
III	90	205–208	Öl [4]	189–191	274	275,2
IV	91	218–221	200–207 [4]	175–177	289	289,2
V	96	199–202	–	175–177	302	303,2
VI	96	210–216	–	173–175	330	331,3

^{a)} Bestimmt auf dem KOFLER-Block und nicht korrigiert.

^{b)} Durch potentiometrische Titration mit standardisierter NaOH bestimmt.

^{c)} Lit. [5]: 201°.

Tabelle 2. Elementaranalysen

Substanz	Bruttoformel	C%		H%		Cl%	
		ber.	gef.	ber.	gef.	ber.	gef.
I	$\text{C}_6\text{H}_{16}\text{O}_2\text{N}_4\text{Cl}_2$	–	–	–	–	28,85	29,3
II	$\text{C}_7\text{H}_{18}\text{O}_2\text{N}_4\text{Cl}_2$	32,2	32,4	6,95	6,94	27,1	26,9
III	$\text{C}_8\text{H}_{20}\text{O}_2\text{N}_4\text{Cl}_2$	34,9	34,9	7,33	7,44	25,8	25,5
IV	$\text{C}_9\text{H}_{22}\text{O}_2\text{N}_4\text{Cl}_2$	37,4	37,5	7,67	7,74	24,5	24,2
V	$\text{C}_{10}\text{H}_{24}\text{O}_2\text{N}_4\text{Cl}_2$	39,6	39,5	7,98	8,06	23,4	23,1
VI	$\text{C}_{12}\text{H}_{28}\text{O}_2\text{N}_4\text{Cl}_2$	–	–	–	–	21,4	21,6

Die Komplexbildung wurde potentiometrisch und spektrophotometrisch untersucht. Die potentiometrischen Messungen wurden mit Hilfe eines Präzisionspotentiometers E 353 und einer kombinierten Glaselektrode Typ UX (beide von der Firma МЕТРОНМ AG, Herisau) durchgeführt.

Alle Messungen wurden unter 99,99-proz. N_2 bei $23^\circ \pm 1^\circ$ in 0,5 M KCl-Lösung vorgenommen, welche durch Kochen und Spülen mit N_2 von CO_2 und O_2 befreit worden war. – Reagenzien: 0,1N NaOH Titrisol, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ *p. a.* und KCl *p. a.* (alle MERCK).

Von jedem Liganden nahmen wir 5 Titrationskurven, und zwar meist je zweimal, auf. Die Titrationslösungen enthielten 25 ml 1M KCl, 10 ml $2 \cdot 10^{-2}M$ Ligand-dihydrochlorid und wechselnde Mengen an $4 \cdot 10^{-2}M$ $CuSO_4$ (0, 0,5, 0,8, 1 und 2 Äqu. pro Ligandmolekel) und wurden mit Wasser auf 50 ml aufgefüllt.

Die spektrophotometrischen Messungen – ausgeführt mit einem BECKMAN-Spektrophotometer Modell DB mit automatischem Schreiber VARICORD 43 – dienten hauptsächlich zur Überprüfung der potentiometrisch gefundenen Resultate. Eine mathematische Auswertung erfolgte nicht.

Mehrere, bei wechselndem pH und mit verschiedenen Liganden aufgenommene JOB-Kurven [6] ergaben ausnahmslos das Vorliegen von 1:1-Komplexen. Daneben wurde die Abhängigkeit der Spektren vom pH studiert: Ligand und $CuSO_4$ wurden im Molverhältnis 1:0,8 gemischt und das Spektrum bei wechselndem pH aufgenommen. Aus den spektralen Verschiebungen lässt sich erkennen, dass die vier Puffergebiete – mit Ausnahme derjenigen für die Abspaltung des 3. und 4. Protons bei IV und V – mehr oder weniger stark überlappen. Das Auftreten isosbestischer Punkte bei höherem pH weist darauf hin, dass die beobachteten Puffergebiete für IV und V nicht komplizierten Gleichgewichten mit mehreren Komponenten, sondern der Abspaltung *eines* Protons aus *einem* Komplex zuzuordnen sind.

Analytischer Teil und Resultate. – Die Auswertung der potentiometrischen Titrationskurven erfolgte mit Hilfe eines Digitalcomputers¹⁾. Das dazu verwendete Programm wurde speziell zur Berechnung von überlappenden pK-Werten mehrbasischer Säuren entwickelt.

Bestimmt man aus mehreren Kurvenpunkten und mit festen Werten aller Konstanten K_i ($i \neq j$) den Wert der Funktion (1), dann lässt sich aus den Resultaten

$$y = K_j = f(\text{OH}, \text{pH}, K_1, K_2, \dots K_n). \quad (1)$$

(OH = zugesetzte NaOH in ml)

ein Mittelwert $\overline{K_j}$ und eine Standardabweichung ΔK_j von $\overline{K_j}$ errechnen. (Durch systematische Variation der Konstanten $K_1, K_2, \dots K_n$ wird die Standard-Abweichung der aus verschiedenen Messpunkten erhaltenen K_j -Werte minimiert.) Als beste K_i -Werte betrachten wir diejenigen, für welche das Kriterium $U = \Delta K_j / \overline{K_j}$ zu einem Minimum wird. Der Wert von U_{min} gibt ein Mass für die Genauigkeit der Messungen, vorausgesetzt natürlich, dass die gewählte Funktion (1) die richtige ist. Aus einem sehr grossen Wert von U_{min} kann man umgekehrt auf eine fehlerhafte Funktion schliessen.

Im zweiten Teil des Programms berechnen wir die Funktion $\text{OH} = f(\text{pH})$ (2) über das ganze Titrationsgebiet unter Verwendung der im ersten Teil gefundenen

$$\text{OH} = f(\text{pH}, K_1, K_2, \dots K_n). \quad (2)$$

Konstanten. Von den Titrationskurven verwendeten wir stets nur eine zur Bestimmung der Konstanten, die anderen dienten zur Überprüfung. Auf diese Weise kann man rasch und sicher falsche Funktionen erkennen.

Als erstes wurden die Komplexe zwischen Cu^{2+} und N,N'-Diglycyl-1,3-diaminopropan (II) untersucht, bei welchen alle pK-Werte stark überlappen. In Fig. 1 sind die experimentellen Daten verglichen mit drei theoretischen Kurven, wie sie unter

¹⁾ Wir danken dem Rechenzentrum Basel für die zur Verfügung gestellte IBM 1620.

den folgenden Annahmen für den Mechanismus der Komplexbildung (unter ausschliesslicher Berücksichtigung von 1:1-Komplexen) errechnet werden:

A) Vorerst Abspaltung der zwei endständigen Ammoniumprotonen «in einem Schritt» [7], anschliessend stufenweise Dissoziation der zwei Amidprotonen. Dieser Mechanismus ist für I bereits postuliert worden [8]

B) Stufenweise Abspaltung von 4 Protonen.

C) Dissoziation der zwei letzten Protonen «in einem Schritt». Fig. 1 zeigt eindeutig, dass nur die C zugrunde liegende Annahme richtig sein kann.

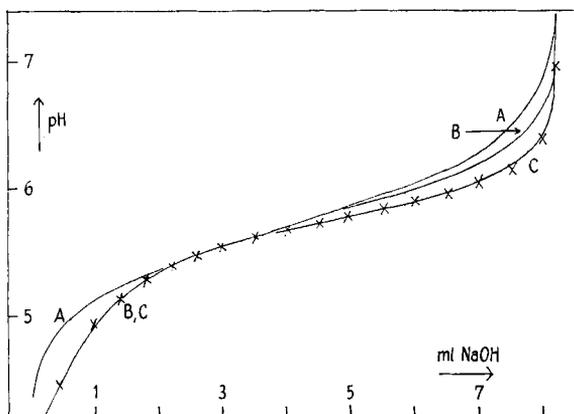
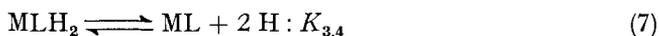
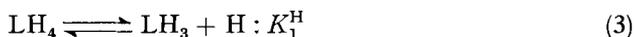


Fig. 1. Berechnete Titrationskurven für Cu^{2+} | N,N' -Diglycyl-1,3-diaminopropan (1:1) Unter Berücksichtigung der Komplexpartikeln: A: MLH_2 , MLH und ML ; B: MLH_3 , MLH_2 , MLH und ML ; C: MLH_3 , MLH_2 und ML ; X = experimentelle Punkte

Der Annahme C entsprechen die Gleichgewichte (3)–(7) (Ligand = LH_4 , Metall-Ion = M).



Mit diesen fünf Konstanten sowie den Ausdrücken für die Totalkonzentrationen an Metall-Ion, Ligand und titrierbaren Protonen lässt sich K_1 als Funktion der übrigen Grössen in einer zu (1) analogen Gleichung (8) darstellen.

$$K_1 = f(K_1^{\text{H}}, K_2^{\text{H}}, K_2, K_{3,4}, \text{pH}, \text{OH}) \quad (8)$$

K_1^{H} und K_2^{H} , die Dissoziationskonstanten der freien Liganden, wurden im voraus aus deren Titrationskurven bestimmt und K_2 sowie $K_{3,4}$ wie oben beschrieben variiert. Mit den für K_1 – $K_{3,4}$ gefundenen Werten wurden die theoretischen Titrationskurven errechnet und diese mit den experimentellen verglichen (Fig. 2). Auch

für die nicht zur Berechnung der K -Werte verwendeten Kurven ist die Übereinstimmung zwischen experimentellen und theoretischen Daten gut.

Die Komplexbildung mit den übrigen Liganden I und III–VI kann durch die Annahme B (Stufenweise Abspaltung von 4H^+) erklärt werden. Wiederum wurden

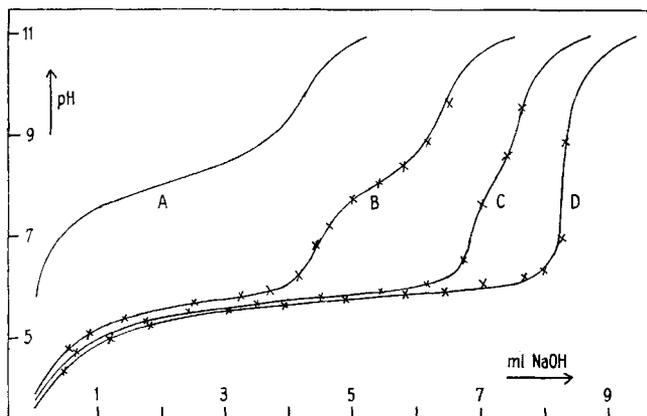
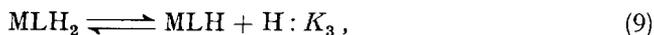


Fig. 2. Titrationskurven von $4 \cdot 10^{-3}\text{M}$ *N, N'*-Diglycyl-1,3-diaminopropan

Mit Zusatz von 0 (A), 0,5 (B), 0,8 (C), 1,0 (D) Äqu. CuSO_4 ; — experimentelle Kurven, X = berechnete Punkte

nur 1 : 1-Komplexe berücksichtigt. Für B treten anstelle von (7) die Beziehungen (9) und (10). Die Resultate sind in Tabelle 3 zusammengefasst. K_1^{H} und K_2^{H} sind für I–VI praktisch identisch. Auch für die experimentell nicht bestimmbar Werte



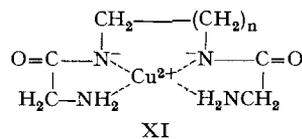
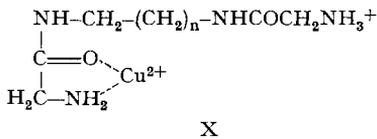
pK_3^{H} und pK_4^{H} der Dissoziation der Amidprotonen im freien Liganden darf angenommen werden, dass sie weitgehend unabhängig von der Länge der mittelständigen CH_2 -Kette sind. Die Säuredissoziationskonstanten der hypothetischen Säure MLH_4 sind daher ein direktes Mass für die Stabilität der entstehenden Komplextypen.

Tabelle 3. pK^{H} -Werte von I–VI und pK -Werte der entsprechenden Cu^{2+} -Komplexe^{a)}

Substanz	pK_1^{H}	pK_2^{H}	$\text{pK}_1^{\text{b)}$	pK_2	pK_3	pK_4
I	7,81	8,51	$5,24 \pm 0,04$	5,49	6,51	8,21
II	7,84	8,53	$5,33 \pm 0,01$	5,61	11,33 ^{c)}	—
III	7,93	8,56	$5,35 \pm 0,01$	5,27	7,77	7,52
IV	7,88	8,51	$5,44 \pm 0,01$	5,49	7,47	10,30
V	7,93	8,56	$5,55 \pm 0,01$	5,18	7,85	10,62
VI	7,90	8,56	$5,56 \pm 0,02$	5,15	—	—

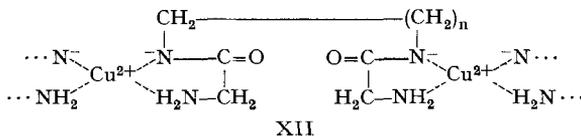
a) $T = 23^\circ\text{C}$, $I = 0,5$. b) Mit Standardabweichung. c) $\text{pK}_{3,4}$.

Auch die Dissoziationskonstanten K_1 der Metallkomplexe sowie die Konstanten K_2 für die Abspaltung eines Protons aus MLH_3 variieren nur über einen geringen Bereich. Bei höheren pH-Werten treten deutlichere Unterschiede im Komplexbil-



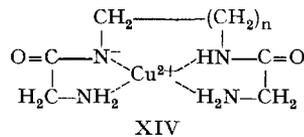
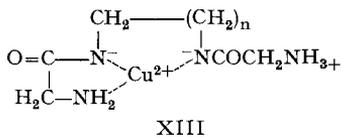
Die Titrations ergeben, dass nach Ausbildung von VIII noch zwei Basenäquivalente verbraucht werden. Hierbei muss es sich in Übereinstimmung mit den Untersuchungen anderer Autoren über die Chelatbildung von Peptiden, um die Neutralisation der endständigen Ammoniumgruppe und um die Abspaltung eines weiteren Amidprotons handeln. Dementsprechend verschieben sich auch die nach Abspaltung von zwei Protonen bei 680 nm liegenden Absorptionsbanden mit steigendem pH nach kürzeren Wellenlängen (510–560 nm). Bei Koordination von OH⁻-Gruppen wäre keine wesentliche Verschiebung zu erwarten (vgl. z. B. [10]).

Schliesslich ist zwischen XI und XII für die Struktur der Komplexe des vollständig deprotonierten Liganden L²⁻ zu entscheiden. Bei grösseren n könnten polynucleare Partikeln XII erwartet werden, da dann die Stabilität des mittleren Che-

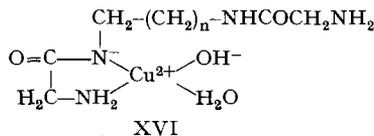
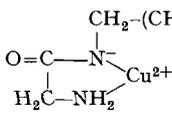


latrings in XI abnehmen muss. Die pK-Werte müssten dann aber mit wachsendem n auf eine Stabilitätszunahme hinweisen; wir fanden jedoch das Gegenteil.

Die Deutung von pK₃ ergibt für MLH die Struktur-Möglichkeiten XIII–XV. Infolge des grossen Aciditätsunterschieds zwischen dem endständigen Ammonium-



Kation und der Amidgruppe kann jedoch XIII kaum in Betracht gezogen werden, d. h. es erfolgt wohl zunächst die Dissoziation der Ammoniumgruppe. Hier treten



nun aber die individuellen Eigenschaften der Systeme I–VI deutlich in Erscheinung: Während bei II zwei Protonen in einem Schritt abgespalten werden, bildet I offenbar zuerst die Struktur XIV, welche bei höherem pH-Wert in XI übergeht. Die pK₃-Werte von III–V zeigen nur geringe Unterschiede und liegen überdies sehr nahe bei den pK-Werten der freien Liganden. In diesen Fällen wird daher offensichtlich XV als Zwischenprodukt bevorzugt. Für den langkettigen Liganden VI ist XV das Endprodukt, denn nach Neutralisation beider Ammoniumgruppen und einer Amidgruppe fällt Cu(OH)₂ aus. Die geringe Stabilität des mittleren Chelat-11-Ringes

reicht zur Bildung eines vierfach koordinierten Komplexes nicht mehr aus. Dass dies erst bei $n = 7$ der Fall ist, erhärtet die Annahme, dass IV und V Komplexe vom Typ XI bilden, denn die Hydroxokomplexe XVI müssten für alle Liganden dieselbe Stabilität aufweisen, was, wie die pK_4 -Werte zeigen, nicht der Fall ist.

Die Unterschiede in den pK_4 -Werten sind auch sonst aufschlussreich. Bei den Verbindungen IV und V kommt deutlich zum Ausdruck, dass die Komplexe vom Typ XV nur eine geringe Tendenz zeigen, in XI – mit Chelat-8- bzw. -9-Ring – überzugehen. Aus den pK_4 -Werten von I und III muss geschlossen werden, dass der Austritt des letzten Protons im Chelat-5-Ring ($n = 1$) aus sterischen Gründen erschwert ist, denn der mit III gebildete Chelat-7-Ring müsste sonst weniger stabil sein und der entsprechende pK -Wert darum höher liegen.

Herrn Dr. B. PRIJS danken wir für die sorgfältige Durchsicht des Manuskripts. Die Mikroanalysen verdanken wir der mikroanalytischen Abteilung der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel (Dr. W. PADOWETZ).

SUMMARY

Complex formation between Cu^{2+} and several ligands, each containing two amino and two amide groups, has been studied potentiometrically and spectrophotometrically. A digital computer was used to determine the composition of the complex species formed and to calculate their stability constants. N,N'-diglycyl-1,2-diaminoethane and its homologues form 5-, 6-, 7-, 8- and 9-membered rings between the two amide groups, respectively. No tendency towards formation of binuclear species has been observed.

Institut für Anorganische Chemie
Universität Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. DOBBIE, W. O. KERMACK & H. LEES, *Biochem. J.* **59**, 240 (1955); S. P. DATTA & B. R. RABIN, *Biochem. biophysic. Acta* **19**, 572 (1956); C. B. MURPHY & A. E. MARTELL, *J. biol. Chemistry* **226**, 37 (1957); H. C. FREEMAN in J. PEISACH, P. AISEN, W. E. BLUMBERG, «The Biochemistry of Copper», Academic Press, New York, London 1966, S. 77.
- [2] A. E. MARTELL, *Biochemistry* **3**, 1169 (1964).
- [3] T. L. COTRELL & J. E. GILL, *J. chem. Soc.* **1947**, 129.
- [4] J. v. BRAUN, F. DENGEL & A. JACOB, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **70B**, 994 (1937).
- [5] R. SCHWYZER, M. FEURER, B. ISELIN & H. KÄGI, *Helv.* **38**, 83 (1955).
- [6] P. JOB, *Ann. Chim. Phys.* **9**, 113 (1928).
- [7] G. SCHWARZENBACH & R. SULZBERGER, *Helv.* **26**, 453 (1943).
- [8] A. K. CHAKRABURTY, N. N. GOSH & P. RAY, *J. ind. chem. Soc.* **30**, 185 (1953).
- [9] C. J. HAWKINS & D. D. PERRIN, *Inorg. Chemistry* **2**, 839 (1963).
- [10] G. F. BRYCE, J. M. H. PINKERTON, L. K. STEINRAUF & F. R. N. GURD, *J. biol. Chemistry* **240**, 3829 (1965).