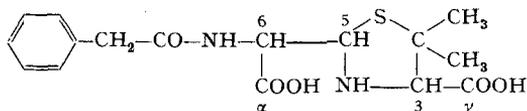


207. Zur Kenntnis der Benzylpenicilloinsäure

von C. H. Schneider und A. L. de Weck

(14. VII. 67)

Bei der Penicilloylierung von Amino- oder Hydroxyverbindungen entsteht neben den α -Amido- bzw. α -Esterderivaten der Penicilloinsäure ein mehr oder weniger grosser Anteil an Penicilloinsäure. Die Bestimmung von Penamaldatwert¹⁾ [1] [2], kombiniert mit derjenigen der Penamaldatstabilität¹⁾ [3], erlaubt eine Abschätzung dieses Anteils bereits in der Reaktionsmischung, sofern der Gehalt an unverändertem Penicillin bestimmte Werte nicht übersteigt. Nach Abtrennung der Penicilloinsäure z. B. durch Säulenchromatographie genügt eine einfache Penamaldatanalyse des Eluats zu ihrer raschen Erfassung. Die beiden Methoden liefern untereinander recht gut übereinstimmende Werte²⁾. Leider fehlte bis jetzt eine sichere Kenntnis des



Benzylpenicilloinsäure (I)

molaren Penamaldatwertes der Benzylpenicilloinsäure (I). Der gelegentlich verwendete Wert von 20000 ist offenbar aus Analogie zu den ähnlich hohen Werten von α -Amido-derivaten der Benzylpenicilloinsäure angenommen worden. Demgegenüber fanden wir schon vor einiger Zeit in alkalisch hydrolysierten Benzylpenicillinlösungen unter der Voraussetzung, dass alles Penicillin ausschliesslich in Penicilloinsäure übergegangen ist, Penamaldatwerte von 8000 bis höchstens 10000. Obschon keine ins Gewicht fallenden Nebenreaktionen bei der alkalischen Penicillinhydrolyse bekannt sind, sind diese Werte natürlich ungenügend gesichert.

Eine Untersuchung mit gereinigtem, penicilloinsäurefreiem Natriumbenzylpenicilloat (Na-Salz von I) ergab nun eine Übereinstimmung der molaren Penamaldatwerte von gereinigter Benzylpenicilloinsäure und alkalisch hydrolysiertem Benzylpenicillin, welche unter Standardbedingungen bei etwa 8000 l · mol⁻¹ · cm⁻¹ liegen (Fig. 1). Dieses Resultat bestätigt die Annahme, dass bei der alkalischen Benzylpenicillinhydrolyse lediglich Benzylpenicilloinsäure entsteht. Die NMR.-Spektren

¹⁾ Als Penamaldatwert (PW) bezeichnen wir die durch portionenweise HgCl₂-Zugabe maximal erzeugbare Extinktion bei 282 nm in einer Lösung von Penicilloinsäure bzw. ihrer Derivate mit umgewandelter α -Carboxylgruppe. Der Penamaldatwert PW₀ (auch Anfangspenamaldatwert genannt) besteht $\frac{1}{2}$ Min. nach erfolgter Zugabe der gesamten, nötigen (in einem standardisierten Vorversuch ermittelten) HgCl₂-Menge. Die Penamaldatstabilität PS₁₀ ist definiert als Verhältnis des Penamaldatwertes nach 10 Min. zum Anfangspenamaldatwert. Für weitere Einzelheiten vgl. [3].

²⁾ Für eine kürzliche Verwendung dieser Methoden zur Erfassung von Penicilloylierungen vgl. [4].

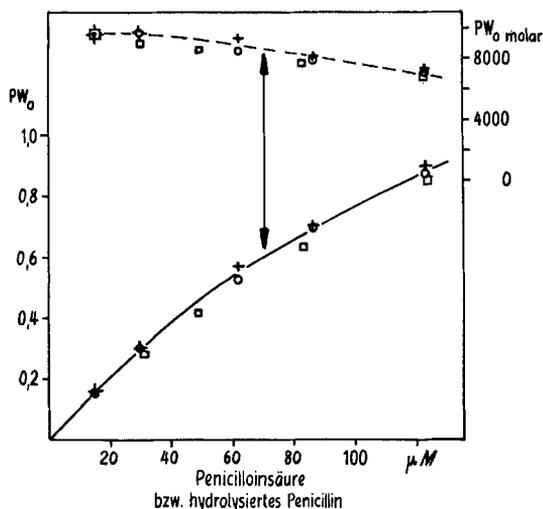


Fig. 1. Penamaldatwerte und molare Penamaldatwerte von Natriumpenicilloat und alkalisch hydrolysiertem Penicillin in Abhängigkeit von der Konzentration der Messlösungen

Natriumbenzylpenicilloat: □-□ (Präparat I) und +-+ (Präparat III). Hydrolysiertes Benzylpenicillin: ○-○

von hydrolysiertem Benzylpenicillin in NaOD und von gereinigter Benzylpenicilloinsäure in gleicher Lösung waren identisch (Fig. 2); ferner waren die optischen Drehungen beider Lösungen gleich. Die NMR.-Spektren zeigen bei $\delta = 7,52$ das Signal der aromatischen Protonen; von 5,3 ppm bis 3,4 ppm treten mehrere Signale auf, die von den benzyllischen und β -Lactam-Protonen, vom C(5)-Proton sowie von den vom Lösungsmittel aufgenommenen, austauschbaren Protonen ($\delta = 4,7$) herrühren, deren eindeutige Zuordnung jedoch schwierig scheint. Die geminalen Methylgruppen am Thiazolidinring erzeugen ihre Signale unterhalb etwa $\delta = 1,8$. Den vier hier auftretenden Signalen stehen zwei Signale von Benzylpenicillin in D_2O gegenüber (unpubliziert). Eine weitergehende Interpretation dieser Spektren muss zweifellos einer eingehenderen Untersuchung vorbehalten bleiben.

Immerhin gewannen wir den Eindruck, die Schwierigkeiten bei der Auswertung der NMR.-Spektren könnten jedenfalls zum Teil darauf beruhen, dass die gemessenen Präparate aus Substanzgemischen statt aus einheitlicher Benzylpenicilloinsäure bestehen. Da das Natriumbenzylpenicilloat befriedigende elementaranalytische und titrimetrische Werte lieferte, ist die Annahme, die Komponenten des Gemisches bestünden aus isomeren Penicilloinsäuren, naheliegend. Die Penicilloinsäuren besitzen 3 asymmetrische Zentren C(3), C(5) und C(6) und kommen daher in 8 stereoisomeren Formen vor. Die Konfiguration an C(3) kann nur schwer verändert werden, hingegen bilden die natürlichen D-Penicilloinsäuren 4 stereoisomere Formen, D- α , D- β , D- γ und D- δ , welche sich in ihrer Konfiguration am C(5) und C(6) unterscheiden und relativ leicht ineinander übergehen. So sind Mutarotationen von Penicilloinsäuren oder ihrer Ester in saurer Lösung, bei erhöhter Temperatur in inertem Lösungsmittel sowie in Gegenwart von Kupfersulfat beschrieben worden [5] [6]. Penicilloylamide mutarotieren

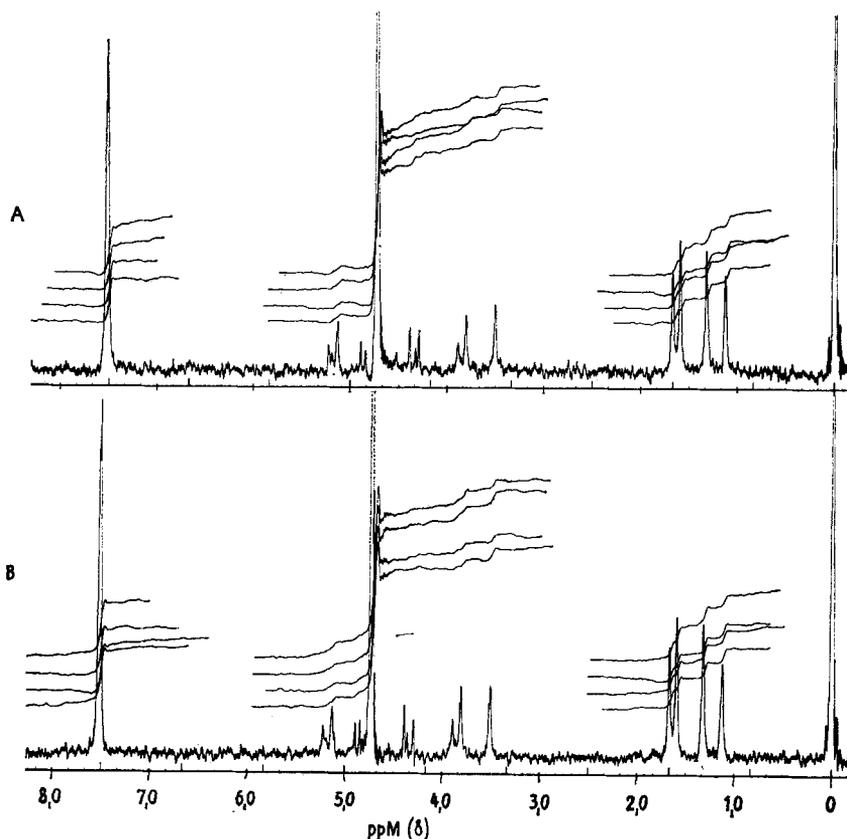


Fig. 2. NMR.-Spektren von hydrolysiertem Penicillin (A) und von Natriumpenicilloat (B)

tieren bei pH 7,5 in Gegenwart von Kupfersulfat und in saurer Lösung [2]. Über Mutarotation in Alkali fanden wir einzig die Angabe, dass ein leichter Überschuss an NaOH bei der Hydrolyse von α -Äthyl-D- γ -benzylpenicilloat zu Penicilloinsäurepräparaten mit erniedrigter optischer Drehung führt [5]. Da die NMR.-Spektren erst nach längerem Stehen der Lösungen aufgenommen wurden, überprüften wir das Verhalten von Natriumbenzylpenicilloat beim Stehen unter verschiedenen Bedingungen und fanden, dass beinahe zu konstantem Penamaldatwert und konstanter Penamaldatstabilität die optische Drehung bei Raumtemperatur in wenigen Stunden beträchtlich absinkt und einem rund 5mal niedrigeren Wert zustrebt. Diese Mutarotation ist zwischen pH 7,3 und 12,5 unabhängig vom pH und lässt sich durch Äthylendiamintetraacetat bei pH 7,3 nicht unterdrücken (Fig. 3). Diese Versuche bestätigen somit, dass beim Stehen von Benzylpenicilloinsäure in neutraler oder alkalischer Lösung innert weniger Stunden Epimerisierung eintritt, die zu einem Diastereoisomerenmisch führt; die NMR.-Spektren stammen daher zweifellos von Gemischen von diastereoisomeren D-Benzylpenicilloinsäuren her.

Analoge Versuche mit ϵ -(Benzylpenicilloyl- α -amido)-capronsäure-bis-benzylammoniumsalz (BPO-EACA) zeigten, dass auch Penicilloylamide bei Raumtempera-

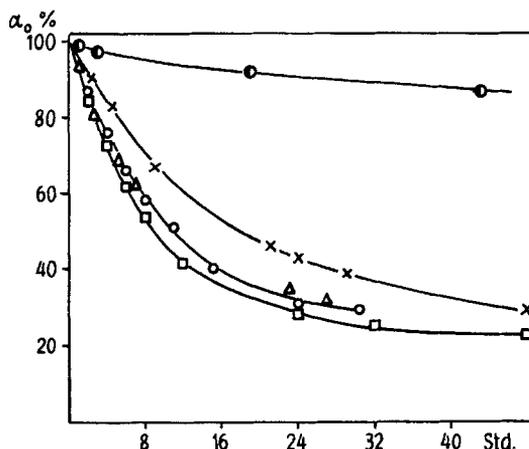


Fig. 3. Mutarotation von Natriumpenicilloat (10 mg/ml) in alkalischen und neutralen wässrigen Lösungen

□-□: 0,1N NaOH, 25°, Anfangsdrehung $\alpha_D = +1,40$, pH 12,5; ○-○: 1M K_2CO_3 , 20°, Anfangsdrehung $\alpha_D = +1,20$, pH = 10,6; Δ - Δ : 0,05M Phosphatpuffer, 25°, Anfangsdrehung $\alpha_D = +1,48$, pH = 7,3; ×-×: 0,05M Natriumäthylendiamintetraacetat, 25°, Anfangswert $\alpha_D = +1,36$, pH = 7,3; ●-●: 0,05M Phosphatpuffer, 5°, Anfangswert $\alpha_D = +1,42$, pH = 7,4

tur in alkalischem Milieu mit beachtlicher Geschwindigkeit mutarotieren können. Die Reaktion zeigte sich in 1M K_2CO_3 und noch rascher in 0,2N NaOH, dagegen überhaupt nicht bei pH 7,4 in 0,05M Phosphatpuffer. Der Abfall des Drehwertes betrug nur etwa halb so viel wie bei der Penicilloinsäure (Fig. 4).

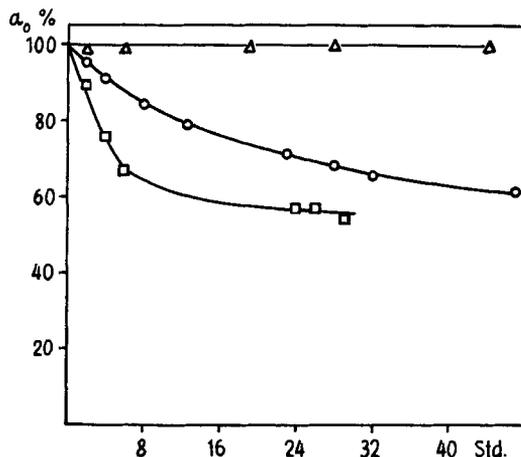


Fig. 4. Mutarotation von BPO-EACA in alkalischer Lösung bei 25°

○-○: 10 mg/ml 1M K_2CO_3 , Anfangsdrehung $\alpha_D = +0,745$, pH = 10,8; □-□: 2 mg/ml 0,1N NaOH, Anfangsdrehung $\alpha_D = +0,108$, pH \approx 12,9; Δ - Δ : 10 mg/ml 0,05M Phosphatpuffer, Anfangsdrehung $\alpha_D = 0,690$, pH = 7,4.

Wie folgende Überlegungen zeigen, liegen der Mutarotation der Penicilloinsäuren und ihrer Amide wahrscheinlich verschiedene Mechanismen zugrunde. Auf Grund peptidchemischer Erfahrung sollte Benzylpenicilloylamidocaprinsäure, als N-phenylacetylierte α -Aminosäureamidoverbindung relativ leicht mutarotieren. N- α -Acylaminosäureamide oder -ester racemisieren sich in Alkali infolge Dissoziation des Protons vom asymmetrischen C-Atom, wobei ein Carbanion entsteht, das über eine tautomere, ungesättigte Gleichgewichtsform seine Asymmetrie verliert. Bei den Acylaminosäuren ist wegen der negativen Ladung der Carboxylgruppe die Deprotonierung und damit die Racemisierung erschwert [7]. Dieser Mechanismus, der zur Bildung zweier Epimeren führt, die sich in ihrer Konfiguration am C(6) unterscheiden, könnte somit die Mutarotation des Penicilloylamidocaproats, jedoch nicht jene des Penicilloats erklären. Beim letzteren ist eine Epimerisierung über Penamaldat unter Verlust der Asymmetrie von C(5) und C(6) anzunehmen [8] [9].

In Anbetracht des Gebrauchs von Penicilloinsäure als Hapteninhibitor, ferner wegen der Verwendung von alkalisch penicilloylierten Proteinen und Peptiden zu Immunisierungsversuchen und zur Auslösung von Anti-Penicilloylantikörper-bedingten Immunreaktionen scheint es wünschenswert, über die bisher vorliegenden Versuche zu berichten, und auf die Mutarotation der Penicilloinsäure und ihrer α -Derivate bei Raumtemperatur in wässrigen alkalischen bzw. neutralen Systemen hinzuweisen. Die die Mutarotation verursachenden Reaktionen sind praktisch wichtig, indem die bemerkenswert geringen Ausbeuten an kristallinem Natriumpenicilloat aus alkalischen Benzylpenicillinhydrolysaten wenigstens teilweise darauf zurückzuführen sein dürften, dass die Hydrolysate diastereomere Penicilloinsäuren enthalten, die bei der Kristallisation des «natürlichen» Mononatriumbenzylpenicilloats vorwiegend in der Mutterlauge bleiben. Wir stellten fest, dass nach erfolgter, rascher alkalischer

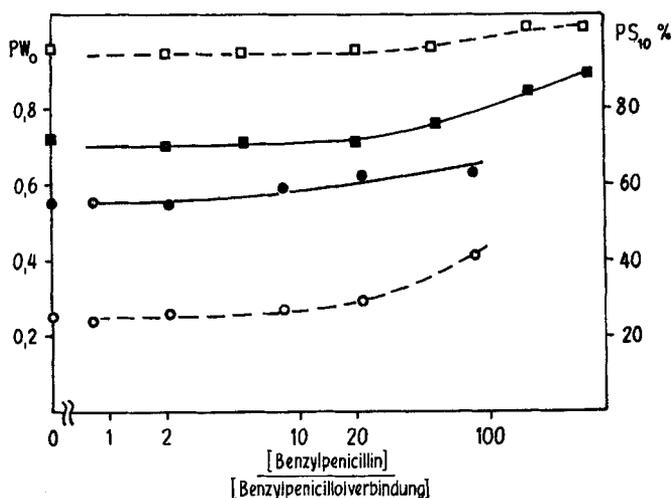


Fig. 5. Penamaldatwert und Penamaldatstabilität von Natriumpenicilloat- und BPO-EACA-Lösungen in Gegenwart steigender Mengen an Penicillin

●—●: PW₀ und ○---○: PS₁₀ der Natriumpenicilloatlösung; □—□: PW₀ und ■---■: PS₁₀ der BPO-EACA-Lösung

Hydrolyse von Benzylpenicillin die erhaltene Lösung bei Raumtemperatur noch beträchtlich weiter mutarotiert. Demnach müsste sich die bei der Hydrolyse zunächst entstehende Form der Benzylpenicilloinsäure in höherer Ausbeute gewinnen lassen, wenn auf rasche Hydrolyse bei pH 12 bis 13 und rasche Aufarbeitung der Lösungen bei möglichst tiefer Temperatur geachtet wird.

Im Anschluss an die Bestimmung des molaren Penamaldatwertes der Benzylpenicilloinsäure untersuchten wir den Einfluss von Penicillin auf die Penamaldat- und Penamaldatstabilitätsbestimmung. Penicillin bildet wie andere N⁴-Acylpenicilloate mit Quecksilbersalzen nur sehr langsam oder überhaupt kein Penamaldat [5]. Wir fanden (Fig. 5), dass Benzylpenicillin bis zu 20fachem molarem Überschuss die Bestimmungen der Benzylpenicilloinsäure und ihrer α -Derivate nicht stört. Bei noch höheren Penicillinkonzentrationen steigen dagegen der Penamaldatwert und insbesondere die Penamaldatstabilität empfindlich an. Die Resultate zeigen unter anderem, dass in reagierenden Penicillinlösungen Penicilloinsäure und Penicilloyl- α -derivate mittels Penamaldatanalyse schon dann sicher nachgewiesen werden können, wenn nur $1/_{20}$ des Penicillins in diese Produkte übergegangen ist.

Experimenteller Teil³⁾

1) *D-Benzylpenicilloinsäure-Mononatriumsalz aus Penicillin*: Präparat I: 6,7 g Benzylpenicillin Natriumsalz (SPECIA, Paris) in 60 ml Wasser wurde unter Rühren innert $2\frac{1}{2}$ Std. so mit 540 ml 0,04 N NaOH versetzt, dass der pH-Wert der Lösung 11,5 nicht überstieg. 15 Min. nach beendeter Laugenzugabe wurde die Lösung in einem Eisbad auf 5–10°C abgekühlt und unter starkem Rühren mit 1 N HCl auf pH 5 gebracht und lyophilisiert. Das Lyophilisat wurde in 18 ml H₂O gelöst, worauf es nach kurzer Zeit auskristallisierte. Das Rohkristallisat wurde aus Wasser-Alkohol (1:5) umkristallisiert und über Nacht bei 4° über P₂O₅ getrocknet. Ausbeute 0,7 g, Smp. 130–133°, Penamaldatwert: PW_{0 molar}: 7200. Nochmalige gleiche Umkristallisation und gleiches Trocknen lieferte: 0,5 g, Smp. 130–135°. Penamaldatanalyse: PW_{0 molar}: 7200. PS₁₀ = 26%.

Nach einwöchigem Stehen über P₂O₅ bei 4°: Smp. 160–164°. Das Produkt wurde nochmals aus Wasser-Alkohol (1:6) umkristallisiert (geringer Verlust) und 49 Std. bei 4° über P₂O₅ getrocknet: Smp. 143–145°. Wassergehalt: 8,52%. Die folgenden Daten sind auf wasserfreie Substanz umgerechnet: $[\alpha]_D^{24} = +140^\circ$ ($c = 1$, H₂O); Penamaldatanalyse: PW_{0 molar} = 7700. Neutralisationsäquivalent: ber. 374, gef. 378; 385 (potentiometrische Titration der NH-Gruppe in Aceton-Wasser 5:4 mit 0,5 N HCl nach Zugabe von NaOH bis pH 12; pK-Wert $\approx 5,6$). Lit. [5]: Smp. 162–164° $[\alpha]_D^{23} = +122^\circ$; Smp. 140–142° $[\alpha]_D = +97^\circ$ ($c = 1$, H₂O).

C₁₆H₁₉O₅N₂SNa (374,4) Ber. C 51,32 H 5,11 N 7,47% Gef. C 51,73 H 4,92 N 7,76%

Wenn nichts anderes vermerkt ist, sind die weiteren Untersuchungen mit obigem Natriumhydrogenbenzylpenicilloat (Präparat I) durchgeführt worden. Zwei weitere Ansätze mit 6,7 g Benzylpenicillin-Natriumsalz lieferten nach zweimaliger Umkristallisation des Rohkristallisates und nach Trocknen *in vacuo* über P₂O₅ bei Raumtemperatur für 24 Std.:

Präparat II: 1,7 g, Smp. 153–157°, $[\alpha]_D^{25} = +134^\circ$ ($c = 1$, H₂O), PW_{0 molar} = 7700;

Präparat III: 1,1 g, Smp. 158–160°, $[\alpha]_D^{20} = +130^\circ$ ($c = 1$, H₂O), PW_{0 molar} = 8400.

2) *Papierchromatographie*: (Zirkulärtechnik auf SCHLEICHER-SCHÜLL-Papier 2043 B mg/l, 17 cm \varnothing . Nach dem Trocknen wurden die Chromatogramme mit ammoniakalischer Silbernitratlösung besprüht).

System A: 1-Butanol-Propanol-0,1 M Phosphatpuffer pH 7,4 (2:1:3), Papier mit Puffer vorbehandelt, Auftrag 100 μ g. Rf: 0,25 (einzige Zone). Penilloinsäure gemischt mit Penicilloinsäure wandert unter diesen Bedingungen mit Rf: 0,7. Bei einem Auftrag von 200 μ g Natriumbenzylpenicilloat wird keine Penilloinsäure gefunden während sie, in Kontrollversuchen, in einer Mischung der beiden Substanzen bis hinunter zu einem Gehalt von 2% sichtbar wurde.

³⁾ Die Smp. sind in Kapillaren bestimmt und korrigiert.

System B: 1-Butanol-Propanol-Pyridin-H₂O (4:2:1:6); Auftrag von 50 µg führt zu einer einzigen Zone mit Rf, 0,52.

3) *Benzylpenilloinsäure*: 1,0 g Benzylpenicilloinsäure-Natriumsalz (Präparat III) in 10 ml H₂O wurde mit 1 N HCl auf pH 2 gebracht. Nach 30 Min. bei 0° wurde der Niederschlag abgenutscht, mit 5 ml eiskaltem Wasser gewaschen und 2 Stunden über P₂O₅ *in vacuo* vorgetrocknet. Zur Decarboxylierung liess man die Substanz 48 Std. über festem NaOH und P₂O₅ bei 75–78° *in vacuo* stehen. Ausbeute: 0,62 g. Penamaldatanalyse: PW₀ = 850 (*c* = 100 g/l). Umkristallisation aus heissem Wasser lieferte 0,35 g Smp. 147–148° (Zers.), $[\alpha]_D^{20} = +58,8^\circ$ (*c* = 0,5, Äthanol); Penamaldatanalyse: PW₀ < 50 (*c* = 100 g/l). (Lit. [5]: Aus Wasser Smp. 88–104°, $[\alpha]_D^{25} = +57^\circ$ (*c* = 0,433, Äthanol). Aus Methanol: Smp. 145–148°, $[\alpha]_D^{25} = +45^\circ$ (*c* = 0,45, Äthanol).

C₁₅H₂₀O₃N₂S (308,3) Ber. C 58,42 H 6,54 N 9,09% Gef. C 58,47 H 6,54 N 9,03%

4) *Vergleich der Penamaldatwerte von Natriumbenzylpenicilloat und alkalisch hydrolysiertem Benzylpenicillin*

Stammlösungen. – a) *Benzylpenicillin-Hydrolysat*: Eine Lösung von 23,0 mg Benzylpenicillin-Kaliumsalz (CHAS. PFIZER & Co., New York, 1585 U/mg) in 4 ml 1 N NaOH wurde 2 Std. bei Raumtemperatur aufbewahrt, mit 2 ml 0,1 M Phosphatpuffer pH 7,4 versetzt und nach Abkühlung der Lösung in einem Eisbad unter guter Rührung mit 0,2 N HCl auf pH 7,4 gebracht. Darauf wurde 0,1 M Phosphatpuffer pH 7,4 (50 ml) zugesetzt und mit Wasser auf 100 ml ergänzt.

b) *Natriumpenicilloat*: Eine Lösung von 23,1 mg Mononatriumbenzylpenicilloat (Präparat III) in 20 ml 0,2 M NaCl wurde mit 50 ml 0,1 M Phosphatpuffer pH 7,4 versetzt und mit Wasser auf 100 ml ergänzt. Präparat I wurde entsprechend in 0,05 M Phosphatpuffer pH 7,4 gelöst. Sein Wassergehalt wurde in Rechnung gestellt.

Ausführung der Messungen. Die Stammlösungen wurden mit verschiedenen Mengen 0,05 M Phosphatpuffer pH 7,4 1:5 bis 1:40 verdünnt, worauf man Quecksilberäquivalenz und anschliessend den Penamaldatwert PW₀ bestimmte (Fig. 1). Die Übereinstimmung der Messwerte der drei Lösungen ist beachtlich. Andererseits zeigen die Kurven deutlich die nichtlineare Abhängigkeit der Penamaldatwerte von der Penicilloinsäurekonzentration. Für genauere, reproduzierbare Bestimmungen ist es daher erforderlich, die Messungen stets im gleichen, engen Konzentrationsbereich durchzuführen. Nach unserer Erfahrung ist es zweckmässig, die Lösungen stets auf einen PW₀ von 0,55 bis 0,65 einzustellen (vgl. auch [3]). Beim Messwert PW₀ = 0,6 (Standardbedingung) liegt der molare Penamaldatwert PW_{0 molar} bei 8000 l · mol⁻¹ cm⁻¹.

5) *NMR.-Spektren von alkalisch hydrolysiertem Benzylpenicillin und Natriumbenzylpenicilloat*. Die Ansätze A (hydrolysiertes Benzylpenicillin) und B (Mononatriumbenzylpenicilloat) wurden so zusammengestellt, dass Konzentrationen, Wassergehalt und Begleitstoffe (K⁺, Na⁺) in beiden Lösungen praktisch gleich sind. Nach der Hydrolyse des Penicillins sind die Lösungen gleich, sofern das Hydrolyseprodukt mit dem isolierten Penicilloat in seiner Zusammensetzung übereinstimmt. Die Spektren wurden auf einem VARIAN-Spektrographen (Modell A-60 A; 60 MHz) bei 37° aufgenommen. Die Resonanzstellen sind in δ-Werten (ppm) angegeben, bezogen auf Tetramethylsilan (δ = 0) als internem Standard. Das Feld wurde mit einer Geschwindigkeit von 1,2 ppm/Min. geändert. Die Lösungen wurden 8–10 Std. nach Herstellung spektrometriert (Fig. 2). Die optischen Drehungen wurden am folgenden Tag, nach Verdünnung der Lösungen mit D₂O auf das doppelte Volumen, gemessen.

A: 100 mg Benzylpenicillin-Kaliumsalz wurden in 2,0 ml 0,2 N NaOD gelöst und mit 0,134 ml 2 N NaOH in D₂O und 14 µl Wasser versetzt. $[\alpha]_D^{27} = +78,4^\circ$.

B: 110 mg Natriumbenzylpenicilloat wurden in 2,0 ml 0,2 N NaOD gelöst und mit 0,134 ml 2 N KOH in D₂O versetzt. $[\alpha]_D^{27} = +77,7^\circ$.

6) *Mutarotation von Natriumbenzylpenicilloat und ε-(Benzylpenicilloyl-α-amido)-capronsäurebis-benzylammoniumsalz (BPO-EACA)*. Lösungen von Mononatriumbenzylpenicilloat (Präparat III) und von BPO-EACA [10] wurden in einem thermostatisierten 1-dm-Polarimeterrohr inkubiert und im Polarimeter 141 (PERKIN-ELMER & Co., Überlingen) gemessen (Fig. 3 und 4). Ein Teil der Lösung wurde jeweils in einem separaten, verschlossenen Gefäss bei Inkubationstemperatur aufbewahrt und diente zur Überprüfung des Penamaldatwertes und der Penamaldatstabilität während der Dauer der optischen Prüfung. PW₀- und PS₁₀-Werte blieben bei allen Versuchen annähernd konstant. In der Äthylendiamintetraacetat-Lösung und in den alkalischen Lösungen des

Natriumpenicilloats wurde in den ersten Stunden ein Abfall des Penamaldatwertes von 5–10% festgestellt, der möglicherweise signifikant ist und auf eine Nebenreaktion hindeuten könnte.

7) *Einfluss von Benzylpenicillin auf Penamaldatwert und Penamaldatstabilität in Lösungen von Natriumbenzylpenicilloat und BPO-EACA.* Eine 0,145 mM Lösung von Mononatriumbenzylpenicilloat in 0,05M Phosphatpuffer pH 7,4 und eine ebensolche 0,0613 mM Lösung von BPO-EACA wurden im Volumenverhältnis 1:1 mit verschiedenen konzentrierten Lösungen von Benzylpenicillin-Kaliumsalz in 0,05M Phosphatpuffer gemischt, worauf Penamaldatwert PW_0 und Penamaldatstabilität PS_{10} wie üblich bestimmt wurden (Fig. 5).

Diese Arbeit wurde teilweise unterstützt durch Beiträge des SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG. Herrn Dr. K. VOGLER (F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co., AG, Basel) verdanken wir Elementaranalysen der Präparate. Die NMR-Spektren verdanken wir dem Institut für Organische Chemie der Universität Bern. Herrn W. OESCH danken wir für technische Mitarbeit.

SUMMARY

The molar penamaldate value of benzylpenicilloic acid and the influence of large amounts of benzylpenicillin on the estimation of penamaldate values and penamaldate stabilities of benzylpenicilloic acid and ϵ -(benzylpenicilloyl- α -amido)-caproic acid have been determined. The molar penamaldate values of purified benzylpenicilloate and of benzylpenicillin hydrolyzed in alkali were equal, indicating that benzylpenicillin upon alkaline hydrolysis is converted to penicilloic acid exclusively, with no side reactions occurring to any considerable degree. Benzylpenicilloate mutarotates in neutral solution as well as in alkali, the reaction being unaffected by metal ion complexing with ethylene diamine tetraacetate. ϵ -(Benzylpenicilloyl- α -amido)-caproate also mutarotates in alkali; no mutarotation occurs however in neutral solution. Different mechanisms of epimerisation have therefore to be considered for the mutarotations of penicilloates and of α -amides of penicilloic acid respectively.

Abteilung für Allergie und Immunologie
Dermatologische Klinik
Inselspital, Bern

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] R. B. WOODWARD, A. NEUBERGER & N. R. TRENNER in «The Chemistry of Penicillin», edit. by H. T. CLARKE, R. JOHNSON & R. ROBINSON, p. 415 ff., Princeton Univ. Press, Princeton N. J. 1949.
- [2] B. B. LEVINE, J. med. pharmaceut. Chemistry *5*, 1025 (1962).
- [3] C. H. SCHNEIDER & A. L. DE WECK, Helv. *49*, 1689 (1966).
- [4] C. H. SCHNEIDER & A. L. DE WECK, Immunochemistry *4*, 331 (1967).
- [5] R. MOZINGO & K. FOLKERS, in «The Chemistry of Penicillin», edit. by H. T. CLARKE, J. R. JOHNSON & R. ROBINSON, p. 535 ff., Princeton Univ. Press, Princeton N. J. 1949.
- [6] H. W. FLOREY, E. CHAIN, N. G. HEATLEY, M. A. JENNINGS, A. G. SANDERS, E. P. ABRAHAM & M. E. FLOREY, «Antibiotics», Vol. II, p. 839 ff., Oxford Univ. Press, London 1949.
- [7] A. NEUBERGER, Adv. Prot. Chemistry *4*, 297 (1948).
- [8] M. P. SCHUBERT, J. biol. Chemistry *114*, 341 (1936).
- [9] A. H. COOK & I. M. HEILBORN, in «The Chemistry of Penicillin», edit. by H. T. CLARKE, J. R. JOHNSON & R. ROBINSON, p. 921 ff., Princeton Univ. Press, Princeton N. J. 1949.
- [10] C. H. SCHNEIDER & A. L. DE WECK, Helv. *49*, 1695 (1966).