

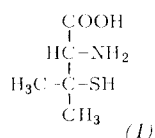
D-Penicillamin – Herstellung und Eigenschaften

Von Wolfgang M. Weigert, Heribert Offermanns und Paul Scherberich^[*]

Die unnatürliche Aminosäure D-Penicillamin, ursprünglich nur als Schlüsselsubstanz bei der Strukturaufklärung und Totalsynthese der Penicilline von Interesse, gewinnt zunehmend als Therapeutikum, insbesondere zur Langzeitbehandlung der Rheumatoiden Arthritis, an Bedeutung. D-Penicillamin, das früher ausschließlich halbsynthetisch durch Abbau von Penicillinen technisch zugänglich war, kann nach einem neuen Verfahren ausgehend von Isobutyraldehyd, Schwefel, Ammoniak und Cyanwasserstoff über das Racemat und dessen selektive Spaltung vollsynthetisch hergestellt werden. Aus dem biochemischen Verhalten von D-Penicillamin – Chelatbildung mit Schwermetall-Ionen, Spaltung von Disulfidbrücken und Kondensation mit Aldehydgruppen – lassen sich Beziehungen zu seiner therapeutischen Wirkung herleiten.

1. Einleitung

Bei ihren Untersuchungen zur Strukturaufklärung der Penicilline fanden Abraham et al.^[1, 2] („Oxford-Gruppe“) 1943 ein allen Penicillinen gemeinsames Abbauprodukt, das sie in Unkenntnis der genauen Struktur wegen einer im Molekül vorhandenen Aminogruppe „Penicillamin“ nannten. Die von Cornforth^[1] postulierte Struktur eines β,β -Dimethylcysteins (1) konnte später von der „Oxford-Gruppe“ durch Folgereaktionen und Synthese bewiesen werden^[11].



„Penicillamin“ dreht im alkalischen Medium die Schwingungsebene des linear polarisierten Lichtes nach links und gehört hinsichtlich der absoluten Konfiguration der D-Reihe der Aminosäuren an. Die exakte chemische Bezeichnung für „Penicillamin“ lautet: D-(–)-2-Amino-3-mercapto-3-methylbuttersäure. Gebräuchliche Synonyma sind: D-(–)- β,β -Dimethylcystein, D-(–)- β -Mercaptovalin und D-(–)-2-Amino-3-mercaptoisovaleriansäure. Im folgenden wird ausschließlich die Bezeichnung D-Penicillamin verwendet.

D-Penicillamin (1) war zunächst nur als Schlüsselsubstanz zur Strukturaufklärung der Penicilline und als zentraler Baustein bei deren Totalsynthese von Interesse^[3, 4]. 1956 wurde D-Penicillamin, welches selbst keine antibiotische Aktivität besitzt, erstmals als Chelatbildner zur beschleunigten Elimination physiologischer Schwermetalle in unphysiologisch hohen Konzentrationen (Therapie der Wilsonschen Krankheit) und unphysiologischer Schwermetalle (Antidot bei Schwermetallvergiftungen) in die Therapie eingeführt^[5, 6].

D-Penicillamin gewinnt als Basistherapeutikum der Rheumatoiden Arthritis (chronische Polyarthritis) zunehmend an Bedeutung^[7–9]. Weitere neue Indikationen für D-Penicillamin, z. B. chronisch-aggressive Hepatitis^[10–13] und multiple Sklerose^[14], zeichnen sich ab.

Therapeutische Bedeutung besitzt heute nur reines D-Penicillamin, da das Racemat und das L-Isomere toxisch sind. Weitere Unterschiede zwischen D- und L-Penicillamin beste-

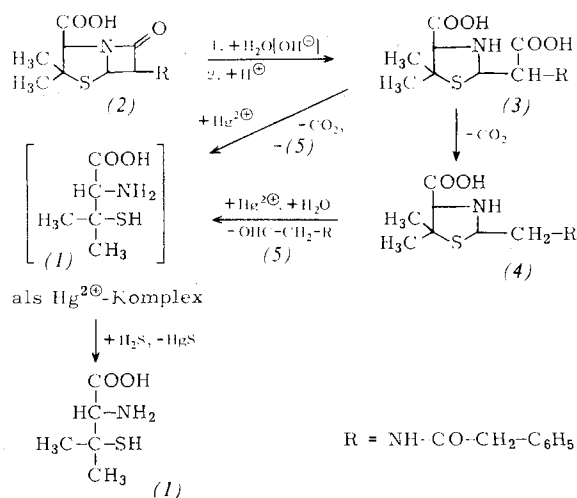
hen in der antagonistischen Wirkung gegenüber Vitamin B₆ und im molekularbiologischen Verhalten (siehe dazu Abschnitt 4.3).

2. Herstellung von D-Penicillamin

D-Penicillamin kann entweder halbsynthetisch durch Abbau von Penicillinen oder vollsynthetisch über das Racemat hergestellt werden. Die Herstellung aus Penicillinen konnte in den letzten Jahren wesentlich verbessert werden^[15]. Ein neues Verfahren zur Herstellung von vollsynthetischem D-Penicillamin über das Racemat und dessen Spaltung („Asinger-Verfahren“) wird ebenfalls technisch durchgeführt. Nach beiden Methoden gewinnt man hochreines D-Penicillamin, das als Wirksubstanz für Arzneimittel^[**] verwendet wird.

2.1. Herstellung von D-Penicillamin durch Penicillinabbau

Beim Abbau von Penicillinen [z. B. Penicillin G (2), Schema 1] werden sowohl der β -Lactamring als auch der Thiazolidinring gesprengt. Die Öffnung des β -Lactamringes gelingt am besten in Gegenwart von Laugen; die entstandene Penicillosäure (3) wird zur Penillosäure (4) decarboxyliert. Als 2-monosubstituierte Thiazolidin-4-carbonsäure ist (4) relativ hy-



Schema 1

[*] Dr. W. M. Weigert, Dr. H. Offermanns und Dr. P. Scherberich
Degussa
6 Frankfurt/Main 1, Postfach 2644

[**] D-Penicillamin (halbsynthetisch): Metacaptase® (Knoll AG, Ludwigshafen/Heyl & Co., Berlin); D-Penicillamin (vollsynthetisch): Trolovol® (Chemiewerk Homburg, Frankfurt/M./Bayer AG, Leverkusen).

drolysebeständig. Zur Spaltung in D-Penicillamin (1) und den Aldehyd (5) ist es deshalb notwendig, eines oder auch beide Spaltprodukte aus dem Hydrolysegleichgewicht zu entfernen.

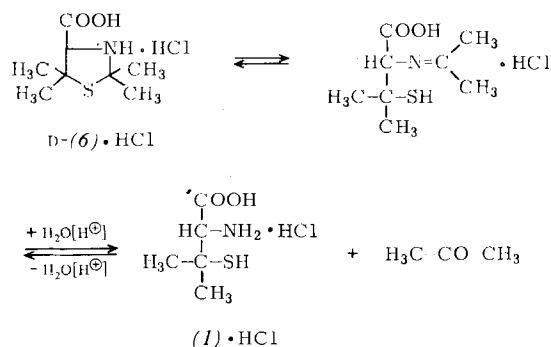
Vorzugsweise wird (1) in schwerlösliche 1:1- oder 2:1-D-Penicillamin-Quecksilber(II)-Komplexe übergeführt und vom gutlöslichen (5) abgetrennt^[15, 16] (zur Struktur der Komplexe siehe Abschnitt 4.1).

Aus den Hg-Komplexen wird (1) mit Schwefelwasserstoff in Freiheit gesetzt, wobei Quecksilbersulfid anfällt. Man kann (3) auch direkt mit Quecksilber(II)-salzen spalten. Bei dieser Verfahrensvariante laufen Decarboxylierung und Thiazolidinringsspaltung gleichzeitig ab.

Nach einem anderen Verfahren wird der D-Penicillamin-Quecksilber-1:1-Komplex durch Zusatz von Säuren in Lösung gehalten und der Aldehyd (5) nach Umsetzung mit einem Carbonylreagens, z. B. Hydrazin oder Hydroxylamin, durch Extraktion mit einem inerten, mit Wasser nicht mischbaren organischen Lösungsmittel abgetrennt^[17].

Zur Vermeidung der teuren und toxischen Quecksilbersalze wurde der Einsatz anderer Schwermetallsalze empfohlen^[18]. Ohne Zusatz von Schwermetallsalzen können (3) und (4) mit 5,5-Dimethyl-1,3-cyclohexandion (Dimedon)^[19] oder 4-Hydroxycumarin^[20] in D-Penicillamin übergeführt werden.

Zur Reinigung wird (1) am besten mit Aceton in das Hydrogenchlorid der D-2,2,5,5-Tetramethylthiazolidin-4-carbonsäure (6) überführt. (6) wird wegen der leichten Rückspaltbarkeit in (1)^[30, 31] und Aceton auch als „D-Penicillamin-Aceton-Addukt“ oder „Isopropyliden-D-penicillamin“ bezeichnet.



2.2. Herstellung von D-Penicillamin über das Racemat

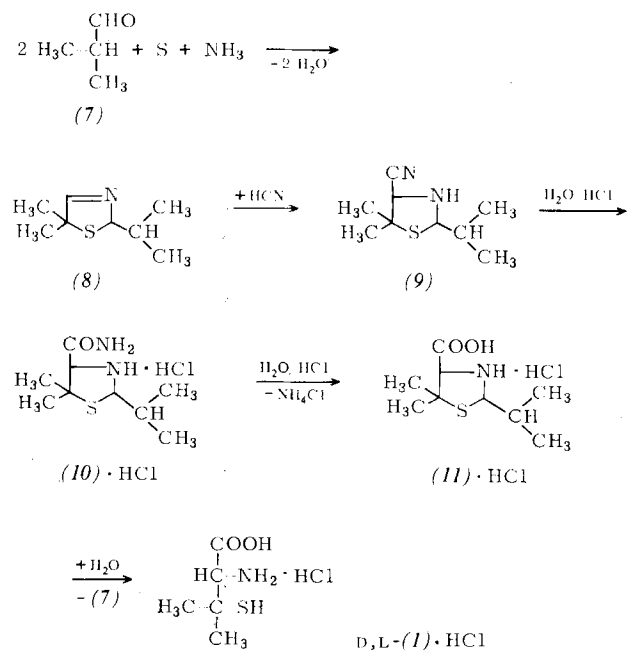
Das neue, vollsynthetische Herstellungsverfahren für D,L-Penicillamin, ausgehend von Isobutyraldehyd, Schwefel, Ammoniak und Cyanwasserstoff über 3-Thiazoline, und die neue Methode zur Gewinnung von reinem D-Penicillamin aus dem Racemat ohne Zwangsangriff von L-Isomerem basieren auf grundlegenden Arbeiten von Asinger et al.^[21–24] und wurden von Degussa/Chemiewerk Homburg^[*] zur technischen Reife entwickelt^[25]. Außer diesem Verfahren, das eine Alternative zur Penicillinhydrolyse darstellt, gibt es noch mehrere andere Methoden zur Herstellung von D,L-Penicillamin und zu dessen Racematspaltung, die vor allem im Rahmen der großangelegten Arbeiten zur Strukturaufklärung und Totalsynthese der Penicilline während des 2. Weltkrieges erarbeitet wurden. Auf eine Beschreibung dieser Methoden wird verzichtet, da hierüber eine umfangreiche Übersichtsarbeit^[1] vorliegt. Erörtert werden hingegen zwei neuere Synthesewege, die von Isocyanes-

[*] Degussa/Chemiewerk Homburg (Geschäftsbereich Pharma der Degussa).

sigsäureester ausgehen bzw. sich einer modifizierten Strecker-Synthese bedienen.

2.2.1. Synthese von D,L-Penicillamin über 3-Thiazoline

Bei der gemeinsamen Einwirkung von Schwefel und Ammoniak auf Isobutyraldehyd (7) wird 2-Isopropyl-5,5-dimethyl-3-thiazolin (8) in ca. 80% Ausbeute erhalten, wenn man das entstehende Wasser azeotrop entfernt (siehe Schema 2). Als Schleppmittel können z. B. Benzol, Toluol, Cyclohexan, Chloroform oder vorteilhafterweise überschüssiger Isobutyraldehyd selbst dienen^[26]. Das 3-Thiazolin (8) wird durch Rektifikation gereinigt (Kp=68–70°C/12 Torr).

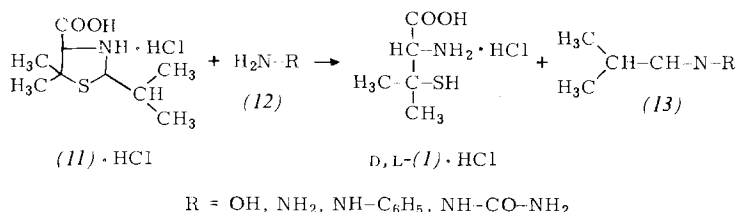


Schema 2

An die Azomethingruppe von (8) wird wasserfreier Cyanwasserstoff in nahezu quantitativer Ausbeute unter Bildung von 2-Isopropyl-5,5-dimethylthiazolidin-4-carbonitril (9) addiert. Der Cyanwasserstoff kann flüssig oder gasförmig eingesetzt oder aber unmittelbar im Reaktionsgemisch, z. B. aus Natriumcyanid und Säuren, erzeugt werden. Führt man die HCN-Addition in einem inerten organischen Lösungsmittel wie z. B. Diäthyläther oder Petroläther durch, läßt sich (9) durch Abkühlen des Reaktionsgemisches in kristalliner Form (Fp ≈ 30°C) gewinnen. Man kann auch auf ein Lösungsmittel verzichten und das rohe Nitril (9) unmittelbar weiterverarbeiten.

Zur Umwandlung von (9) in D,L-Penicillamin müssen die Nitrilgruppe zur Carboxygruppe verseift und der Thiazolidinring gespalten^[27] werden. Dies erfolgt vorzugsweise in mehreren Stufen: (9) wird z. B. in Methanol gelöst und in Gegenwart der für die Carbonsäureamidbildung notwendigen Menge Wasser mit Chlorwasserstoff bei 50–65°C begast. Hierbei wird 2-Isopropyl-5,5-dimethylthiazolidin-4-carbonsäureamid-Hydrogenchlorid (10)·HCl in kristalliner Form erhalten. (10)·HCl wird anschließend mit 10- bis 20proz. Salzsäure in der Siedehitze zu 2-Isopropyl-5,5-dimethylthiazolidin-4-carbonsäure-Hydrogenchlorid (11)·HCl verseift^[28]. Um das Arbeiten mit gasförmigem Chlorwasserstoff zu vermeiden, kann (9) auch mit mindestens 30proz. wäßriger Salzsäure bei 40 bis 70°C in (10)·HCl übergeführt werden^[29].

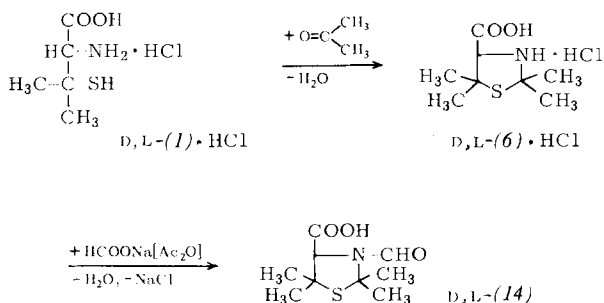
Als 2-monosubstituiertes Thiazolidinderivat ist (11)·HCl sehr beständig gegenüber hydrolytischer Ringspaltung^[30, 31]. Dennoch gelingt es, (11)·HCl quantitativ in D,L-Penicillamin-Hydrogenchlorid D,L-(1)·HCl überzuführen, wenn man den entstehenden Isobutyraldehyd (7) mit Wasserdampf azeotrop aus dem Hydrolysegleichgewicht entfernt^[27]. Bei einer Variante dieses Verfahrens^[32] wird der Isobutyraldehyd mit einem Carbonylreagens (12), z. B. Hydroxylamin, Hydrazin, Phenylhydrazin oder Semicarbazid, in wäßrigem Medium in die Derivate (13) übergeführt, welche durch Extraktion mit einem inerten, mit Wasser nicht mischbaren organischen Lösungsmittel, z. B. Toluol oder Chloroform, abgetrennt werden.



Nach diesen Methoden zur Ringspaltung von (11)·HCl erhält man wäßrige Lösungen von D,L-Penicillamin-Hydrogenchlorid, die aus der Nitrilverseifung stammendes Ammoniumchlorid enthalten.

Es ist nicht erforderlich, das D,L-Penicillamin oder dessen Hydrogenchlorid in Substanz zu isolieren. Vorteilhafterweise setzt man D,L-Penicillamin-Hydrogenchlorid nach Verdampfen des Wassers in einem mit Wasser nicht mischbaren organischen Lösungsmittel, z. B. Toluol, mit Aceton um. Man erhält hierbei D,L-2,2,5,5-Tetramethylthiazolidin-4-carbonsäure-Hydrogenchlorid D,L-(6)·HCl in kristalliner Form im Gemisch mit Ammoniumchlorid. Hieraus kann D,L-Penicillamin in reiner Form gewonnen oder in beliebige, zur Racematspaltung geeignete Derivate übergeführt werden.

Vorteilhaft ist es, das D,L-(6)·HCl nach einem neuen Verfahren^[33] mit Natriumformiat in Gegenwart von Essigsäureanhydrid in einem mit Wasser nicht mischbaren organischen Lösungsmittel in die N-Formylverbindung D,L-(14) überzuführen und zugleich von den anorganischen Salzen zu befreien. Die hierbei in hoher Ausbeute und ausgezeichneter Reinheit erhaltene D,L-3-Formyl-2,2,5,5-tetramethylthiazolidin-4-carbonsäure D,L-(14) ist für die Enantiomerentrennung besonders gut geeignet (siehe Abschnitt 2.2.3).

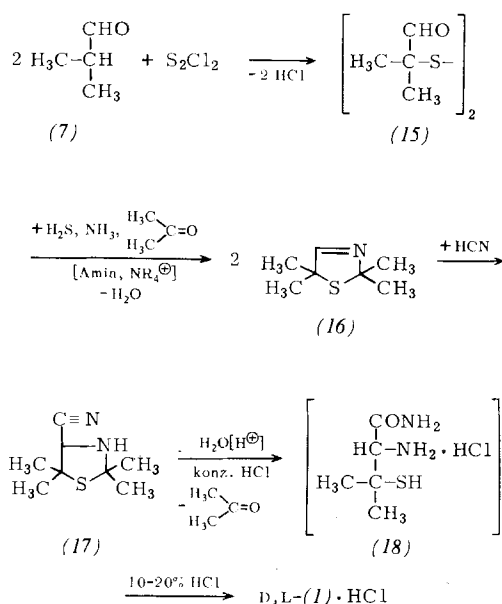


Nach einer Variante dieses Verfahrens kann D,L-Penicillamin auch über 2,2-Dialkyl-5,5-dimethyl-3-thiazoline, vorzugsweise 2,2,5,5-Tetramethyl-3-thiazolin (16), hergestellt werden (Schema 3). (16) ist nicht wie (8) einstufig aus Isobutyraldehyd (7) zugänglich. Zur Darstellung von (16) setzt man Isobutyraldehyd zunächst mit Dischwefeldichlorid zu 2,2'-Dithiodiiso-

butyraldehyd (15) um^[34]. Durch gleichzeitiges Begasen eines Gemisches von (15) und Aceton mit Schwefelwasserstoff und Ammoniak erhält man (16)^[35], wobei zufriedenstellende Ausbeuten erzielt werden, wenn man in Gegenwart von Aminen und Ammoniumsalzen arbeitet^[36].

Das aus (16) durch HCN-Addition gewonnene Nitril (17) kann über die nicht isolierte Zwischenstufe (18) glatt zu D,L-Penicillamin·HCl hydrolysiert werden^[37].

Bei diesem Verfahren erübrigt sich zur Durchführung der Ringspaltung eine Wasserdampfdestillation oder der Einsatz von Carbonylreagentien, da (17) als 2,2-disubstituiertes Thiazolidinderivat hydrolytisch leicht spaltbar ist^[31]. Die Versei-



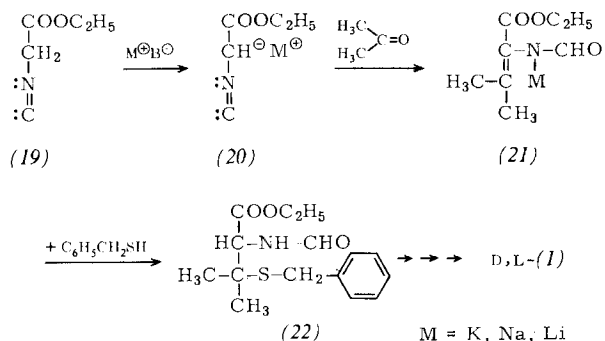
Schema 3

fung von (17) zu D,L-(1)·HCl ist wesentlich vorteilhafter als der früher beschriebene Umweg über die Ester der Tetramethylthiazolidin-4-carbonsäure^[21]. Die leichtere Ringspaltbarkeit von (17) wiegt aber den Nachteil der aufwendigeren Herstellung des Thiazolins (16) nicht auf.

2.2.2. Synthese von D,L-Penicillamin nach anderen neueren Methoden

Eine allgemeine Synthese für S-Benzyl-N-formylcysteine, die auch zur Herstellung von D,L-S-Benzyl-N-formylpenicillamin geeignet ist, stammt von Schöllkopf und Hoppe^[38]. Sie geht von Isocyanessigsäureestern aus (siehe Schema 4).

Metalliert man Isocyanessigsäureäthylester (19) mit Kalium-tert.-butanolat, Natriumhydrid oder n-Butyllithium in Tetrahydrofuran und setzt den metallierten Ester (20) mit Aceton um, so erhält man den metallierten α-Formylaminoacrylsäureester (21). Durch Umsetzung von (21) mit Thio-benzylalkohol und anschließende Hydrolyse mit Kalilauge wird der Ester (22) erhalten. (22) kann selektiv zu D,L-S-Ben-

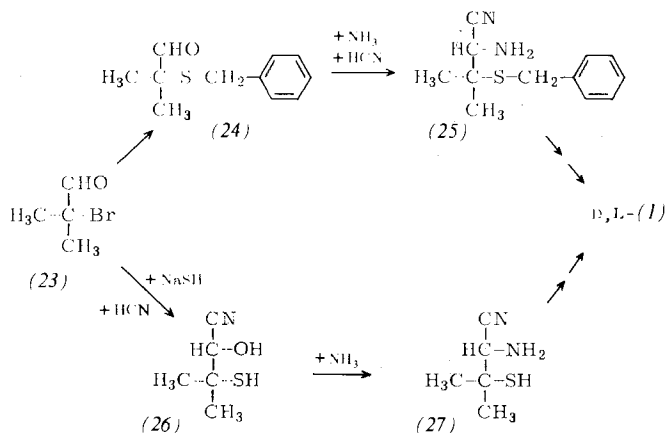


Schema 4

zyl-*N*-formyl-penicillamin hydrolysiert oder aber durch hydrolytische Abspaltung der Formylgruppe und Debenzylierung in D,L-Penicillamin übergeführt werden.

D,L-Penicillamin kann auch nach dem Prinzip der Strecker-Synthese hergestellt werden^[39] (vgl. Schema 5). Hierbei wird α -Bromisobutyraldehyd (23) mit dem Natriumsalz des Thio-benzylalkohols zu α -Benzylthioisobutyraldehyd (24) umgesetzt; (24) reagiert mit Cyanwasserstoff und Ammoniak zum Nitril (25), welches in mäßigen Ausbeuten durch Hydrolyse und Entbenzylierung in D,L-Penicillamin überführt werden kann.

α -Hydroxy- β -mercapto-isovaleronitril (26) kann nach Ugi und Böttner^[40] aus α -Bromisobutyraldehyd (23) durch Umsetzung mit Natriumhydrogensulfid und Cyanwasserstoff erhalten werden (vgl. Schema 5). (26) wird mit Ammoniak in das Nitril (27) überführt, welches nach Angaben von Böttner^[41] zu D,L-Penicillamin verseift werden kann.



Schema 5

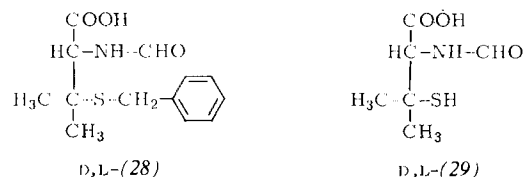
Auch bei den in diesem Abschnitt beschriebenen Methoden isoliert man meist nicht das reine D,L-Penicillamin, sondern ein zur Racematspaltung geeignetes Derivat.

2.2.3. Gewinnung von D-Penicillamin aus dem Racemat

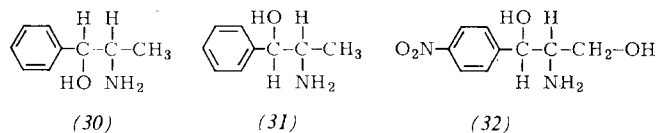
Wegen der sehr unterschiedlichen biologischen Eigenschaften (siehe dazu Abschnitte 1 und 4.3) der optischen Antipoden des Penicillamins ist es notwendig, das unerwünschte L-Isomere quantitativ abzutrennen.

Die Racematspaltung von D,L-Penicillamin gelingt nach der klassischen Methode der Überführung der optischen Antipoden in Diastereomere. Hierbei werden geeignete Derivate des D,L-Penicillamins mit Alkaloiden oder anderen optisch aktiven Hilfsbasen in die diastereomeren Salze überführt, die durch fraktionierende Kristallisation getrennt werden. Zur Racemat-

spaltung werden die *N*-Acylderivate des D,L-Penicillamins und des D,L-S-Benzylpenicillamins sowie die *N*-Acylderivate der Kondensationsprodukte des D,L-Penicillamins mit Carbonylverbindungen, insbesondere D,L-3-Formyl-2,2,5,5-tetramethylthiazolidin-4-carbonsäure D,L-(14), eingesetzt. Die erste Racematspaltung gelang der bereits erwähnten „Oxford-Gruppe“^[42], die D,L-S-Benzyl-*N*-formylpenicillamin D,L-(28) mit dem Alkaloid Brucin spaltete. Auch D,L-*N*-Formylpenicillamin D,L-(29) und D,L-(14) lassen sich mit Brucin spalten^[43, 44].



Weitere zur Racematspaltung von D,L-Penicillamin verwendete Hilfsbasen sind Thebain^[45], Chinidin^[46], Cinchonidin^[46], (–)-Ephedrin^[44, 46] und (+)-Pseudoephedrin^[46]. Im Hinblick auf die notwendige quantitative Abtrennung des therapeutisch unerwünschten L-Penicillamins eignen sich die oben genannten optisch aktiven Hilfsbasen nur bedingt zur Gewinnung von reinem D-Penicillamin, da in einigen Fällen die Salze der L-Penicillaminderivate zuerst aus den Lösungen auskristallisieren. Dies ist jedoch von Nachteil, da prinzipiell



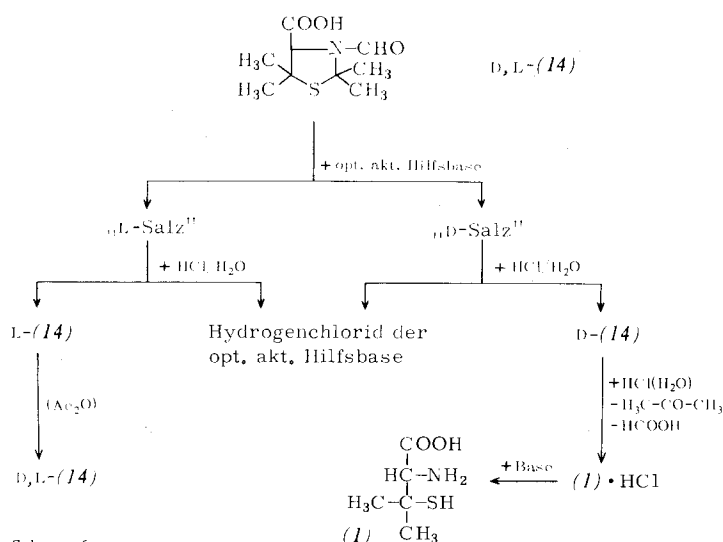
das zuerst auskristallisierende Diastereomere die größere Reinheit besitzt^[47, 48]. Die Ausbeuten sind zudem unbefriedigend. Für eine wirtschaftliche Antipodentrennung kommen sehr teure und auch toxische Alkaloide kaum in Frage. L-Lysin^[49], (–)-Norephedrin (30)^[50], (–)-Pseudonorephedrin (31)^[51] und D-(–)-threo-2-Amino-1-(*p*-nitrophenyl)-1,3-propandiol (32)^[52] sind als Hilfsbasen besonders geeignet. Diese Basen werden nach Schema 6 vorzugsweise mit D,L-(14) umgesetzt.

In allen Fällen werden die Amin-Salze des D-Penicillaminderivates („D-Salze“) als schwerer lösliche Diastereomere erhalten. In geeigneten Lösungsmitteln sind die Löslichkeitsunterschiede der diastereomeren Salze so groß, daß eine quantitative Abtrennung des L-Penicillaminderivates gelingt. Die „D-Salze“ werden vorzugsweise mit verdünnter Salzsäure in der Kälte in das wasserlösliche Hydrogenchlorid der optischen Hilfsbase und in das in Wasser wenig lösliche D-Penicillaminderivat D-(14) zerlegt. Durch Entformylierung und Ringspaltung erhält man aus D-(14) reines D-Penicillamin·HCl, welches z. B. mit Triäthylamin in einem Alkanol in das freie D-Penicillamin (1) überführt wird.

Das in der Mutterlauge der Racematspaltung befindliche Amin-Salz des L-Penicillaminderivates („L-Salz“) wird ebenfalls mit verdünnter Salzsäure zerlegt. Die hierbei gewonnene L-3-Formyl-2,2,5,5-tetramethylthiazolidin-4-carbonsäure L-(14) wird z. B. in Gegenwart katalytischer Mengen Essigsäureanhydrid in Toluol in der Siedehitze quantitativ racemisiert^[53] und wieder in die Racematspaltung eingesetzt. Es ist somit möglich – abgesehen von verfahrenstechnisch bedingten Verlusten – aus racemischem Penicillaminderivat quantita-

tiv D-Penicillamin zu gewinnen. Die optisch aktiven Hilfsbasen können nahezu quantitativ zurückgewonnen werden.

keine Unterschiede zwischen halb- und vollsynthetischem D-Penicillamin festgestellt.



Schema 6

3. Physikalische Eigenschaften und Analytik des D-Penicillamins

D-Penicillamin (1) ist ein farbloses, kristallines Pulver mit schwachem, für schwefelhaltige Aminosäuren typischem Geruch und charakteristischem Geschmack. Es ist in Wasser relativ leicht, in Alkoholen wenig löslich. Nahezu unlöslich ist es in Äther, Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, aliphatischen und aromatischen Kohlenwasserstoffen.

(1) schmilzt unter Zersetzung bei 202–206 °C (Schmelzpunktapparat FP der Fa. Mettler, Starttemperatur 195 °C, Temperaturanstieg 2 °C/min).

Zur qualitativen Identifizierung von (1) können die Reaktionen mit Jodlösung (Entfärbung durch Oxidation der SH-Gruppe), Ninhydrin (blauviolette Färbung), Phosphorwolframsäure (tiefblaue Färbung) und Aceton (farblosener Niederschlag) herangezogen werden^[54].

Zur quantitativen Bestimmung wird (1) am besten mit Quecksilber(II)-acetatlösung in Gegenwart von Diphenylcarbazon als Indikator titriert^[54]. Spuren von Verunreinigungen, z. B. von D-Penicillamindisulfid (39), lassen sich dünnschicht- oder nach Silylierung gaschromatographisch nachweisen.

In 1 N natronalkalischer Lösung [5 g (1) in 100 ml] dreht (1) die Schwingungsebene des linear polarisierten Lichtes nach links. Reines, als Wirkstoff für Arzneimittel verwendetes (1) sollte eine spezifische Drehung von –62,5 bis –63,5° (Meßtemperatur: 20 °C, Wellenlänge: 589 nm) aufweisen. Nach dem „Asinger-Verfahren“ hergestelltes D-Penicillamin ist in den physikalischen, spektroskopischen und chemischen Daten mit aus Penicillinen gewonnener Substanz völlig identisch. Die stereochemische Äquivalenz von voll- und halbsynthetischem D-Penicillamin konnte durch Präzisionspolarimetrie und ORD-Spektroskopie bewiesen werden. Mit den heute zur Verfügung stehenden physikalischen Methoden lassen sich weder im halbsynthetischen noch im vollsynthetischen D-Penicillamin, das zur Bereitung von Arzneimitteln verwendet wird, Spuren des L-Isomeren nachweisen.

Die optische Reinheit konnte auch durch Untersuchungen an *E.-coli*-Bakterien, deren Wachstum selektiv durch L-Penicillamin gehemmt wird^[55], bestätigt werden^[56]. Hierbei wurden

4. Biochemische Eigenschaften des D-Penicillamins

Die biochemischen Eigenschaften des D-Penicillamins lassen sich im wesentlichen auf drei Reaktionstypen, an denen hauptsächlich die Amino- und die Mercaptogruppe beteiligt sind, zurückführen:

1. Chelatbildung mit Schwermetall-Ionen, 2. Austauschreaktionen mit niedermolekularen und hochmolekularen Disulfiden, 3. Kondensation mit Aldehyden.

4.1. Chelatbildung

D-Penicillamin ist ein starker Komplexbildner und reagiert mit den meisten Schwermetall-Ionen, insbesondere mit S-affinen, unter Chelatbildung^[57]. Während sich D-Penicillamin beispielsweise mit Cu²⁺-Ionen nur zum 1:1-Komplex vom Typ (33) umsetzt^[58–61], bildet es mit anderen Schwermetall-Ionen sowohl 1:1- (33) und (34) als auch 2:1- (35) oder seltener auch 3:1-Komplexe^[59–63].

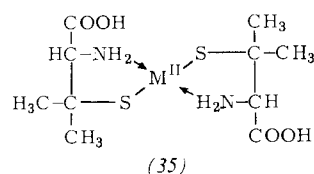
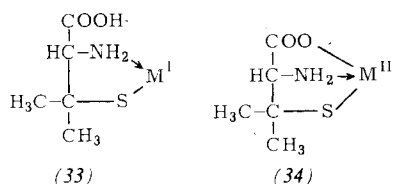
Je nach Anzahl der an der Komplexbildung beteiligten funktionellen Gruppen fungiert D-Penicillamin als zweizähliger (bidentaler) (33) oder dreizähliger (terdentaler) Ligand (34).

Von den physiologischen Metall-Ionen, die bei der Komplexbildung mit D-Penicillamin eine Rolle spielen, sind hauptsächlich Kupfer-, Zink-, Eisen-, Kobalt-, Mangan- und Nickel-Ionen zu nennen.

Die therapeutische Wirkung von D-Penicillamin bei der Wilsonschen Krankheit ist auf die Chelatierung von proteingebundenem Kupfer und dessen rasche Ausscheidung zurückzuführen^[59, 64, 65]. Eine ähnliche Wirkungsweise wird z. T. auch bei der Behandlung der Sklerodermie^[66] und der Schizophrenie^[67, 68] mit D-Penicillamin angenommen.

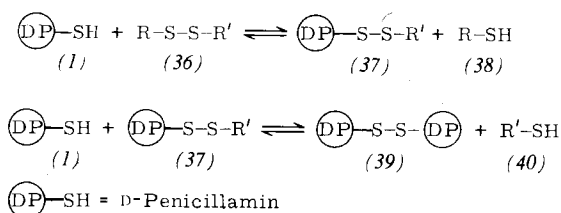
Auf der Chelatbildung beruht auch die Anwendung von D-Penicillamin als Antidot bei Schwermetallvergiftungen, z. B. durch Quecksilber- oder Bleiverbindungen^[69–71].

Durch Elimination von Zink oder anderen Biometallen hervorgerufene unerwünschte Nebeneffekte können durch Substitution vermieden werden^[72].



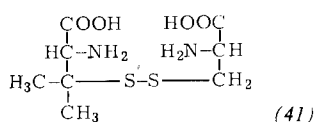
4.2. Austauschreaktionen mit Disulfiden

D-Penicillamin (1) kann im Organismus mit Disulfiden (36) nach Schema 7 reagieren^[73-75]. Hierbei werden das gemischte Disulfid des D-Penicillamins (37) und das freie Thiol (38) gebildet. (37) kann mit D-Penicillamin weiter unter Bildung des D-Penicillamindisulfids (39) und des Thiols (40) reagieren.



Schema 7

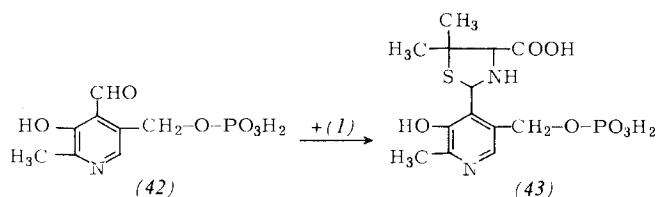
Die Bildung des gemischten Disulfids (41) aus D-Penicillamin und L-Cystein und des symmetrischen Disulfids (39) ist entscheidend für die Behandlung der Cystinurie und der damit verbundenen Bildung von Harnsteinen (Cystinsteinen)^[73, 76]. D-Penicillamindisulfid (39) und D-Penicillamin-L-cysteindisulfid (41) lösen sich weitaus besser als Cystin und werden ausgeschieden.



Ähnliche Austauschreaktionen können auch an über S—S-Brücken intermolekular vernetzten Proteinen stattfinden, z. B. Immunglobulinen, pathologischen Makroglobulinen (Rheumafaktoren), die bei der Pathogenese der Rheumatoiden Arthritis eine wichtige Rolle spielen^[77-80]. Es wird vermutet, daß die Makroglobuline durch Depolymerisation nach Schema 7 ihre pathogenen Eigenschaften verlieren. Hierauf begründet sich u. a. der Einsatz von D-Penicillamin bei der Rheumatoiden Arthritis. Die depolymerisierende Wirkung von D-Penicillamin auf Makroglobuline konnte durch in-vitro-Versuche bestätigt werden^[81, 82].

4.3. Reaktionen mit Aldehyden

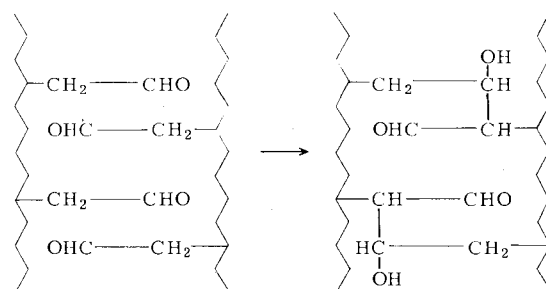
D-Penicillamin reagiert mit der Aldehydgruppe von Pyridoxal-5'-phosphat (42) zum Thiazolidinderivat (43)^[83-85]. Das



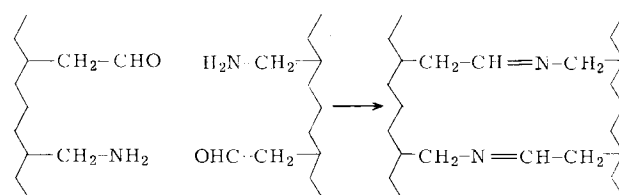
Coenzym (42), welches im Organismus aus Vitamin B₆ entsteht, spielt eine wichtige Rolle beim Aminosäure-Metabolismus, bei der Synthese von Coenzymen sowie bei der Biosynthese von Hormonen wie Adrenalin.

Beide Isomeren des Penicillamins besitzen einen Anti-Vitamin-B₆-Effekt, der beim L-Isomeren jedoch bedeutend stärker ist als bei (1)^[86, 87]. Aus diesem Grunde kommt der Therapie mit stereochemisch hochreinem D-Penicillamin besondere Bedeutung zu. Durch Therapie mit D-Penicillamin hervorgerufene Vitamin-B₆-Mangelsymptome sind relativ selten und können durch gleichzeitige Zufuhr von Vitamin B₆ behoben werden^[88-90]. Im übrigen scheint die Reaktion von D-Penicillamin mit (42) nicht in direktem Zusammenhang mit seiner therapeutischen Wirkung zu stehen.

Die Quervernetzung von in physiologischer Kochsalzlösung löslichen Kollagenfasern (Tropokollagen) zu unlöslichem Präkollagen spielt eine bedeutende Rolle u. a. bei der Sklerodermie^[91-93], der chronisch-aggressiven Hepatitis^[10] und der Rheumatoiden Arthritis^[94]. Die Bildung von unlöslichem Präkollagen wird wahrscheinlich durch enzymatische Oxidation der ε-Aminogruppen von Lysinresten zu Aldehydgruppen eingeleitet. Man nimmt an, daß die Aldehydgruppen durch Aldolkondensation (Schema 8) oder Bildung von Azomethinbrücken (Schema 9) vernetzen^[95-97]. D-Penicillamin reagiert mit den Aldehydgruppen des löslichen Kollagens unter Thiazolidinbildung und verhindert so die Quervernetzung^[58, 97].



Schema 8



Schema 9

Im Gegensatz zu anderen schwefelhaltigen Aminosäuren, z. B. Cystein, ist D-Penicillamin im Organismus relativ stabil, wodurch seine therapeutische Wirkung gut zur Entfaltung kommt. Es wird hauptsächlich durch Oxidation oder durch Austauschreaktionen nach Schema 7 in die Disulfide (39) und (41) überführt und in dieser Form ausgeschieden^[98].

Eingegangen am 23. September 1974 [A 57]

- [1] H. T. Clarke, J. R. Johnson u. R. Robinson: The Chemistry of Penicillin. Princeton University Press, Princeton 1949, S. 455.
- [2] E. P. Abraham, E. Chain, W. Baker u. R. Robinson, *Nature* 151, 107 (1943).
- [3] J. C. Sheehan u. K. H. Henery-Jogan, *J. Amer. Chem. Soc.* 79, 1262 (1957); 81, 3089 (1959).
- [4] O. Süss, *Liebigs Ann. Chem.* 559, 92 (1948); 561, 31 (1948); 564, 55 (1949); 568, 129 (1950); 569, 153 (1950); 571, 201 (1951).
- [5] J. M. Walshe, *Lancet* 1956 I, 25.
- [6] J. M. Walshe, *Amer. J. Med.* 21, 487 (1956).
- [7] Die Behandlung der Rheumatoiden Arthritis mit D-Penicillamin. Symposium, Berlin, Jan. 1973; „Der Rheumatismus“, Band 42, Steinkopff-Verlag, Darmstadt 1974.
- [8] I. A. Jaffe, *Ther. Ber. Bayer* 45, (2), 121 (1973).
- [9] F. M. Andrews, D. N. Golding, A. M. Freemant, J. R. Golding, A. T. Day, A. G. S. Hill, A. V. Camp, E. Lewis-Fanning u. W. H. Lyle, *Lancet* 1973, 275.
- [10] M. Alexander u. M. Kludas, *München. Med. Wochenschr.* 111, 847 (1969).
- [11] J. Lange, K. Schumacher u. H. P. Witscher, *Deut. Med. Wochenschr.* 96, 139 (1971).
- [12] J. Lange, K. Schumacher u. H. P. Witscher, *Med. Welt* 22, 1880 (1971).
- [13] E. Wildhirt, *Therapiewoche* 1973, 3.
- [14] W. Danielczyk, *Therapiewoche* 1973, 4704.
- [15] M. Bock, DOS 2114329 (1971), Heyl & Co.
- [16] F. Ridgway, J. N. Green u. N. M. Cross, *Brit. Pat.* 854 339 (1960), Distillers Co.
- [17] A. R. Restivo, F. A. Dondzila u. H. Murphy, Jr., *US-Pat.* 3 281 461 (1963), Squibb & Sons.
- [18] U. Eberhardt, J. Depner u. J. Schaumann, *DDR-Pat.* 80 921 (1969).
- [19] U. Eberhardt, J. Depner u. J. Schaumann, *DDR-Pat.* 82 718 (1970).
- [20] K. Fucik, *CSSR-Pat.* 127 553 (1966).
- [21] F. Asinger, E.-Ch. Witte, H. Offermanns u. M. Ghyczy: *Jahrbuch 1967, Landesamt für Forschung des Landes NRW*. Westdeutscher Verlag, Köln 1967.
- [22] F. Asinger u. H. Offermanns, *Angew. Chem.* 79, 953 (1967); *Angew. Chem. internat. Edit.* 6, 907 (1967).
- [23] M. Ghyczy, Dissertation, Technische Hochschule Aachen 1968.
- [24] R. Gluzek, Dissertation, Technische Hochschule Aachen 1972.
- [25] *Europachemie* 1972, 290.
- [26] F. Asinger, H. Offermanns u. M. Ghyczy, DOS 1795 299 (1968), Degussa; *US-Pat.* 3 700 683; *Brit. Pat.* 1 272 865.
- [27] F. Asinger, H. Offermanns u. M. Ghyczy, DOS 1795 297 (1968), Degussa; *Brit. Pat.* 1 272 866.
- [28] F. Asinger, H. Offermanns u. M. Ghyczy, DOS 2032 952 (1970); DOS 2123 232 (1971), beide Degussa.
- [29] F. Asinger, H. Offermanns u. R. Gluzek, DOS 2156 601 (1971), Degussa.
- [30] Siehe [1], S. 926.
- [31] R. Riemschneider u. G. A. Hoyer, *Z. Naturforsch.* 18b, 25 (1963).
- [32] DOS 2142 336 (1971), Degussa.
- [33] P. Scherberich u. W.-D. Pfeifer, DOS 2335 990 (1973), Degussa.
- [34] W. D. Niederhauser, *US-Pat.* 2 580 695 (1952), Rohm & Haas.
- [35] F. Asinger, M. Thiel u. H. G. Hauthal, *Liebigs Ann. Chem.* 615, 70 (1958).
- [36] F. Asinger, H. Offermanns, W.-D. Pfeifer, P. Scherberich u. G. Schreyer, DOS 2254 701 (1972), Degussa.
- [37] DOS 2163 810 (1971), Degussa.
- [38] U. Schöllkopf u. D. Hoppe, *Liebigs Ann. Chem.* 1973, 799.
- [39] Siehe [1], S. 466.
- [40] I. Ugi u. E. F. Böttner, *Liebigs Ann. Chem.* 670, 83 (1963).
- [41] E. F. Böttner, *Präp. Pharmaz.* 5, (2), 24 (1969).
- [42] Siehe [1], S. 462.
- [43] Siehe [1], S. 467.
- [44] W. M. Duffin u. S. Wilkinson, *Brit. Pat.* 585 413 (1947), Wellcome.
- [45] Siehe [1], S. 463.
- [46] R. Mozingo, J. F. McPherson u. K. Folkers, *US-Pat.* 2 539 854 (1951), Merck & Co.
- [47] H. D. Jakubke u. H. Jeschkeit: *Aminosäuren, Peptide, Proteine*. Akademie-Verlag, Berlin 1969.
- [48] L. F. Fieser u. M. Fieser: *Organische Chemie*. 2. Aufl. Verlag Chemie, Weinheim 1972.
- [49] R. Fahrenstich, J. Heese u. H. Offermanns, DOS 2304 054 (1973), Degussa.
- [50] F. Asinger, R. Gluzek, W. v. Bebenburg u. H. Offermanns, DOS 2138 122 (1971); DOS 2258 411 (1972), beide Degussa.
- [51] P. Scherberich, DOS 2304 055 (1973), Degussa.
- [52] P. Scherberich, DOS 2362 687 (1973), Degussa.
- [53] W. M. Duffin u. S. Wilkinson, *Brit. Pat.* 585 436 (1947), Wellcome.
- [54] The United States Pharmacopeia, 18. Revision, 1970, S. 476.
- [55] R. M. Blair u. H. V. Aposhian, *Biochim. Biophys. Acta* 30, 214 (1958).
- [56] P. Chandra, *Rheumatismus* 42, 113 (1974).
- [57] C. A. McAuliffe u. S. G. Murray, *Inorg. Chim. Acta* 6, 103 (1972).
- [58] E. Schiffmann u. G. R. Martin, *Arch. Biochem. Biophys.* 138, 226 (1970).
- [59] J. Peisach u. W. E. Blumberg, *Mol. Pharmacol.* 5, 200 (1969).
- [60] M. L. Sharma u. L. D. Tuck, *Amer. Chem. Soc., 158 Meeting 1969, Abstr. Papers, Medi* 59.
- [61] G. Tisman, J. Peisach u. V. Herbert, *J. Clin. Invest.* 50, 93a (1971).
- [62] G. R. Lenz u. A. E. Martell, *Biochemistry* 3, 745 (1964).
- [63] D. A. Doornbos, *Pharm. Weekblad* 103, 1213 (1968).
- [64] M. L. Leu, G. T. Strickland u. S. J. Yeh, *J. Lab. Clin. Med.* 77, 438 (1971).
- [65] J. B. Tu, R. Q. Blackwell u. R. H. Watten, *Metabolism* 14, 653 (1965).
- [66] M. E. Nimni u. L. A. Bavetta, *Science* 150, 905 (1965).
- [67] H. Helmchen, H. Hippus, J. Hoffmann u. H. Selbach, *Nervenarzt* 38, 218 (1967).
- [68] G. A. Nicolson, A. C. Greiner, W. J. G. Mac Farlane u. R. A. Baker, *Lancet* 1966 I, 344.
- [69] A. Goldberg, J. A. Smith u. A. C. Lockhead, *Brit. Med. J.* 1963, 1270.
- [70] O. R. Klimmer, *Arch. Toxikol.* 24, 15 (1968).
- [71] L. Magos u. T. Stoytcher, *Brit. J. Pharmacol.* 35, 121 (1969).
- [72] C. C. Pfeiffer, J. Cawley, V. Iliev u. E. H. Jenney, *Clin. Pharmacol. Ther.* 12, 299 (1971).
- [73] J. C. Crawhall, E. F. Scowen u. R. W. E. Watts, *Brit. Med. J.* 1963, 588.
- [74] G. Gorin, G. Doughty u. R. Gideon, *J. Chem. Soc. B* 1967, 729.
- [75] M. Tabachnick, H. N. Eisen u. B. Levine, *Nature* 174, 701 (1954).
- [76] G. S. Stokes, J. T. Potts, Jr., M. Lotz u. F. C. Bartter, *Clin. Sci.* 35, 467 (1968).
- [77] J. J. Constanzi, C. A. Coltman jr., D. A. Clark, J. J. Tennenbaum u. D. Criscuolo, *Amer. J. Med.* 39, 163 (1965).
- [78] G. Virella, *Experientia* 27, 94 (1971).
- [79] E. Prohaska, W. Schwägerl u. H. Jesserer, *Klin. Wochenschr.* 43, 141 (1965).
- [80] I. A. Jaffe, *Ann. Rheum. Dis.* 22, 71 (1963).
- [81] H. Mathies u. H. Gaedcke, *Klin. Wochenschr.* 45, 849 (1967).
- [82] W. Schneider, *München. Med. Wochenschr.* 10, 531 (1967).
- [83] V. Du Vigneaud, E. J. Kuchinkas u. A. Horvarth, *Arch. Biochem. Biophys.* 69, 130 (1957).
- [84] D. F. Evered, B. M. C. Hargreaves u. Z. H. M. Verjee, *Biochem. J.* 111, 15P (1969).
- [85] G. Hasenbank, F. Körber u. P. Siegmund, *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.* 349, 310 (1968).
- [86] I. A. Jaffe, K. Altman u. P. Merryman, *J. Clin. Invest.* 43, 1869 (1964).
- [87] F. Körber, G. Hasenbank u. P. Siegmund, *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.* 6, 58 (1968).
- [88] E. Costa u. P. Greengard, *Psychopharmacol. Bull.* 7, 30 (1971).
- [89] D. P. Rose, *J. Clin. Pathol.* 25, 17 (1972).
- [90] V. R. Ott u. K. L. Schmidt, *Internist* 15, 328 (1974).
- [91] R. Bluestone, R. Graham u. R. Holloway, *Ann. Rheum. Dis.* 29, 153 (1970).
- [92] A. Böni, K. Pavelka u. M. Kludas, *München. Med. Wochenschr.* 111, 1580 (1969).
- [93] E. D. Harris u. A. Sjoerdsma, *Lancet* 1966 II, 996.
- [94] U. S. Müller, H. Wagner, W. Wirth, G. Junge-Hülsing u. W. H. Hauss, *Arzneim.-Forsch.* 21, 679 (1971).
- [95] E. J. Miller, S. R. Pinnell, G. R. Martin u. E. Schiffmann, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 26, 132 (1967).
- [96] S. R. Pinnell, G. R. Martin u. E. J. Miller, *Science* 161, 475 (1968).
- [97] K. Deshmukh u. M. E. Nimni, *J. Biol. Chem.* 244, 1787 (1969).
- [98] P. Wei u. A. Sass-Kortsack, *Gastroenterology* 58, 288 (1970).
- [99] A. Wacker, P. Chandra u. E. Heyl, *Arzneim.-Forsch.* 16, 825 (1966).
- [100] A. Wacker, E. Heyl u. P. Chandra, *Arzneim.-Forsch.* 21, 971 (1971).
- [101] G. Tisman, V. Herbert, L. T. Go u. L. Brenner, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 139, 355 (1972).