

Verbindung No.	R_1	R_2	R_3	R_4	Summenformel	Smp. ⁵ °C
1	$-\text{C}_2\text{H}_5$	$-\text{H}$	$-\text{H}$	$-\text{H}$	$\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_3 \cdot \text{HCl}$	184–186
2	$-\text{C}_2\text{H}_5$	$-\text{H}$	$-4'-\text{Cl}$	$-\text{H}$	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{Cl}$	77–78
3	$-\text{CH}_3$	$-\text{H}$	$-4'-\text{Cl}$	$-\text{H}$	$\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{Cl}$	103–104
4	$-\text{C}_2\text{H}_5$	$-\text{CONH}_2$	$4' \text{ Cl}$	$-5-\text{NO}_2$	$\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_3\text{Cl}$	161–163
5	$-\text{C}_2\text{H}_5$	$-\text{H}$	H	$-5-\text{NO}_2$	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_2$	87–89
6	$-\text{C}_2\text{H}_5$	$-\text{H}$	$-\text{H}$	$-6-\text{NO}_2$	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_2$	96–98
7	$-\text{CH}_3$	$-\text{H}$	$-4'-\text{Cl}$	$-5-\text{NO}_2$	$\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}_2\text{Cl} \cdot \text{HCl}$	230–232
8	$-\text{C}_2\text{H}_5$	$-\text{H}$	$-4'-\text{Cl}$	$-5-\text{NO}_2$	$\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{O}_2\text{Cl}$	75–76
9	$-\text{C}_2\text{H}_5$	$-\text{H}$	$-4'-\text{Cl}$	$-6-\text{NO}_2$	$\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{O}_2\text{Cl}$	96–98
10	$-\text{C}_2\text{H}_5$	$-\text{H}$	$-3'-\text{OCH}_3$	$-5-\text{NO}_2$	$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_3 \cdot \text{HCl}$	186–189
11	$-\text{C}_2\text{H}_5$	$-\text{H}$	$-3',4'-(\text{OCH}_3)_2$	$-5-\text{NO}_2$	$\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_4 \cdot \text{HCl}$	193–194
12	$-\text{C}_2\text{H}_5$	$-\text{H}$	$4' \text{ CH}_3$	$-5-\text{NO}_2$	$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_2 \cdot \text{HCl}$	216–218
13	$-\text{C}_2\text{H}_5$	$-\text{H}$	$-4'-\text{OCH}_3$	$-5-\text{NO}_2$	$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_3 \cdot \text{HCl}$	197–199
14	$-\text{C}_2\text{H}_5$	$-\text{H}$	$-4'-\text{OC}_2\text{H}_5$	$-5-\text{NO}_2$	$\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_3 \cdot \text{HCl}$	162–164

⁵ Schmelzpunkte der freien Basen oder der Hydrochloride, wie aus der Summenformel hervorgeht.

benzimidazol(5) synthetisiert werden. Diese Verbindung erweist sich als identisch mit der Base B aus der Alkylierung von III ($R_3 = \text{H}$, $R_4 = 5[6]-\text{NO}_2$). Damit ist für die Base A die Formel des 6-Nitro-Derivates (6) und für Base B diejenige der 5-Nitro-Verbindung (5) sichergestellt.

In der Tabelle ist eine kleine Auswahl der hergestellten Verbindungen aufgeführt. Für die Synthese von Derivaten ohne Substituenten im Phenylenteil des Benzimidazolkernes (1, 2, 3) eignet sich der Weg a), für 5-Nitro-Verbindungen der Weg b). Für 6-Nitro-Derivate muss via a) verfahren und aus dem erhaltenen Isomerenmisch aus dem 6-Nitro-benzimidazol-Derivat mit geeigneten Methoden daraus isoliert werden. Über Struktur und Einheitlichkeit des isolierten Isomeren gibt das Verhältnis der Extinktionen der UV.-Maxima bei 240 m μ und bei 310 m μ Auskunft. Für 6-Nitro-Derivate ist das Verhältnis von etwa 1,47, für 5-Nitro-Verbindungen dagegen der viel höhere Wert von etwa 2,80 typisch. Das Amid 4 wird auf dem Weg b) durch Reaktion von IV ($R_1 = \text{C}_2\text{H}_5$, $R_1 = \text{NO}_2$) mit dem aus *p*-Chlor-phenylcyanacetamid zugänglichen Iminoäther V ($R_2 = \text{CONH}_2$, $R_3 = \text{Cl}$) erhalten.

Die Mehrzahl der bis heute bekannten stark wirkenden Analgetika besitzen noch typische Strukturelemente des Morphinmoleküls. Ihre pharmakologische Wirksamkeit ist damit in Zusammenhang gebracht worden⁶. Sogar beim strukturell bereits weiter entfernten Methadon diskutieren einige Autoren noch eine gewisse stereochemische Verwandtschaft⁷. Im Gegensatz dazu lassen sich von der neugefundenen Serie der 1-(β -Dialkylamino-äthyl)-2-benzyl-5-nitro-benzimidazole kaum mehr Parallelen zum Morphin konstruieren.

A. HUNGER, J. KEBRLE, A. ROSSI,
und K. HOFFMANN

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft,
Pharmazeutische Abteilung, Basel, 26. August 1957.

Summary

The syntheses of 1-(β -dialkylamino-ethyl)-2-benzyl-5-nitro-benzimidazoles, a new series of powerful analgesics, are described.

⁶ O. SCHAUMANN, Arch. exp. Path. Pharmacol. 196, 109 (1940).

⁷ Vgl. zum Beispiel die zusammenfassende Darstellung von J. LEE in C. M. SUTER, Medicinal Chemistry (John Wiley & Sons, Inc., New York 1951), Vol. I, p. 438.

Über Benzimidazolderivate mit starker analgetischer Wirkung

Benzimidazol und verschiedene seiner Derivate besitzen spezifische Wirkungen auf das Zentralnervensystem und führen zu einer Beeinträchtigung der intraspinalen Erregungsübertragung, als deren Folge Lähmungen der Skelettmuskulatur auftreten (GOODMAN *et al.*¹, BERGER², DOMINO *et al.*³). Anders substituierte Verbindungen haben konvulsive Eigenschaften gezeigt (DOMINO *et al.*³). Dagegen sind bisher keine Benzimidazole mit ausgesprochener analgetischer Wirkung beschrieben worden. Bei der pharmakologischen Untersuchung basisch substituierter Benzimidazole fanden wir neuerdings Verbindungen, die nicht nur qualitativ dem Morphin und ähnlich wirkenden synthetischen Substanzen nahestehen, sondern von denen einzelne die wirksamsten bisher bekannten Analgetika in quantitativer Hinsicht übertreffen. Die Chemie dieser von HOFFMANN und Mitarbeitern synthetisierten Verbindungen ist in der voranstehenden Mitteilung beschrieben⁴.

Die analgetische Wirkung auf Wärmereiz wurde mit der von uns angegebenen Methode an der Maus untersucht (GROSS⁵). Weiterhin wurde an der Ratte die Reaktion auf Druckschmerz quantitativ bestimmt (GREEN und YOUNG⁶) und am Kaninchen die Aufhebung der durch Kneifen am Ohr hervorgerufenen Abwehrreaktion. Als Vergleichssubstanz diente Morphin. Aus den in Tabelle I zusammengestellten Werten geht hervor, dass Substitution mit einer Nitrogruppe in Stellung 5 zu einer erheblichen Steigerung der analgetischen Wirkung führt, während dies bei Substitution in 6-Stellung nicht der Fall ist (Verbindung Nr. 6 und 9). Derivate mit der Diaethylaminogruppe an der basischen Seitenkette wirken im allgemeinen stärker als die entsprechenden Dimethylaminoverbindungen). Eine weitere Verstärkung der Analgesie ist auch durch Einführung einer Methoxy- oder Äthoxygruppe in para-Stellung des Benzylrestes zu

¹ L. GOODMAN, A. GILMAN und N. HART, Fed. Proc. 2, 80 (1943).

² F. M. BERGER, Pharmacol. Rev. 1, 234 (1949).

³ E. F. DOMINO, K. R. UNNA und J. KERWIN, J. Pharmacol. exp. Ther. 105, 486 (1952).

⁴ A. HUNGER, J. KEBRLE, A. ROSSI und K. HOFFMANN, Exper. 13, 400 (1957).

⁵ F. GROSS, Helv. physiol. Acta 5, C 31 (1947).

⁶ A. F. GREEN und P. A. YOUNG, Brit. J. Pharmacol. 6, 572 (1951).

Tabelle I

Relative analgetische Wirkungsintensität verschiedener Benzimidazolderivate bezogen auf Morphin. Die Zahlen in Klammern geben die absoluten Morphindosen in mg/kg an. Die Zahlen 1-14 betreffen die in der Tabelle der voranstehenden Mitteilung⁴ angeführten Verbindungen.

Verbindung Nr.	Analgesie			
	Maus subkutan	Maus per os	Ratte subkutan	Kaninchen intravenös
Morphin	1 (5)	1 (25)	1 (2)	1 (5)
1	1/10	—	—	1/5
2	1/10	1/2	1/10	1/2
3	0	—	—	—
4	3	5	—	10
5	2	—	—	5
6	1/3	—	—	—
7	1/3	1/2	—	1/2
8	3	5	1	10
9	1/10	—	—	—
10	2	1	—	10
11	10	3	10	10
12	10	10	—	50
13	100	15	30	200
14	1000	1250	1000	1000

erreichen, wobei sich die wirksamsten der bisher dargestellten Präparate ergaben.

Verlauf und Dauer der Wirkung sind bei den Benzimidazolderivaten im allgemeinen kürzer als bei Morphin. Bei täglicher subkutaner Injektion an der Ratte nahm die analgetische Wirkung nach 8-10 Tagen ab, so dass es erforderlich war, die Dosis zu steigern, um einen gleichen Effekt zu erreichen. Diese Gewöhnung entspricht dem bei Anwendung anderer Analgetika an der Ratte und der Maus beobachteten Verhalten.

Das Vergiftungsbild der analgetisch stark wirksamen Verbindungen ist an der Maus durch Verminderung der Atemfrequenz, Erregungssymptome, Schwanzphänomen und in Subletaldosen durch Krampferscheinungen charakterisiert. Die mittleren Letaldosen liegen für die meisten Derivate bei intravenöser Gabe zwischen 25 und 50 mg/kg, lediglich bei den Verbindungen Nr. 12 und 14 geht mit der Zunahme der Wirkungsintensität auch eine Steigerung der Toxizität einher, wobei jedoch bei Verbindung Nr. 13 und 14 die therapeutische Breite grösser ist als bei den weniger wirksamen Verbindungen (Tabelle II). Am Kaninchen und an der Ratte ist das Wirkungsbild neben der Analgesie durch eine zunehmende Sedation bis zu Narkosestadium I/II und Miose charakterisiert. Der Hund zeigt ähnliche Symptome wie das Kaninchen, während bei der Katze Erregungserscheinungen und ebenso wie unter Morphin eine Mydriase auftreten. Mit der wirksamsten Verbindung Nr. 14 war am Hund mit Dosen von 0,001 mg/kg intravenös eine deutliche Verminderung und mit 0,0025 mg/kg eine volle Aufhebung der Schmerzreaktion auf Kneifen am Ohr zu erreichen; gleichzeitig trat Speichelfluss und bei der höheren Dosis Durchfall auf.

Am narkotisierten Tier ist die Toxizität erheblich gesteigert, der Tod erfolgt an Atemlähmung (Tabelle II). Bei künstlicher Beatmung sind dagegen die Letaldosen ungefähr gleich wie beim nichtnarkotisierten Tier. Die Atemdepression lässt sich durch Analeptika wie Coramin oder Bemegrid aufheben. Der Blutdruck des narkotisierten Kaninchens und der Katze wird durch Dosen, die zu einer mindestens 50prozentigen Abnahme der

Tabelle II

Mittlere Letaldosen bei intravenöser und peroraler Gabe an der Maus, intravenöse Letaldosis am nichtvorbehandelten und narkotisierten Kaninchen sowie atemhemmende Dosis in Urethannarkose (1,4 g/kg subkutan). Alle Dosen in mg/kg.

Verbindung Nr.	LD ₅₀ Maus		Kaninchen		
	intra-venös	per os	mittlere Letaldosis nicht vor-behandelt	Letaldosis narkoti-siert	Vermind. der Atemfrequenz um 50% (nark.)
Morphin	200	1000	250	1,0	0,5
1	50	—	50	25,0	10,0
2	50	500	50	25,0	10,0
3	50	—	—	25,0	keine Hem-mung
4	50	500	50	0,5	0,25
5	50	200	25	1,0	0,25
6	50	—	—	50,0	0,50
7	50	500	50	10,0	2,5
8	50	100	25	0,25	0,17
9	100	—	—	10,0	5,0
10	25	200	25	0,5	0,25
11	25	400	> 50	0,2	0,10
12	10	250	25	0,1	0,025
13	50	100	50	0,025	0,010
14	1	25	0,5	0,0025	0,0005

Atemfrequenz führen, nicht sicher beeinflusst, während die Herzfrequenz um etwa 10-20% abnimmt.

Ähnlich wie bei Morphin war ein antipyretischer Effekt der stark analgetisch wirkenden Substanzen am Kaninchen gegenüber der durch Bakterientoxine ausgelösten Temperatursteigerung nachweisbar, jedoch erst in Dosen, die ein Mehrfaches der analgetischen Schwellendosis betragen und bereits die Atemfrequenz vermindern. Das gleiche gilt für die entzündungshemmende Wirkung, die sich in einer geringeren Ödembildung bei der Senfölschemosis am Kaninchenauge oder nach Injektion von Dextran in die Rattenpfote äussert.

Im Gegensatz zu Morphin rufen die analgetisch wirksamen Derivate am isolierten Kaninchendarm keine Tonisierung hervor, sondern bedingen in Konzentrationen von 10⁻⁴ (g/ml) eine Abnahme der Pendelbewegungen. Am isolierten Kaninchenuterus führen dagegen die meisten Verbindungen zu einer allerdings schwächeren Tonisierung als Morphin. Spezifische spasmolytische Eigenschaften liessen sich nicht nachweisen.

Die Auffindung dieser neuen Gruppe hochwirksamer Analgetika zeigt, dass synthetische Verbindungen, für die sich auf Grund der Strukturformel keine Verwandtschaft zum Morphinmolekül mehr erkennen lässt, ein qualitativ sehr ähnliches Gesamtwirkungsbild wie Morphin hervorrufen können. Die für die Schmerzempfindung verantwortlichen Substrate des Zentralnervensystems lassen sich somit offenbar in verhältnismässig unspezifischer Weise ausschalten, und gleichzeitig verändern die in dieser Hinsicht wirksamen Substanzen auch andere Substrate (Atemzentrum, vagale Substrate) in ihrer Aktivität. Die Tatsache, dass bisher keine stark wirkenden Analgetika bekannt geworden sind, denen zusätzliche Wirkungen auf Atmung und bestimmte zentrale parasymphatische Funktionen fehlen, spricht für eine ähnliche Organisation der gleichzeitig beeinflussten Zellkomplexe.

F. GROSS und H. TURRIAN

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Pharmazeutische Abteilung, Basel, 26. August 1957.

Summary

A number of basically substituted benzimidazoles show a strong analgesic activity in mice, rats, rabbits, and dogs. Qualitatively they act very similarly to morphine and corresponding synthetic analgetics and the most active of these compounds are quantitatively superior to all analgetics hitherto described.

Kinetics of Penicillinase Activity

Penicillinase, next to catalase, has one of the highest turnover numbers known ($1.48 \times 10^5 M$ of substrate hydrolysed per min at 30°)¹. It is of interest then to determine whether MICHAELIS-MENTEN kinetics applies in this instance.

Rate of hydrolysis of benzyl penicillin by penicillinase from *B. subtilis* (commercial preparation; Commonwealth Serum Laboratories, Australia) has been investigated by a slight modification of the method of WISE and TWIGG². Preliminary experiments having shown that the effect of potassium chloride in the range of concentration 0.002–0.08 *M* on the rate was negligible, a constant ionic strength of 0.02 maintained by potassium chloride was used in the present investigation.

Results indicate that the reaction follows MICHAELIS-MENTEN kinetics³, at least between concentrations of substrate 20 and 0.2 times the apparent MICHAELIS constant K'_m . This is evident from a plot of

$$(t + \frac{[S]}{V'}) \text{ against } \log [S].$$

(Fig. 1; where t is the time in minutes, $[S]$ is the concentration of penicillin remaining, and V' is the apparent maximum [zero order] velocity expressed as mole per min $\cdot 10^3$, at $25^\circ C$, pH 6.58 and ionic strength 0.02.)

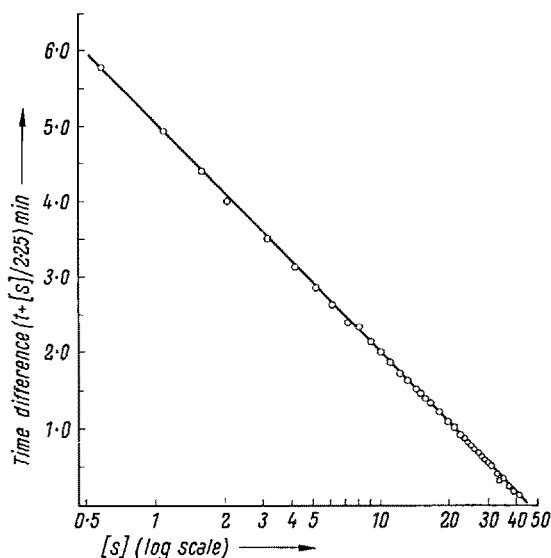


Fig. 1.

Time difference plot (see text for explanation).

¹ M. R. POLLOCK, A. M. TORRIANI, and E. J. TRIDGELL, *Biochem. J.* **62**, 387 (1956).

² W. S. WISE and G. H. TWIGG, *Analyst* **75**, 106 (1950).

³ L. MICHAELIS and M. L. MENTEN, *Biochem. Z.* **49**, 333 (1913).

Linearity of the time difference

$$(t + [S] \div V' + \text{constant};$$

i.e. actual time, less time calculated for zero order kinetics) with $\log [S]$ is in accord with the relationship

$$-V' \cdot t = [S] + K'_m \ln [S] + \text{constant}$$

obtained on integration of the MICHAELIS-MENTEN rate equation³.

Variation with pH of the parameters V' and K'_m , estimated by LINEWEAVER-BURK plots⁴ and corrected for the second dissociation constant of penicilloic acid $pK_{A,2}$ 5.35⁵, is summarised in Figure 2. These results are

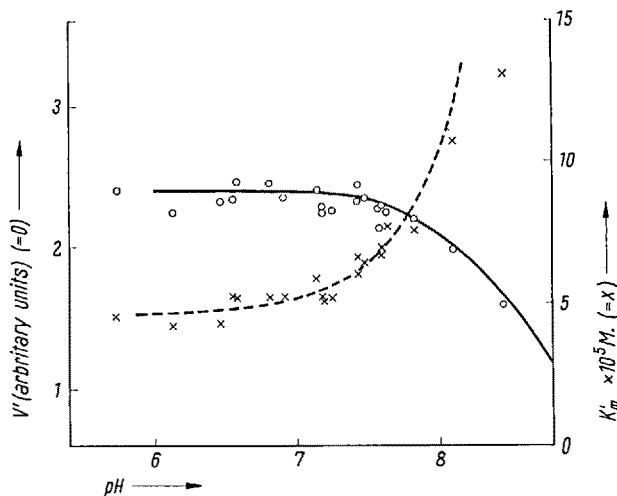


Fig. 2.

Variation of the parameters V' and K'_m with pH.

consistent with competitive inhibition of the enzyme by hydroxyl ions involving functional groups of $pK_A \sim 7.9$, and with anti-competitive inhibition⁶ involving functional groups of $pK_A \sim 8.8$. Curves shown in the Figure represent the expected variation of the parameters calculated⁷ on this basis.

At pH 7.14 and in the temperature range 22° to $43^\circ C$, the parameters V' and K'_m show a variation with temperature in accord with the ARRHENIUS equation⁸:

$$V' = A e^{-\frac{5700}{RT}}$$

and

$$K'_m = 1.46 \times 10^{-4} e^{-\frac{700}{RT}} M$$

where $R = 1.99$ cal per degree, and A is a constant. A slight deviation observed at 47° may be due to partial inactivation of the enzyme under these conditions.

Variation of the parameters K'_m and V' were less than the experimental error either for a threefold dilution of the enzyme or for change in concentration of the reaction products in the range 3×10^{-4} – $3 \times 10^{-3} M$.

⁴ H. LINEWEAVER and D. BURK, *J. Amer. chem. Soc.* **56**, 658 (1934).

⁵ R. MOZINGO and K. FOLKERS, *The Chemistry of Penicillin* (editors H. T. CLARKE, J. R. JOHNSON, and R. ROBINSON, Princeton, University Press, 1949), p. 573.

⁶ W. A. RAWLINSON, *Rev. pure appl. Chem.* **6**, 110 (1956).

⁷ W. A. RAWLINSON, *Rev. pure appl. Chem.* **6**, 118 (1956).

⁸ S. ARRHENIUS, *Z. physical. Chem.* **4**, 226 (1889).