

Tab. II

Tag nach der Bestrahlung	% freies Jodid
2	~0,3
4	1
6	1,5
10	4
20	8

Bei einem uns überlassenen, von GORDON jodierten Produkt betrug der Anteil an freiem Jodid nach 11 Tagen bereits 18% und nach 15 Tagen 17%. In einem andern Produkt machte das freie Jodid sogar 30% der Gesamtkaktivität aus.

Aus der Tabelle II ist der prozentuale Anteil an freiem Jodid im gereinigten Produkt in Abhängigkeit von der Zeit zu ersehen.

Das jodierte PVP-T wird schon beim Eindampfen auf dem Wasserbad zersetzt, weshalb für die Sterilisation des jodierten PVP-T die Methode der Kcimfiltration angewendet wurde.

Summary. A modification of the GORDON method for labelling polyvinylpyrrolidon with I^{131} is described. A more stable product with a higher iodine content has been obtained.

H. R. von GUNTEN, H. HÜGLI und P. TEMPUS

Eidg. Institut für Reaktorforschung, Würenlingen (Schweiz), 5. Mai 1967.

Strukturabhängigkeit der Wirkung muscarinähnlicher Verbindungen

In der letzten Zeit ist die pharmakologische Wirksamkeit zahlreicher synthetischer Verbindungen mit muscarinähnlicher Struktur untersucht worden¹. *L*(+)-Muscarin (I) hat gegenüber *D*(-)-Muscarin (II) und weiteren Stereoisomeren eine etwa 1000mal stärkere muscarinische Wirkung auf peripher parasympathische Synapsen. Thiomuscarin, mit einem Thiophan an Stelle des Tetrohydropuranrings, sowie zahlreiche homologe Verbindungen mit verschiedenen langen Seitenketten am C-Atom 2 sind ebenfalls über 1000mal geringer wirksam als das natürliche Alkaloid. Hingegen vermindert die Dehydrierung des Ringes (Doppelbindung C₄–C₅) die Aktivität kaum. Beinahe alle untersuchten Muscarinverbindungen mit Trimethylammoniummethylseitenkette zeigen keine nikotinische Wirkung an ganglionären oder neuromuskulären Synapsen. Dagegen sind Muscaron (VI, VII) und die meisten seiner Derivate noch stärker muscarinisch und auch stark nikotinisch, aber wenig stereospezifisch wirksam.

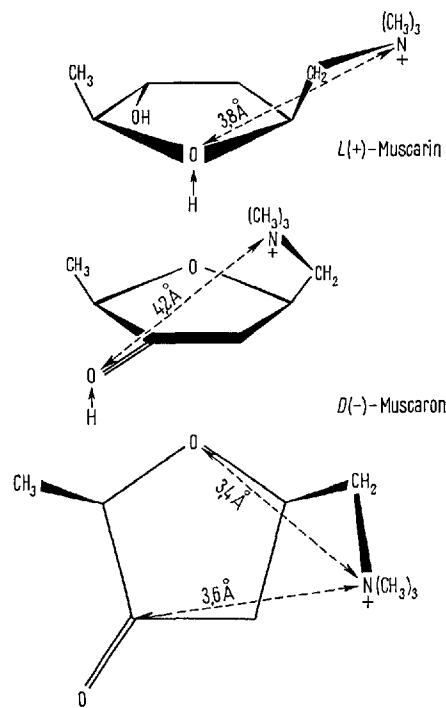
Die Untersuchung der pharmakologischen Wirkung einiger neuer synthetischer Verbindungen aus dieser Reihe² hat uns zu weiteren Überlegungen über die Korrelation von Molekülform (Konfiguration und Konformation) mit der Wirksamkeit gegenüber den cholinergischen Rezeptoren geführt.

Die Versuche wurden mit der bereits früher beschriebenen Technik an Katzen und isolierten Froschorganen (Herz und isolierter *Musculus rectus*) durchgeführt (Tabelle).

3-Phenyl-Muscarin (III) hat eine überraschend stark muscarinische sowie schwach nikotinische Wirkung, während 2-Me-Muscarin (IV) und 2-Me-Epimuscarin (V) ihre peripher cholinergische Wirkung beinahe vollständig verloren haben. Die sterische Hinderung der Hydroxylgruppe ist somit weniger wirkungsvermindernd als diejenige des Äthersauerstoffs. Desmethylmuscaron (VIII) ist auf peripherale und ganglionäre Synapsen 40–100mal weniger aktiv als Muscaron. 2-Me-Muscaron (IX) hat im Gegensatz zu den analogen Muscarinderivaten eine starke Wirksamkeit behalten. Entfernung oder Verdoppelung der C₂-ständigen Methylgruppe scheinen muscarinische wie auch nikotinische Wirkung bei Muscaron zu ermöglichen, das heisst die Stellung der Methylgruppe ist für die Bindung am Rezeptor von untergeordneter Bedeutung. Im Gegensatz zu Thiomuscarin und Desmethylthiomuscarin haben Thiomuscaron (X) und Desmethylthiomuscaron (XI) eine bedeutende muscarinische Aktivität, die gegen-

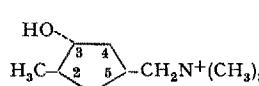
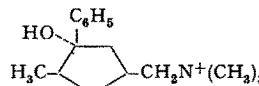
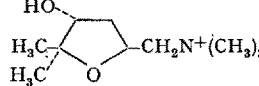
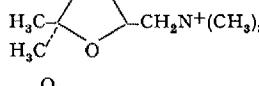
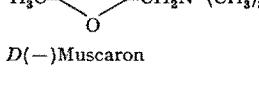
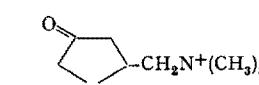
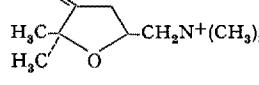
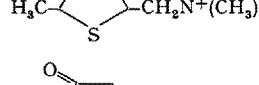
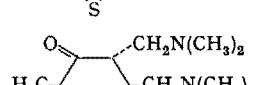
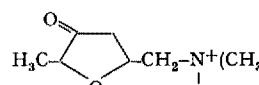
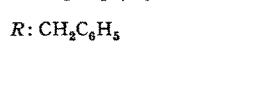
über Muscaron nur um das 20–40fache vermindert und ähnlich derjenigen von Desmethylmuscaron (VIII) ist.

Die Verbindungen XII–XV zeigen, dass Veränderungen der quartären Trimethylammoniumgruppen ähnlich wie bei anderen Furandervaten muscarinische und nikotinische Wirkungen gleichmäßig 1000–10000mal vermindern. Bei Homologen des Acetylcholins ($CH_3COOCH_2CH_2N^+(CH_3)_2R$) sinkt die Aktivität 10–100mal weniger.



¹ P. G. WASER, Exper. 14, 356 (1958); 16, 347 (1960). – L. GYERMEK und K. R. UNNA, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 98, 882 (1958); J. Pharmacol. exp. Therap. 128, 30, 37 (1960).

² Die Verbindungen I–V, IX, XII–XV wurden von E. HARDEGGER et al., Eidgenössische Technische Hochschule Zürich, VI und VII von F. HÄFLIGER und R. DENSS, J. R. Geigy AG., Basel, VIII, X und XI von C. H. EUGSTER und K. ALLNER, Universität Zürich, synthetisiert und uns in verdankenswerter Weise zur Verfügung gestellt. Alle Stoffe sind Jodsalze der Racemate, ausser den *D*- und *L*-Antipoden des Muscarins und Muscarons. Die Stereostruktur der Verbindungen III und XII ist noch nicht gesichert.

		Katzen, μ /kg i. v. (Minimaldosen)			atropinisiert		Froschorgane μ /ml	
		(muscarinisch)			(nikotinisch)		(muscarinisch) (nikotinisch)	
		Blutdruck- senkung	Atmungs- verstärkung	Nickhaut- kontraktion	Ganglion- block	Muskel- lähmung	Froschherz 1/4 Lähmung	Froschrectus submax. Kontr.
I	 <i>L</i> (+)-Muscarin	0,003	0,01	0,7	> 1000	> 1000	0,01	> 500
II	<i>D</i> (-)-Muscarin	3,0	20	40				> 300
III	 <i>D</i> (-)-Muscaron	0,006	0,07	0,5	> 2,0	> 2,0	0,04	25
IV	 <i>L</i> (+)-Muscaron	9,0	1000	200	—	—	4,0	> 5000
V	 <i>D</i> (-)-Muscaron	15,0	200	200	—	—	6,0	> 5000
VI	 <i>D</i> (-)-Muscaron	0,001	0,02	0,2	10	30	0,0075	2,5
VII	<i>L</i> (+)-Muscaron	0,003	0,1	0,2		50		10
VIII	 <i>D</i> (-)-Muscaron	0,06	20	30	> 100	30	8,0	
IX	 <i>D</i> (-)-Muscaron	0,05	0,2	3,5	> 200	> 200	1,5	30
X	 <i>D</i> (-)-Muscaron	0,04	5,0	5,0	> 500	150	1,0	50
XI	 <i>D</i> (-)-Muscaron	0,2	10,0	10,0	> 1000	200	4,0	50
XII	 <i>D</i> (-)-Muscaron	15	350	800	—	> 1000	29	> 2900
XIII	 <i>D</i> (-)-Muscaron R: $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	5,0	100	200	4000	4000	300	> 1300
XIV	<i>R</i> : $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	270	700	> 2000	2000	3200	> 3200	> 1600
XV	<i>R</i> : $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$	14	80	60	1400	2800	700	> 1400

Die hier untersuchten Muscarinverbindungen bestätigen die auf Grund der Wirkung von Thiomuscarin gemachte Annahme, dass die muscarinische Wirkung durch Bindung der kationischen Ammoniumgruppe und durch Wasserstoffbrückenbindung am nucleophilen Sauerstoff des Furanringes erfolgt. Die mit der 2-Methylgruppe transständige Hydroxylgruppe verstärkt diese Bindung wahrscheinlich durch H-Brücken mit dem Receptor und bedingt die hohe Stereospezifität. Eine Bindung an nikotinischen Rezeptoren scheint nicht möglich zu sein. Sterische Hinderung der H-Brückenbildung des Rezeptors zum Äthersauerstoff verhindert die muscarinische Wirkung, während sterische Hinderung der Hydroxylgruppe die Aktivität kaum ändert.

Bei Muscaron dagegen haben die Abschirmung des Äthersauerstoffs durch 2 benachbarte Methylgruppen am C-Atom 2 wie auch der Austausch des Sauerstoffs mit dem weniger elektronegativen Schwefelatom im Ring nur wenig Einfluss auf die muscarinische Wirkung. Die Wasserstoffbrücke geht hier vom Receptor zum durch Polarisierung viel stärker nucleophilen Carbonylsauerstoff.

Da Muscarin und Muscaron stärkste muscarinische Wirkung haben, müssen die verantwortlichen funktionalen Gruppen auf die gleichen cholinergischen Rezeptoren passen. Sie müssen daher auch ähnliche Atomabstände besitzen. Der maximale Abstand des quaternären N vom Äthersauerstoff im Muscarin beträgt 3,8 Å, wenn die Ammoniumseitenkette vom Furanring seitlich absteht. Beim Muscaron beträgt der minimal mögliche Atomabstand zwischen dem Stickstoffatom und dem Carbonylsauerstoff 4,2 Å, wenn die Ammoniumseitenkette über den Furanring hochgeschlagen ist. Diese Konformation ist im Dreiding-Stereo-Modell ohne starke Hinderung durch die N-Methylgruppen möglich. Sie erklärt, dass *D*-Muscaron, welches in seiner absoluten Konfiguration dem wenig aktiven *D*-Muscarin entspricht, wirksamer als *L*-Muscaron ist, indem die Seitengruppen relativ zur Carbonylgruppe sterisch eine ähnliche Lage wie die Seitengruppen des *L*-Muscarins zum Äthersauerstoff erhalten.

Die kürzlich von BECKETT et al.³ publizierte Struktur des muscarinischen Rezeptors verlangt für Muscarin einen Atomabstand vom Stickstoffatom zum Äthersauerstoff

von ca. 3,0 Å, was für die Bindung des Carbonylsauerstoffs des Muscarons unmöglich ist. Eine weiter entfernte zweite Bindungsstelle müsste befähigt sein, sowohl zur Carbonylgruppe H-Brücken zu bilden wie auch das Proton der Hydroxylgruppe des Muscarins aufzunehmen. Auch wird damit die gegenüber Muscarin umgekehrte Stereospezifität des Muscarons nicht erklärt.

Die nikotinische Wirkung des Muscarons beruht wahrscheinlich auf den polarisierten Elektronenwolken (π - und ρ -Orbitale) über dem Kohlenstoff der polaren Carbonylgruppe und dem Äthersauerstoff⁴. In der Konformation mit hochgeschlagener Ammoniumseitenkette ist der quartäre Stickstoff beinahe gleich weit vom Äthersauerstoff (3,4 Å) wie vom Carbonylkohlenstoff (3,6 Å) entfernt, das heißt das Molekül ist angenehmt symmetrisch, was auch die geringe Stereospezifität des Muscarons erklären würde.

Basierend auf den gefundenen Relationen zwischen Konstitution und Wirkung kann eine Theorie der cholinergischen Wirkung von Muscarin und dessen Analoga aufgestellt werden⁵, mit deren Hilfe möglicherweise Aufschlüsse über die aktive Form des Acetylcholins und den Bau des cholinergischen Rezeptors gewonnen werden können.

Summary. Relations between structure and biological activity of some new analogues of muscarine are demonstrated. From the results a theory of cholinergic action and the structure of active acetylcholine, as well as the cholinergic receptor, may be developed.

P. WASER

Pharmakologisches Institut der Universität Zürich (Schweiz),
20. März 1961.

³ A. H. BECKETT, N. J. HARPER, J. W. CLITHEROW und E. LESSER, *Nature* 189, 671 (1961).

⁴ R. B. BARLOW, *Introduction to Chemical Pharmacology* (Methuen, London 1955), p. 127.

⁵ P. G. WASER, *Chemistry and Pharmacology of Muscarine, Muscarone and some Related Compounds, Pharmacological Reviews*, in Vorbereitung.

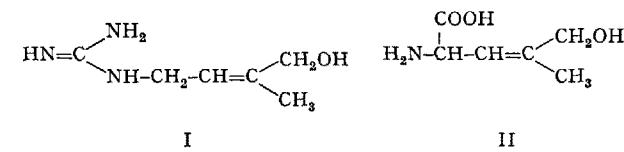
Isolierung eines neuen Guanidin-Derivates aus der Geissraute, *Galega officinalis* L.

Aus Samen der Geissraute isolierten wir durch Chromatographie von Roh-Galeginsulfat¹ an Cellulosepulver (Schleicher & Schüll Nr. 123, Laufmittel *n*-Butanol, gesättigt mit 1,5 *n* HCl) neben Galegin [3-Methyl-but-2-enyl-guanidin-(1)]² ein weiteres Guanidinderivat (I). Sein Hydrochlorid kristallisiert aus *n*-Propanol in Form farbloser Prismen vom Smp. 133–134° (korrig.) und besitzt auf Grund der Elementaranalyse³ die Summenformel $C_6H_{13}N_3O$. HCl (ber. 40,11% C, 7,85% H, 23,39% N; gef. 40,06, 40,19% C, 7,82, 7,76% H, 23,24, 23,29% N). Papierchromatographie: Papier Schleicher & Schüll 2043 b Mgl, 24 h aufsteigende Entwicklung bei 21–23° mit *n*-Butanol/1,5 *n* HCl gesättigt; Nachweis mit Sakaguchi-Reagens (Guanidin-Gruppe) bzw. alkal. $KMnO_4$ -Lösung (C=C-Doppelbindung); Rf-Werte Galeginsulfat 0,80, I-Hydrochlorid 0,59.

Die wegen der positiven Sakaguchi-Reaktion wahrscheinliche Guanidinstruktur wird durch das IR-Spektrum⁴ bestätigt [Banden bei 1620 und 1645 (monosubstituiertes Guanidin⁵), 3160, 3310 cm^{-1}]. Bei der katalytischen Hydrierung mit Platinoxyd in Eisessig oder Äthanol

ist die H_2 -Aufnahme (1 Mol) wie bei Galeginsulfat nach 5 min beendet; auf dem Chromatogramm ist dann keine $KMnO_4$ -Reaktion mehr festzustellen. Der Sauerstoff liegt als leicht acetylable Hydroxylgruppe vor.

Auf Grund dieser und weiterer experimenteller Befunde wird für das neue Guanidinderivat die Hydroxy-galeginstruktur I [4-Hydroxy-3-methyl-but-2-enyl-guanidin-(1)] vorgeschlagen.



¹ E. SPÄTH und S. PROKOPP, *Ber. dtsh. chem. Ges.* 57, 474 (1924).
² G. TANRET, *C. R. Acad. Sci.* 158, 1182 (1914). – G. BARGER und F. D. WHITE, *Biochem. J.* 17, 827 (1923).

³ Die Mikroanalysen wurden von Herrn Dr. A. SCHOELLER, Kronach (Obfr.), ausgeführt.

⁴ Herrn Dr. K. HELLER, Wissenschaftliche Laboratorien des VEB Jenapharm, Jena, danken wir für die Aufnahme der IR-Spektren.

⁵ T. Goro, K. NAKANISHI und M. OHASHI, *Bull. chem. Soc. Japan* 30, 723 (1957).