

Zur Kenntnis der Biologischen Aktivität von Chelatbildnern

H. ERLLENMEYER, J. JENNI und B. PRIJS, *Institut für anorganische Chemie der Universität Basel*

2-Amino-4-(6-methyl-2-pyridyl)-thiazol (IV) gehört zu einer Reihe von Verbindungen, die die charakteristische Chelat-

bildende $\text{N} \begin{array}{c} \diagup \text{C} - \text{C} \diagdown \\ \diagdown \text{N} \end{array} \text{N}$ -Gruppe aufweisen, deren Fähigkeit zur Bindung von Metallionen insbesondere am Dipyridyl und am *o*-Phenanthrolin gut untersucht ist. Bei einem Versuch mit Verbindung IV und Glykokoll bei pH 7 in Gegenwart von Cu^{2+} zeigte es sich, dass das Cu^{2+} -Bindungsvermögen der beiden Liganden von gleicher Grossenordnung ist.*

Einige Verbindungen dieser Reihe sind im biologischen Versuch deutlich analgetisch wirksam. Die Verbindung IV besitzt diese Eigenschaft gleichfalls, wie aus den Angaben des Versuchs 1 der Tabelle I hervorgeht: sie zeigt in einer Dosis von 100 mg/kg i.p. eine ziemlich starke analgetische Wirkung.† Erwähnt sei, dass auch unsubstituierte Verbindungen dieser Reihe wie z.B. das 2,2'- oder das 2,4'-Pyridylthiazol die gleiche biologische Aktivität aufweisen.‡

In früheren Versuchen wurde gezeigt, dass bei Chelatbildnern die zu beobachtenden biologischen Wirkungen häufig mit der Fähigkeit, Komplexe zu bilden, verknüpft sind.¹ Am deutlichsten zeigt sich dieser Zusammenhang bei der tuberkulostatischen Wirkung von 5-Hydroxychinoxalin.² Diese Verbindung wirkt in *in vitro*-Versuchen in Kirchner-Nährlösung ohne Metallionen-Zusatz erst in Konzentrationen von m/5,000 hemmend, in Gegen-

* Wir danken Herrn Prof. Dr. S. Fallab für die Durchführung dieser Versuche; über die komplexchemischen Eigenschaften dieser Verbindungsgruppe wird später zusammenhängend berichtet.

† Der Firma J. R. Geigy A.G., Basel, möchten wir auch an dieser Stelle für die Durchführung der biologischen Prüfung den besten Dank sagen.

‡ Hierüber wird in anderem Zusammenhang noch berichtet werden.

wart von $M/5,000$ Kupferionen* aber lässt sich eine totale Hemmung der Tbc-Kulturen bereits durch Konzentrationen von $M/200,000$ erzielen.

Für die tuberkulostatische Aktivität des Isonikotinsäurehydrazids kann man ebenso annehmen, dass sie mit dem Komplexbildungsvermögen dieser Verbindung zusammenhängt.³ So haben Cymerman-Craig *et al.*⁴ gezeigt, dass Derivate dieses

Tabelle I. Analgetische Aktivität: Bestimmung der Reaktionszeit in Sekunden (Reizschwelle) bei Licht-Wärmereiz nach i.p. Verabreichung einer 1-proz. Lösung bei 20 Tieren

Versuch Nr.	Verbindung	Dosis, mg/kg	Änderung der Reizschwelle in % nach <i>n</i> Minuten		
			<i>n</i> = 15	30	45
1	IV ^a	100	+ 62	+ 86	+ 82
2	Na-Salicylat	300	+ 14	+ 9	+ 13
3	Na-Salicylat + IV	300 100	+ 38	+ 61	+ 44
	(nach 15 Min.)				

^a IV = 2-Amino-4-(6-methyl-2-pyridyl)-thiazol.

Hydrazids vom Typus $RCONR'NH_2$, deren Struktur keine Möglichkeit zur Tautomerisierung und damit zur Chelatkomplexbildung erkennen lässt, auch biologisch unwirksam sind, während Derivate des Typus $RCONHNHR'$, die Metallionen komplex binden, sich auch als biologisch aktiv erwiesen. Auch bei der Salicylsäure vermutet Schubert,⁵ dass die biologische Wirkung mit der Fähigkeit dieser Verbindung, Metallionen komplex zu binden, zusammenhängt.

Für den Mechanismus solcher Aktivitäten wird entweder an eine Beeinflussung der Konzentrationen der Metallionen in der Zelle – die wiederum mit den Metallfermenten zusammenhängen – zu denken sein, oder aber an eine direkte koordinative Bindung an die Metallenzyme.⁶

An eine Beeinflussung der pMe-Werte der lebensnotwendigen Metallionen denkt Feeney,⁷ der zeigen konnte, dass die hemmende Wirkung des Conalbumins bzw. des Oxins auf Gram-positive

* Cu^{2+} allein wirkt in dieser Konzentration nicht hemmend.

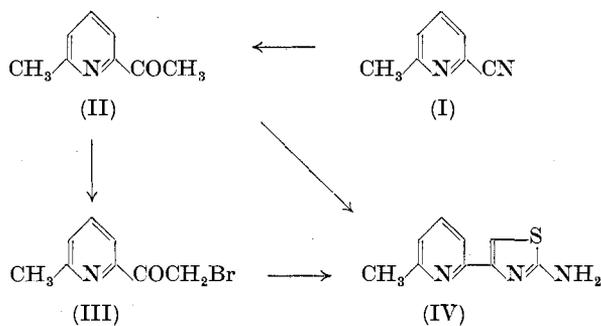
Bakterien sich antagonistisch beeinflussen, und zwar auch dann, wenn die Conalbumin-Oxin-Kombination von den Bakterienkulturen durch eine Dialysiermembran getrennt ist, sodass er die hemmende Wirkung der einzelnen Komponenten auf eine 'imbalance in the concentration of trace elements' zurückführt und vermutet, dass die Kombination die 'absence of an imbalance' zur Folge hat.

Von Interesse ist in diesem Zusammenhang auch die Beobachtung, dass die hemmende Wirkung des Isonikotinsäurehydrazids auf Tbc-Kulturen in bestimmten Konzentrationsbereichen durch das Hydrazid der Thiophen-2-carbonsäure aufgehoben wird.⁸

Eine direkte Bindung von 1,10-Phenanthrolin bzw. von 8-Hydroxychinolin-5-sulfonsäure an das Zn-Ion in der Alkohol-Dehydrogenase – die mit einer Inaktivierung des Fermentes verbunden ist – konnten Vallee *et al.*⁹ durch spektrophotometrische Untersuchungen feststellen.

Die Vermutung, dass auch die biologische Wirkung von IV mit dem Komplexbildungsvermögen in Verbindung zu bringen ist, wird gestützt durch die Beobachtung, dass die analgetische Wirkung von IV durch Natrium-salicylat antagonistisch beeinflusst wird, wie aus den Angaben der Tabelle I zu entnehmen ist.

Es liegt nahe anzunehmen, dass dieser Antagonismus auf einer Konkurrenz-Reaktion beruht, welche auf das den beiden Verbindungen eigene Komplexbildungsvermögen zurückzuführen ist. Die Versuche bestätigen andererseits auch die erwähnte Vorstellung von Schubert,⁵ nach der die Wirkung der Salicylsäure und ihrer Derivate auf Wirkungsmechanismen beruht, an welchen Metallionen beteiligt sind.



Das 2-Amino-4-(6-methyl-2-pyridyl)-thiazol (IV) wurde durch Kondensation von 2-Acetyl-6-methylpyridin (II) mit Thioharnstoff in Gegenwart von Jod¹⁰ oder aus dem durch Bromierung von II zugänglichen 2-Bromacetyl-6-methylpyridin (III) und Thioharnstoff gewonnen. Verbindung II erhält man aus 2-Cyan-6-methylpyridin (I) mit Hilfe einer Grignard-Reaktion.

Experimentelles

2-Acetyl-6-methylpyridin (II). Zu 22·7 g 2-Cyan-6-methylpyridin (I) in 100 ml abs. Äther tropft man unter gutem Rühren bei -5° eine CH_3MgJ -Lösung aus 40 g CH_3J und 7 g Mg-Spänen in insgesamt 150 ml abs. Äther. Man rührt die grobkörnige, gelb bis braun gefärbte Masse noch 1 Std. bei 0° , destilliert den Äther auf dem Wasserbade ab und hält die dunkle Masse 1 Std. bei $60-80^{\circ}$. Nach dem Abkühlen gibt man eine Mischung von 40 g konz. H_2SO_4 und 300 g Eis zu, um das entstandene Imin zu verseifen. Man neutralisiert mit NaOH bis pH 5 und schüttelt viermal mit je 100 ml Äther aus. Der Ätherrückstand geht bei $62-90^{\circ}/11$ Torr über. Ausbeute 13·2 g. Redestillation ergibt 12·42 g (48%) vom Sdp. $82-83^{\circ}/11$ Torr.

Anal. Ber. für $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}$: C, 71·09; H, 6·71; O, 11·84. Gef.: C, 71·21; H, 6·80; O, 11·60.

2-Bromacetyl-6-methylpyridin (III). Man tropft 4·5 ml Brom in 50 ml CCl_4 unter Rühren zu einer siedenden Lösung von 11·85 g 2-Acetyl-6-methylpyridin (II) in 100 ml CCl_4 . Sodann wird noch $\frac{1}{2}$ Std. gekocht; die gelbraunen Kristalle werden filtriert, mit CCl_4 gewaschen und über Nacht getrocknet. Diese Kristalle (17·84 g) werden in 180 ml Wasser gelöst und die Lösung mit Na_2CO_3 neutralisiert, bis kein CO_2 mehr entweicht. Sodann wird mit 100 ml Äther und noch dreimal mit 50 ml Äther extrahiert. Der Ätherrückstand wird am Hochvakuum im Säbelkolben destilliert. Sdp. $88-108^{\circ}/0\cdot25$ Torr. Ausbeute 11·94 g (64%). Redestillation ergibt 9·98 g (54%) vom Sdp. $82-96^{\circ}/0\cdot08$ Torr.

Anal. Ber. für $\text{C}_8\text{H}_8\text{BrNO}$: C, 44·88; H, 3·77; Br, 37·33; N, 6·54. Gef.: C, 44·95; H, 3·77; Br, 37·32; N, 6·41.

2-Amino-4-(6-methyl-2-pyridyl)-thiazol (IV). (a) Aus 2-Acetyl-6-methylpyridin (II). Eine Mischung von 14·5 g II und 16·3 g Thioharnstoff wird mit 70 ml CCl_4 und 27·2 g Jod 16 Std. unter Rückfluss gekocht. Das CCl_4 wird abdestilliert, der klebrige,

schwarze Rückstand in 30 ml Wasser gelöst und die Lösung filtriert. Rückstand: 0·49 g Schwefel. Das Filtrat wird dreimal mit je 2 g Tierkohle aufgekocht, sodann mit 90 ml 96-proz. Äthanol versetzt und über Nacht bei -14° stehen gelassen. Das ausgefallene Hydrojodid (17·2 g) wird in Wasser mit Tierkohle aufgekocht. Man erhält so 14·38 g oliv gefärbte Kristalle vom Smp. $180-185^{\circ}$ (korr.) (wird bei 175° feucht).

Anal. Ber. für $C_9H_{10}IN_3S$: C, 33·8; H, 3·1; I, 39·8. Gef.: C, 33·7; H, 3·4; I, 40·0.

Die warme Lösung von 14 g des rohen Hydrojodids in 100 ml Wasser wird mit konz. NH_4OH versetzt. Das freie Amin fällt sofort in schwach blau gefärbten Nadeln aus, 8·56 g (42%) vom Smp. $170-176^{\circ}$.

Zur Analyse wird das Amin in 10-proz. HCl mit Tierkohle aufgekocht; das Filtrat wird mit konz. NH_4OH neutralisiert. Man erhält farblose Nadeln vom Smp. 176° (korr.).

Anal. Ber. für $C_9H_9N_3S$: C, 56·6; H, 4·7; N, 22·0. Gef.: C, 56·7; H, 4·7; N, 21·4.

(b) Aus 2-Bromacetyl-6-methylpyridin (III). Eine Lösung von 2·64 g III wird in 10 ml Äthanol mit 1·88 g Thioharnstoff 15 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach dem Abdestillieren des Alkohols nimmt man den Rückstand in 60 ml H_2O + 6 ml konz. HCl auf und filtriert vom Ungelösten. Das Filtrat wird zweimal mit Tierkohle behandelt — die Lösung ist dann nur noch schwach hellgrün gefärbt — und warm mit konz. NH_4OH alkalisch gestellt. Das Amin fällt in schwach rosa gefärbten Nadeln aus, die mit wenig Wasser gewaschen und bei $80^{\circ}/12$ Torr getrocknet werden. Ausbeute 1·40 g (60%) vom Smp. $175-176^{\circ}$, Mischschmelzpunkt mit dem nach (a) erhaltenen Produkt ohne Depression.

Das *Acetylderivat* von IV erhält man durch Kochen mit Essigsäureanhydrid am Rückfluss in 85-proz. Ausbeute. Es sublimiert bei $150-170^{\circ}/0\cdot03$ Torr. Aus Äthanol farblose Plättchen vom Smp. $210-211^{\circ}$ (korr.).

Anal. Ber. für $C_{11}H_{11}N_3OS$: C, 56·63; H, 4·75; S, 13·75. Gef.: C, 56·30; H, 4·96; S, 13·93.

Summary. The analgesic activity of 2-amino-4-(6-methyl-2-pyridyl)-thiazole, a chelating agent of the bipyridine type, is antagonized by

salicylic acid, being likewise a complexing agent of similar biological activity.

Anerkennung. Die Mikroanalysen verdanken wir dem mikroanalytischen Laboratorium der CIBA Aktiengesellschaft Basel (Drs. H. Gysel und W. Padowetz).

(Received 5 December, 1960)

Literatur

- ¹ Albert, A., Rubbo, S. D., Goldacre, R. J. und Balfour, B. G. *Brit. J. exp. Path.*, **28**, 69 (1947); Rubbo, S. D., Albert, A. und Gibson, M. I. *Brit. J. exp. Path.*, **31**, 425 (1950); Albert, A. und Magrath, D. *Biochem. J.*, **41**, 534 (1947); Fallab, S. und Erlenmeyer, H. *Helv. chim. acta*, **40**, 363 (1957)
- ² Sorkin, E. und Roth, W. *Helv. chim. acta*, **34**, 427 (1951); Sorkin, E., Roth, W. und Erlenmeyer, H. *Experientia*, **7**, 64 (1951)
- ³ Sorkin, E., Roth, W. und Erlenmeyer, H. *Helv. chim. acta.*, **35**, 1736 (1952); Roth, W. und Erlenmeyer, H. *Helv. chim. acta*, **37**, 95 (1954); Fallab, S. und Erlenmeyer, H. *Experientia*, **8**, 298 (1952); *Helv. chim. acta*, **36**, 6 (1953); Fallab, S. *Experientia*, **10**, 190 (1954)
- ⁴ Cymerman-Craig, J., Willis, D., Rubbo, S. D. und Edgar, J. *Nature, Lond.*, **176**, 34 (1955); s.a. Rinderspacher, Th. und Prijs, B. *Helv. chim. acta*, **41**, 22 (1958)
- ⁵ Schubert, J. in *Chemical Specificity in Biological Interactions*, edited by Gurd, F. R. N., S. 151, 1954. New York; Academic Press; s.a. A. Burger, *Medicinal Chemistry*, s. 349. 1960. New York; Interscience Publishers
- ⁶ Erlenmeyer, H., Bäumler, J. und Roth, W. *Helv. chim. acta*, **36**, 941 (1953)
- ⁷ Feeney, R. E. *Arch. Biochem. Biophys.*, **34**, 196 (1951); Feeney, R. E. und Nagy, D. A. *J. Bact.*, **64**, 629 (1952)
- ⁸ Roth, W., Carrara, G. und Erlenmeyer, H. *Helv. chim. acta*, **36**, 1004 (1953); s.a. Carrara, G., Chiancone, F. M., d'Amato, V., Ginoulhiac, E., Martinuzzi, C., Teotino, U. M. und Visconti N. *Gazz. chim. ital.*, **82**, 652 (1952), vgl. Erlenmeyer, H., Fallab, S., Prijs, B. und Roth, W. *Helv. chim. acta*, **37**, 636 (1954)
- ⁹ Vallee, B. L., Coombs, Th. L. und Williams, R. J. *J. Amer. chem. Soc.*, **80**, 397 (1958)
- ¹⁰ Dodson, R. M. und King, L. C. *J. Amer. chem. Soc.*, **67**, 2242 (1945); s.a. Erlenmeyer, H., Herzfeld, J. und Prijs, B. *Helv. chim. acta*, **38**, 1291 (1955)