

Über einige Derivate der p-Aminosalicylsäure und ihre tuberkulostatische Wirksamkeit.

Von

K. Benedikt und H. Eibl.

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität und dem
Bundesstaatlich Serotherapeutischen Institut in Wien.

(Eingelangt am 9. Sept. 1949. Vorgelegt in der Sitzung am 13. Okt. 1949.)

In einer kürzlich erschienenen Arbeit wurde über die Darstellung der PAS (p-Aminosalicylsäure) berichtet¹. Seither haben wir auch — durch Materialmangel allerdings stark behindert — eine Reihe von Derivaten der PAS dargestellt und ihre bakteriostatische Wirksamkeit *in vitro* gegenüber *Mycobact. tub.* untersucht. Die Testung einiger solcher Derivate wurde bereits von *G. P. Joumans* und Mitarbeitern², *K. G. Rosdahl*³ und *C. L. Goadacre* und Mitarbeitern⁴ beschrieben. Neuerdings haben *R. Hirt* und Mitarbeiter⁵ eine umfassende Arbeit über PAS-Abkömmlinge und Analoga publiziert; aus ihr ist zu entnehmen, daß die Wahrscheinlichkeit von der PAS als Grundsubstanz ausgehend einen Stoff höherer tuberkulostatischer Wirkung — zumindest *in vitro* — zu erhalten, sehr gering ist. Vor kurzem kam noch eine Arbeit von *D. J. Drain* und Mitarbeitern⁶ zu unserer Kenntnis, in der zum Unterschied von den Arbeiten von *Hirt* und den anderen auch experimentelle Daten über die Darstellung einiger PAS-Derivate mitgeteilt wurden.

¹ *F. Wessely, K. Benedikt und H. Benger*, *Mh. Chem.* **80**, 197 (1949).

² *G. P. Joumans, E. W. Raleigh und A. S. Joumans*, *J. Bacteriol.* **54**, 409 (1947).

³ *K. G. Rosdahl*, *Svensk. kem. Tidskr.* **60**, 12 (1948).

⁴ *C. L. Goadacre, B. W. Mitchell und A. S. Seymour*, *Quart. J. Pharmac. Pharmacol.* **21**, 301 (1948).

⁵ *R. Hirt und H. Hurni*, *Helv. chim. Acta* **32**, 378 (1949).

⁶ *D. J. Drain, D. D. Martin, B. W. Mitchell, D. E. Seymour und F. S. Spring*, *J. chem. Soc. London* **1949**, 1498.

Unsere Untersuchungen waren beim Erscheinen der beiden letztgenannten Arbeiten abgeschlossen. Ein Teil der von uns dargestellten Präparate ist auch in diesen angeführt. Bezüglich der physikalischen Konstanten besteht Übereinstimmung.

Die Ergebnisse der biologischen Auswertung der von uns dargestellten Verbindungen sind in der Tabelle 1 zusammengefaßt; es sind die molaren Konzentrationen angegeben, bei denen noch vollkommene bzw. nahezu vollkommene Hemmung (durch + gekennzeichnet) der auf festen Eiernährböden nach *Löwenstein* gezüchteten Tbc-Bakterien eintritt.

Die teilweise im Vergleich zu anderen Autoren abweichenden Resultate können sowohl durch die Verwendung anderer Nährböden und Tuberkelbakterienstämme, als auch durch die verschiedene Meßmethodik bedingt sein. So bestimmten z. B. *R. Hirt* und Mitarbeiter diejenige Konzentration, die eine 50%ige Hemmung gegenüber der normal wachsenden Kontrolle hervorruft. In unseren Versuchen dagegen wurde die molare Menge ermittelt, die eine vollkommene Hemmung des Wachstums bewirkt. Dementsprechend liegen die von uns gefundenen Werte im allgemeinen bei höheren Konzentrationen als die von *R. Hirt* und Mitarbeitern gefundenen.

Experimenteller Teil.

Die Darstellung der PAS erfolgte auf dem von uns in einer früheren Arbeit¹ beschriebenen einfachen Weg der trockenen Druckcarboxylierung von m-Aminophenol.

PAS-Methylester. Die Veresterung wurde mit Diazomethan durchgeführt. Die erhaltene Verbindung zeigte nach Destillation im Ölvakuum und Umkristallisieren aus Alkohol den Schmp. 119° (119 bis 120°)⁷; sie gibt mit Eisenchlorid eine weinrote Färbung.

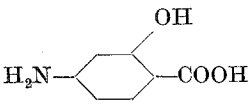
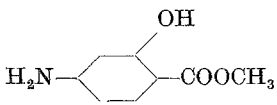
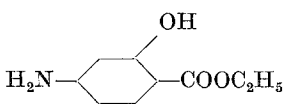
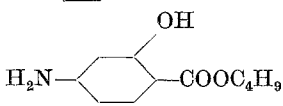
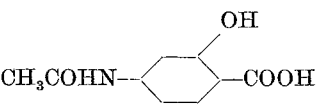
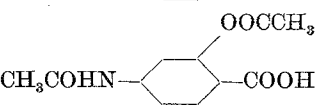
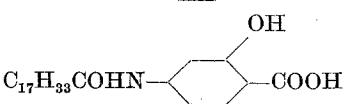
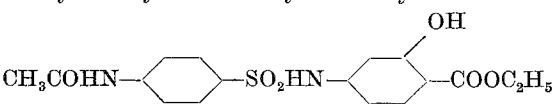
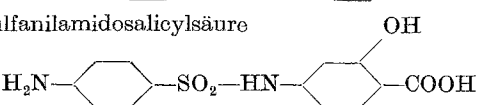
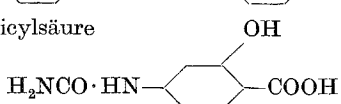
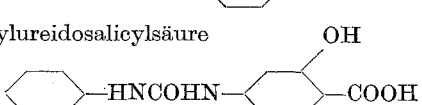
PAS-Äthylester. 1 g PAS-Chlorhydrat wurde mit 35 ml abs. Alkohol und 6 ml konz. Schwefelsäure bis zur klaren Lösung (6 Stdn.) am Rückfluß gekocht und das Reaktionsgemisch in der üblichen Weise aufgearbeitet. Nach Umkristallisieren aus verd. Alkohol schmolz die Verbindung bei 114 bis 115° (111,5 bis 113°). Ausbeute 0,6 g.

PAS-n-Butylester. 1,0 g PAS wurde mit 25 ml n-Butylalkohol und 2 ml konz. Schwefelsäure 6 Stdn. am Wasserbad erhitzt, nach dem Erkalten mit 10%iger Sodalösung neutralisiert und ausgeäthert. Nach dem Trocknen, Verdampfen des Lösungsmittels und Destillieren im Ölvakuum wurden 0,6 g allmählich kristallisierendes Öl erhalten. Die Verbindung zeigte nach Umkristallisieren aus zirka 80%igem Alkohol einen Schmp. von 94 bis 95,5° (92,5 bis 93°). Eisenchloridreaktion weinrot.

PAS-N-Acetat. Feingepulverte PAS wurde mit Essigsäureanhydrid

⁷ Die in Klammern gesetzten Zahlen bedeuten hier und bei den folgenden Präparaten die Angaben von *D. J. Drain* und Mitarbeiter, J. chem. Soc. London 1949, 1498.

Tabelle 1.

Verbindung	Eigene Ergebnisse	C. L. Goadacre ³ u. Mitarb.	R. Hirt ⁴ u. Mitarb.
PAS 	10 ⁻⁴ *	10 ^{-5,4}	10 ^{-5,4}
PAS-Methylester 	10 ⁻⁴ +	10 ^{-5,7}	10 ^{-3,5}
PAS-Äthylester 	10 ⁻⁴ +	10 ^{-5,7}	10 ⁻⁴
PAS-n-Butylester 	10 ⁻³	—	10 ⁻⁴
PAS-N-Acetat 	10 ⁻³ +	10 ^{-4,5}	10 ^{-2,6}
PAS-Diacetat 	10 ⁻³ +	10 ^{-4,0}	—
PAS-N-Oleat 	10 ⁻²	—	—
4-Acetylsulfanylamido-salicylsäureäthylester 	10 ⁻³	—	—
4-Sulfanylamidosalicylsäure 	10 ⁻²	—	10 ^{-3,2}
4-Ureidosalicylsäure 	10 ⁻³	—	10 ^{-3,2}
4-Phenylureidosalicylsäure 	10 ⁻²	—	10 ^{-3,8}
Streptomycin	10 ⁻⁴	—	—

Versuche zur Darstellung der 4-Guanidosalicylsäure hatten bisher keinen Erfolg.

* Bei der nächst kleineren Konzentration noch etwas gehemmt.

in der Kälte digeriert. Die erhaltenen Kristalle zeigten nach dem Umkristallisieren aus verd. Alkohol einen Zersp. von 230° (220 bis 232° je nach Schnelligkeit des Erhitzens). Die Verbindung gibt kein Chlorhydrat.

PAS-Diacetat. 2,0 g PAS-Chlorhydrat wurden in 10 ml Essigsäureanhydrid in der Hitze gelöst und nach Stehen über Nacht im Vak. zur Trockene gebracht. Nach Umkristallisieren aus wäßr. Alkohol zeigte die Verbindung einen Schmp. von 193 bis 194° (189 bis $190,5^{\circ}$); sie ist in Bicarbonatlösung leicht löslich, gibt mit Silberionen keine Fällung und mit Eisenchlorid keine Färbung.

PAS-Oleat. 0,22 g PAS und 0,43 g (1 Mol) Ölsäurechlorid — dargestellt aus Ölsäure und Thionylchlorid — wurden in 4 ml Pyridin gelöst und über Nacht bei Zimmertemp. stehen gelassen. Nach dem Ansäuern mit verd. Salzsäure wurde die kristallin ausfallende Verbindung zunächst aus Alkohol und zur weiteren Reinigung aus Benzol-Aceton umgelöst. Es wurden 0,35 Kristalle vom Schmp. 173 bis 175° erhalten. Eisenchloridreaktion weinrot bis rotbraun; Äquivalentgewicht: Gef. 410, ber. 417.

4-Acetylsulfanilamido-salicylsäureäthylester. 0,28 g PAS-Äthylester und 0,39 g (1,1 Mol) Acetylsulfanilsäurechlorid wurden mit 0,7 ml Pyridin versetzt. Unter Selbsterwärmung bildete sich eine fuchsinrote fluoreszierende Lösung. Nach 20 Stdn. Stehen wurde mit 10 ml verd. Salzsäure digeriert und die erhaltenen Kristalle aus zirka 80%igem Alkohol umkristallisiert. Ausbeute 0,5 g, Schmp. 212 bis 216° (*Kofler*). Die Verbindung gibt mit Silberionen keine Fällung, mit Eisenchlorid eine weinrote Färbung.

4-Sulfanilamidosalicylsäure. 0,28 g vorstehender Verbindung wurden zur Verseifung mit 10%iger Natronlauge 1 Std. am Wasserbad erwärmt. Nach dem Erkalten wurde mit Salzsäure bis zur genauen Neutralisation tropfenweise versetzt. Die ausgefällte Verbindung wurde aus wäßr. Alkohol umkristallisiert und schmolz bei 230° u. Zers. (220° Zers.); sie ist in Bicarbonatlösung sowie in Salzsäure glatt löslich, gibt mit Silberionen keine Fällung und mit Eisenchloridlösung eine weinrote Färbung. Eine Äquivalentgewichtsbestimmung durch Titration mit Natronlauge ist nicht möglich. Schwefelgehalt: Gef. 10,45%, ber. 10,42%.

4-Ureidosalicylsäure. Gleiche Mengen von PAS-Chlorhydrat und Kaliumcyanat wurden in wenig Wasser am Wasserbad erwärmt. Es trat Lösung ein und beim Ansäuern mit Salzsäure fiel das Harnstoffderivat als voluminöser Niederschlag aus, der aus heißem Wasser in feinen Sternchen kristallisierte. Die Verbindung schmolz bei 196° u. Zers.; sie ist bicarbonatlöslich und gibt mit Silberionen keine Fällung.

4-Phenylureidosalicylsäure. 1,58 g PAS-Chlorhydrat wurden mit 1 n NaOH gegen Phenolphthalein neutralisiert, 1,19 g (1,2 Mol) Phenylisocyanat zugegeben und geschüttelt. Die Flüssigkeit erwärmte sich und der Geruch nach dem Cyanat war nach wenigen Min. verschwunden. Es wurde von etwas Diphenylharnstoff abfiltriert und mit verd. Schwefelsäure angesäuert. Der voluminöse Niederschlag wurde abfiltriert und aus verd. Alkohol umkristallisiert. Die daraus in feinen Nadeln kristallisierende Säure zeigte einen scharfen Zersp. von 232° . Die Verbindung ist bicarbonatlöslich, gibt mit Silberionen eine in Salpetersäure lösliche Fällung, mit Bariumionen keine Fällung und eine weinrote Eisenchloridreaktion.

Die *bakteriologische Auswertung* erfolgte auf *Löwenstein-Nährboden*.

Dazu wurden die verschiedenen Substanzen zu $6 \cdot 10^{-5}$, $6 \cdot 10^{-4}$, $6 \cdot 10^{-3}$ und $6 \cdot 10^{-2}$ mol. Konzentration in Wasser bzw., wo dies nicht möglich war, in Glycerin gelöst. Je 1 ml dieser Lösung wurde zu 5 ml noch flüssigem Nährboden zugesetzt und dann bei 80° 3 Stdn. sterilisiert. Nach Prüfung auf Sterilität wurden die Röhrechen mit etwa 10^7 Keimen vom Stamm „Heide“ beimpft. Nach 24tägiger Inkubation bei 37° erfolgte die endgültige Ablesung.

Herrn Prof. Dr. *F. Wessely* danken wir für die Anregung und Förderung dieser Arbeit.