

Prom. Nr. 2000

**Die Synthese
einiger tuberkulostatisch wirksamer
Derivate der p-Aminosalicylsäure**

VON DER
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN
HOCHSCHULE IN ZÜRICH

ZUR ERLANGUNG
DER WÜRDE EINES DOKTORS DER
TECHNISCHEN WISSENSCHAFTEN

GENEHMIGTE
PROMOTIONSARBEIT

VORGELEGT VON
MAX A. FLURY
dipl. Ing.-Chem. ETH
von Balsthal (Sol.)

Referent: Herr Prof. Dr. J. Büchi
Korreferent: Herr Prof. Dr. Pl. A. Plattner

Juris-Verlag, Zürich
1951

Meinen lieben Eltern
gewidmet

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung	1
B. Allgemeiner Teil	2
1. Die Tuberkulose als Infektionskrankheit	2
2. Der Verlauf der Krankheit	4
3. Der Erreger	6
4. Allgemeine Chemotherapie der Tuberkulose	15
5. Die p-Aminosalicylsäure und ihre Derivate	32
C. Spezieller Teil	53
1. Arbeitsplan	53
2. Herstellung der p-Nitrosalicylsäure und des p-Nitro-acetyl-salicylsäurechlorides als Ausgangsprodukte	60
3. Derivate der p-Aminosalicylsäure	66
a) Substitution der Carboxylgruppe	66
b) Ersatz der Hydroxylgruppe	67
c) Substitution der Aminogruppe	69
d) Substitution der Carboxyl- und der Hydroxylgruppe	75
e) Andere Körperklassen	77
D. Experimenteller Teil	79
1. Herstellung der Ausgangsprodukte	79
a) p-Nitrosalicylsäure nach Borsche	79
b) p-Nitro-o-chlor-benzoesäure nach Ullmann und Uzbachian	81
c) p-Nitrosalicylsäure aus p-Nitro-o-chlor-benzoesäure nach Ullmann und Wagner	83
d) p-Nitrosalicylsäure aus p-Nitro-o-amino-benzoesäure nach Albert und Linnel	83
e) p-Nitro-acetyl-salicylsäurechlorid aus p-Nitrosalicylsäure	84

	Seite
2. Derivate der p-Aminosalicylsäure	85
a) p-Amino-benzolsulfosäureamido-p-aminosalicyl- säure-amid	85
b) p-Amino-o-chlor-benzoesäure-äthylester	86
c) p-Amino-o-merkapto-benzoesäure	87
d) 4-(Salicylamido)-2-oxy-benzoesäure	89
e) 4-(2-Butoxy-cinchonyl-amido)-2-oxy-benzoesäure	90
f) p-Allyl-thioharnstoff-salicylsäure	91
g) 4,5'-Azosalicylsäure	91
h) Versuch zur Darstellung von p,p'-Sulfonamido- azo-salicylsäure	93
i) p-Amino-o-butoxy-benzoesäure-diäthylamino- äthylester	94
k) p-Amino-benzolsulfosäure-diäthylamid	97
3. Pharmakologische Wirkung	100
a) Lokalanästhesie	100
b) Tuberkulostatische Wirkung	101
E. Zusammenfassung	107

A. Einleitung

Seit einigen Jahren nimmt die p-Aminosalicylsäure in der Therapie der Tuberkulose eine äusserst wichtige Stellung ein. Nachdem es Lehmann gelungen war, die p-Aminosalicylsäure (PAS) zur praktischen Verwendung zu bringen, war dieser Substanz ein Erfolg beschieden, wie er in der Geschichte der Chemotherapie bisher nur selten vorgekommen ist. Es steht heute fest, dass die PAS bei der Behandlung der verschiedenen Tuberkulosearten die grössten Erfolge der bisher entwickelten Chemotherapeutica zu verzeichnen hat. Aus diesem Grunde ist p-Aminosalicylsäure nicht nur in der physiologischen, sondern auch in der chemischen Forschung in den Mittelpunkt gerückt.

Die vorliegende Arbeit hat den Zweck, einen Einblick in den heutigen Stand der Tuberkuloseforschung zu geben, sowie einen Beitrag zur Weiterentwicklung der p-Aminosalicylsäure zu liefern. Wir haben die bisher hergestellten Derivate zusammengestellt, um uns dadurch einen Einblick in die Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und tuberkulostatischer Wirkung verschaffen zu können. Auf Grund der Resultate der Literaturstudiums, wurden einige neue Derivate hergestellt und der tuberkulostatischen Prüfung zugeführt.

B. Allgemeiner Teil.

1.) Die Tuberkulose als Infektionskrankheit:

Es liegt in der Natur einer jeden lebendigen Substanz, sich durch entsprechende Reaktionen veränderten Lebensbedingungen irgendwelcher Art anzupassen und das natürliche Gleichgewicht wieder herzustellen. Dieses Erkenntnis lässt sich besonders gut auf Gleichgewichtsstörungen anwenden, welche durch eine Krankheit hervorgerufen werden. Gelingt die Wiederherstellung dieses Gleichgewichtes nicht, so kommt es zu einer stark verminderten Lebensfähigkeit, dem Leiden, oder zum Tode. Ist hingegen der Körper stark genug die Krankheitsursache zu überwinden, sei es durch Erholung des betreffenden Organs, oder durch die Wiederherstellung der normalen Funktionen der Körperzellen und schliesslich der Bekämpfung oder Abtötung des Krankheitserregers, so kann das Gleichgewicht der Lebensreaktionen wiederum eintreten und der ursprüngliche, gesunde Zustand zurückgewonnen werden. In der Natur ist jedoch dieser Prozess nicht vollständig reversibel. Der Organismus weist in den meisten Fällen eine Schwächung auf, sei es durch die Minderleistung irgendeines Organs oder durch die Ueberempfindlichkeit gegenüber gewissen Einflüssen. Nur in den seltenen Fällen der nachfolgenden Immunität bedeutet die Krankheit einen Vorteil für den Organismus.

Man kann sich den Ablauf einer Infektionskrankheit allgemein in drei Stufen vorstellen:

1. Der Primärinfekt, d.h. das Eindringen des Erregers in den menschlichen oder tierischen Körper und die Entwicklung von Krankheiterscheinungen an der Stelle des Eintrittes.
2. Das Sekundärstadium, welches durch die Ausbreitung des Erregers auf dem Lymph- oder Blutwege und das Auftreten heftiger Allgemeinreaktionen gekennzeichnet ist.
3. Das Tertiärstadium, das sich nach dem Ablauf der stürmischen Generalisation des Sekundärstadiums als chronische Erkrankung der einzelnen Organe herausbildet.

Der Erreger tritt meist in den unvorbereiteten Körper ein und kann sich demzufolge während einer gewissen Zeit in der näheren Umgebung der Eintrittsstelle vermehren. Durch die ausgeschiedenen Stoffwechselprodukte der pathogenen Keime wird das Gewebe gereizt, und der Körper beginnt seine Abwehrkräfte zu mobilisieren. Dieses Stadium ist meistens begleitet von einer starken Ueberempfindlichkeit mit Fieberreaktionen, Allergie genannt. Die Allergie ist die Voraussetzung für die Bildung von Abwehrkräften. Im Blutserum bilden sich Gegengifte, die Antitoxine, und auch die Gewebezellen selbst erhalten eine verstärkte Abwehrfähigkeit gegenüber den Krankheitserregern. Dadurch werden die Lebensbedingungen für den Erreger gestört, er verliert die Fähigkeit sich zu vermehren und kann schliesslich durch die weissen Blutkörperchen vernichtet werden.

Der Verlauf der Krankheit ist abhängig von dem Wechselspiel zwischen Ueberempfindlichkeit- Allergie einerseits und den gebildeten Abwehrstoffen andererseits.

Bei der Tuberkulose liegen die Verhältnisse zwar ähnlich, doch um sehr viel komplizierter. Der Erreger setzt den Abwehrkräften des Körpers den grössten Widerstand entgegen, wobei er durch seine äussere Form, seinen Aufbau und seine Lebensweise weitgehend unterstützt wird. Auch das Eindringen des Tuberkelbazillus hat eine Veränderung im Körper zur Folge, welche Unstimmigkeit nur so gering sein kann, um lange Zeit unentdeckt zu bleiben. Auch das Wechselspiel zwischen Allergie und Immunität kann bei dieser Krankheit so stark variieren, dass von einem typischen Verlauf nicht gesprochen werden kann und somit die Heilung unendlich erschwert wird.

2.) Der Verlauf der Krankheit:

Die Eintrittspforte des Tuberkelbazillus in den menschlichen Körper ist die Lunge. Die Ansteckung, d.h. die Uebertragung von einem Menschen auf den anderen erfolgt in den meisten Fällen durch Tröpfchen, indem durch Husten oder allein durch Sprechen Bazillen verstreut werden. Ist nun einmal ein Tuberkelbazillus übertragen, so findet er rasch seinen Weg durch die Luftröhrenäste bis in die feinsten Verzweigungen der Lunge, den Alveolen oder Lungenbläschen. Durch den Bazillus als Fremdkörper entsteht ein entzündlicher Reiz, und es kommt zur Ausschüttung von Blut und Blutwasser, also zu einer Art Lungen-

entzündung kleinsten Ausmasses. Ein Teil der Bazillen gelangt auf dem Lymphwege in die nächstgelegene Lymphzentralstelle, die Hylusdrüse, welche sich **dadurch** entzündet und vergrössert. Die Veränderungen, die **durch ein** solches Primärstadium im Lungengewebe erzeugt werden, zeigen sich auf dem Schirnbild als eine Verschattung der Lunge. Birgt nun der Körper genügend Abwehrkräfte in sich, so werden die infektiösen Stellen eingeschlossen und mit Kalk abgekapselt, was auch in den weitaus meisten Fällen erfolgt. Es finden sich bei sehr vielen Menschen solche Kalkherde, in welchen die Bakterien noch Jahrzehnte lang ihre Infektionskraft bewahren können. Deshalb finden wir sehr oft im Alter bei Abnahme der körperlichen Resistenz das Auftreten von Alterstuberkulose. Bei keiner Infektionskrankheit spielt die körperliche Konstitution und die geistige Verfassung im Moment der Ansteckung und im Verlaufe der Krankheit eine derart grosse Rolle wie bei der Tuberkulose. Die Hauptarbeit der Bekämpfung des Bazillus muss vom Körper selbst ausgeführt werden, und die heute zur Verfügung stehenden chemischen Mittel dienen lediglich dazu, diesen eingeleiteten Heilungsprozess energisch zu unterstützen und zu beschleunigen.

Ist nun der Körper von vornherein geschwächt und bringt er die notwendigen Abwehrkräfte nicht auf, so kann sich die Tuberkulose auf zwei verschiedene Arten weiterentwickeln. Entweder der Herd bleibt in der Lunge lokalisiert und es kommt zur Kavernenbildung, welches die betreffenden Menschen zu Bazillenstreuern macht, oder es entsteht die miliare Aussaat. Ueberall im ganzen Körper können auf dem

Lymph- oder Blutweg die Bazillen verstreut werden und bilden die charakteristischen, hirse Kornähnlichen Knötchen. Auf diese Weise entsteht auch die tuberkulöse Hirnhautentzündung, indem auf dem Blutwege Tuberkelbazillen in die Meningen gelangen, und dort eine eitrige Entzündung hervorrufen. Die Blutbahnen werden meistens zum Transportmittel; sie tragen die Bazillen in die Drüsen, Nieren, Augen, Knochen und Haut.

3.) Der Erreger:

Um eine Krankheit wirksam bekämpfen zu können ist es notwendig, dass wir den Erreger kennen und über seinen Aufbau, Stoffwechsel und Resistenzvermögen möglichst genau orientiert sind. Je genauer wir dies sind, umso mannigfacher können wir die Therapie gestalten. Diese Erkenntnis gilt nicht nur für den Mediziner, sondern auch für alle Wissenschaftler, die an der Ausarbeitung eines wirksamen Chemotherapeuticums beteiligt sind.

Der Tuberkelbazillus ist ein gerades, bisweilen leicht gekrümmtes Stäbchen von 1,5 - 3 μ . Demzufolge ist er noch bedeutend kleiner als ein rotes Blutkörperchen. Neben seiner spezifisch schweren Färbbarkeit ist dies der Grund, dass derselbe so lange unentdeckt bleiben konnte. Der Bazillus liegt einzeln oder in Bündeln, bisweilen in zopfartiger Anordnung vor. Der Tuberkelbazillus ist ausserordentlich widerstandsfähig und ausgezeichnet durch eine grosse Säure- und Alkoholfestigkeit, was ihn in der Färbbarkeit von anderen Bakterien unterscheidet. Der Bazillus erträgt Tempe-

raturunterschiede von -10 bis $+80^{\circ}$. An lichtarmen, nicht allzu trockenen Orten, wie Bettstellen, Bodenritzen usw. wurden Bazillen gefunden, die während einer Zeitspanne von zehn Monaten ihre Infektionskraft bewahrt haben. Der grösste Feind des Tuberkelbazillus ist das Licht, mit seiner ultravioletten Komponente. Durch direktes Sonnenlicht wird er in wenigen Minuten, durch diffuses Tageslicht erst in einigen Tagen abgetötet. Ausserhalb des menschlichen oder tierischen Körpers kann sich der Tuberkelbazillus nicht vermehren, er ist demzufolge ein obligater Parasit. Auf künstlichen Nährböden wächst er nur bei Körpertemperatur und Sauerstoffzufuhr.

Beim Tuberkuloseerreger kann man verschiedene Typen unterscheiden. Als Haupttyp ist der typus humanus oder menschliche Typus zu nennen, als zweiter der typus bovinus, der Erreger der Rindertuberkulose. Die Nachprüfung der verschiedenen Tuberkuloseformen beim Menschen ergab, dass die Lungentuberkulosen in den meisten Fällen durch den typus humanus erzeugt werden und bisher Mischinfektionen nur sehr selten nachgewiesen werden konnten. Die Hauttuberkulose besteht fast zur Hälfte der Fälle aus dem bovinen Typus. Ebenso sind ca. zwei Fünftel der Bauchfelletuberkulosen und ungefähr die Hälfte der Drüsentuberkulosen auf den Rinderbazillus zurückzuführen. Diese hohe Beteiligung bei den ausserhalb der Lunge vorkommenden Tuberkuloseformen ist hauptsächlich dadurch zu erklären, dass der typus bovinus ziemlich gutartig ist und somit die Lungeninfektionen besser überwunden werden können als beim typus humanus. Als zweite Ursache kann man die verschiedene Aufnahmeform des bovinen typus in den menschlichen

Körper erwählen. Der Rinderbazillus wird hauptsächlich durch die Nahrung aufgenommen und es besteht somit keine Möglichkeit für denselben, sich in den Alveolen festzusetzen. Die Bazillen werden vielmehr von den Tonsillen aufgenommen oder kommen infolge ihrer Säurefestigkeit unbeschädigt durch den Magen, so dass als zweite Eintrittspforte der Darm in Frage kommt. Dadurch lässt sich die hohe Beteiligung der Rinderbazillen an Bauchfell- und Drüsentuberkulosen erklären. Der aviäre Typus (Geflügeltuberkulose) sei hier nur erwähnt, da derselbe bei der menschlichen Tuberkulose nur eine sehr untergeordnete Rolle spielt.

Ueber die genauen Unterschiede der morphologischen Struktur der verschiedenen Tuberkelbazillen besteht heute noch weitgehende Unklarheit, obschon mit zahlreichen Methoden versucht wurde die einzelnen Bazillentypen zu charakterisieren. Zum Beispiel soll der Zusatz von Malachitgrün zum Nährboden einer Tuberkelkultur das Wachstum des bovinen Typus vollständig unterbinden, während der humane Typus, wenn auch spärlich, noch weiterwächst (1). Ebenfalls ist es möglich, bei der Zucht der verschiedenen Bakterientypen auf Sautonmilieu, einen Unterschied im p_H -Wert des Nährbodens festzustellen (2).

Harpth (3) konnte mit Hilfe von Agglutinationsmethoden humane, bovine, aviäre und verschiedene sapro-

-
- (1) W. Strehl, Tbc-Bazillenwachstum und Typenbestimmung auf vitaminhaltigem, synthetischen Agarnährboden. Dissert. Giessen, (1940)
- (2) J. Bance, C.r.Soc.Biol., 135, 1468, (1941)
- (3) H. Harpth, Z.Tbk., 85, 221, (1940)

phytäre Stämme serologisch einigermaßen differenzieren, während Schaefer (4) die Typendifferenzierung zu einer hauptsächlich serologischen Methode ausgearbeitet hat. Dabei wird die Proteidfraktion der einzelnen Typen als spezifisch angesehen und es war in diesem Zusammenhang auch möglich, gewisse typenspezifische Antitoxine aus dem Blutserum von Tuberkulosekranken zu isolieren.

Ueber den Stoffwechsel der Tuberkelbazillen wurde ebenfalls schon sehr viel gearbeitet, doch sind auch hier die Untersuchungen durch die Schwierigkeiten in den Arbeitsmethoden erst im Anfangsstadium begriffen. So wurde festgestellt, dass Tuberkelbazillen im Stande sind Fettsäuren zu oxydieren (5).

Bernheim wie auch Bloch (6,7) fanden, dass sich das Oxydationsvermögen der Tuberkelbazillen auch auf Salicylat und verschiedene Aldehyde erstreckt. Weiter ist noch der Nachweis von p-Aminobenzoesäure (8), sowie verschiedener Fermente in Mycobakterien (9) von Interesse (10).

Im Zusammenhang mit der chemotherapeutischen Forschung wurde vielfach untersucht, ob die Tuberkelbazillen

-
- (4) W.Schaefer, C.r.Soc.Biol., 131, 909, (1939)
 - (5) C.Cutinelli, Boll.Ist.Sieroter.Milan., 19, (1940)
 - (6) F.Bernheim, J.Bact., 41, 387, (1941)
 - (7) H.Bloch, Z.Path.Bakt., 7, 589, (1944)
 - (8) T.Ekstrand, Nature, 156, 476, (1944)
 - (9) F.Roulet, H.Wydler, E.Zeller, Helv., 29, 1973, (1946)
 - (10) F.Roulet u. E.Zeller, Exper., 1, 122, (1945)

zu ihrem Leben spezielle, zusätzliche Wachstoffsstoffe benötigen, und man stellte fest, dass dies nicht unbedingt der Fall zu sein braucht, da die Tuberkelbazillen ohne weiteres auf einfachen Nährsubstraten, welche ganz aus synthetischen Bestandteilen zusammengesetzt sind, wohl gedeihen (11).

Trotzdem können Zusätze wie Serum (12), Caseinhydrolysat, Phenylalanin, Tryptophan, Serin und Asparagin (13), ferner Ovo-Lecithin und Aetherextrakte aus Eidotterlipoiden (14) das Wachstum zum Teil ganz beträchtlich fördern.

Ueber die Virulenzunterschiede der verschiedenen Bakterienstämme besteht bis heute noch ziemliche Unklarheit. Es scheint festzustehen, dass die aus Lupusfällen isolierten Bakterien nur schwach virulent sind (15). Interessant dürfte noch die Beobachtung von Lehmann (16) sein, der feststellte, dass nur pathogene Stämme die Fähigkeit besitzen, Salicylate zu oxydieren. Dubos entdeckte ferner, dass die Bazillen, die virulent sind, immer genau gerichtet sind und Verbände bilden in Form von Zöpfen und Stricken. Diese Beobachtung ist nun in neuester Zeit zu einem morphologischen Mittel zur Unterscheidung von virulenten und avirulenten Stämmen ausgearbeitet worden.

(11) H.Bloch, H.Erlenmeyer u. H.P.Furger, Helv., 27,414,(1944)

(12) W.Pagel, J.Path.a.Bact., 50,111,(1940)

(13) P.D.Crimm u. V.F.Martos, A.Rev.Tbc., 49,94,(1944)

(14) M.Finlayson, J.Path.a.Bact., 58,88,(1946)

(15) A.Saenz u. G.Canetti, Ann.Inst.Pasteur, 65,13,(1940)

(16) J.Lehmann, Lancet, 1,14,(1946)

Man kann immerhin mit ziemlicher Sicherheit annehmen, dass die Virulenz der Bakterien zum Teil abhängig ist von ihrem chemischen Aufbau, indem Bestandteile aus der Phosphatidfraktion aus dem Extrakt von Bakterienkörpern im Gewebe ganz analoge Veränderungen erzeugen, wie bei der Infektion durch lebende Bazillen. So kann man zum Beispiel, mit den aus den Bazillenkörpern isolierten Phthionsäure ähnlichen, α, α -disubstituierten höheren Fettsäuren, solche typischen Läsionen erzeugen (17). Diese Untersuchungen und die Fortschritte in der Chemotherapie der Tuberkulose steigerten das Interesse für die morphologischen Befunde und den chemischen Aufbau des Tuberkelbazillus.

Die grosse Säurefestigkeit und die Resistenz des Bazillus wird nach der Ansicht älterer Autoren einer den Tuberkelbazillus einschliessenden Lipoid- oder Wachshülle zugeschrieben. Diese sehr einleuchtende Erklärung konnte bis heute weder bewiesen noch widerlegt werden. Auch die neuen Methoden der Elektronenmikroskopie konnten diese Widersprüche nicht klären (18,19,20). Diese Vergrösserungstechnik liess lediglich drei neue Strukturelemente entdecken, welche als Granula, Mikrogranula und Vakuolen bezeichnet wurden. Die Granula sind identisch mit den im gewöhnlichen Mikroskop sichtbaren, nach Ziel-Nielson färbbaren roten Körnchen. Es scheint jedoch, dass die Säurefestigkeit in direktem Zusammenhang mit dem Lipoidgehalt des Bazillenkörpers steht, indem

(17) Bun-Hoi u. R.Ratsimamanga, C.r.Soc.Biol., 138,278,(1944)

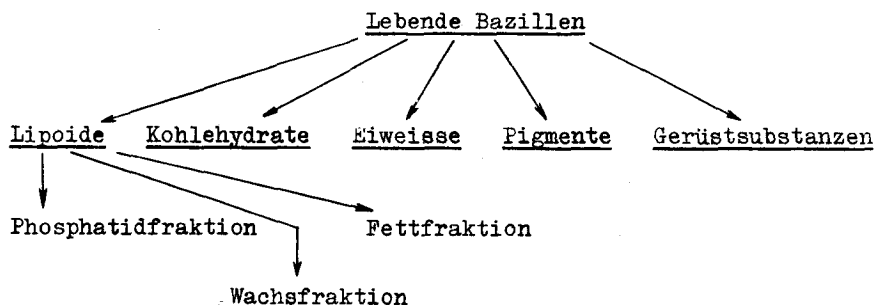
(18) A.Lembke u. H.Ruska, Klin.Wochenschr., 19,217,(1940)

(19) E.Wessel, Z.Tbk., 88,22,(1942)

(20) P.Torch, Z.Hyg., 124,513,(1942)

man bei entfetteten Bazillen keine Säurefestigkeit mehr vorfindet (21). Auch sind nur intakte Bazillen säurefest, da durch mechanische Verletzung der Bakterienkörper diese Eigenschaft verschwindet (22).

Die grundlegenden Arbeiten über die chemische Zusammensetzung des Tuberkelbazillus wurden von Anderson (23) ausgeführt (24). Die Resultate sind in chemischer und physiologischer Hinsicht überraschend. Die Bazillen produzieren nicht nur eine ganze Reihe neuartiger Stoffe, welche bisher unbekannt waren, sondern setzen dieselben auch in ganz ungewohnter Weise zusammen. Es würde zu weit führen, die einzelnen Fraktionen genau zu besprechen. Es soll hier lediglich eine allgemeine Uebersicht der bisher gefundenen Resultate gegeben werden. Durch Extraktion wurden die Bazillenkörper in folgende Fraktionen getrennt:



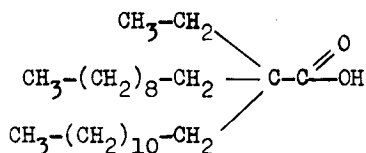
(21) H.J.Bekker u. A.Tasman, Arch.Hyg., 127,7,(1942)

(22) D.Yegian u. K.R.Porter, J.Bact., 48,83,(1944)

(23) R.J.Anderson, Chem.Reviews, 29,225,(1941)

(24) F.Roulet u. M.Brenner, Z.f.ges.Tub.fschg., 56,193,(1943)

Charakteristisch für den Tuberkelbazillus ist wie schon erwähnt, sein hoher Gehalt an Lipoiden, welcher Wert zwischen 25 und 30% variiert. Als interessanteste Fraktion, welche die für den Tuberkelbazillus typischen gewebeverändernden Bestandteile enthält, ist die Phosphatidfraktion zu nennen. Die wasserlöslichen Hydrolysenprodukte der Phosphatide ergab für alle untersuchten Bazillentypen mehr oder weniger dieselben Resultate, während die gleichzeitig freigesetzten Fettsäuren von Fall zu Fall verschiedenen Waren. Die gesättigten festen Fettsäuren enthalten viel Palmitin-, Stearin-, Hexacosan- und Oel-säure. Die flüssigen Fettsäuren sind ein Gemenge von Säuren mit verzweigten Ketten, deren Kohlenstoffgehalt zwischen 20 und 30 Kohlenstoffatomen variiert. Die interessantesten Vertreter dieser Fraktion sind die Tuberkulostearin- und die Phthionsäure. Velick (25) hat die Konstitution der Tuberkulostearinsäure weitgehend aufgeklärt und dieselbe als d,l,-10-Methylstearinsäure beschrieben. Die genaue Konstitution der Phthionsäure ist noch unangeklärt, doch vermutet man, dass dieselbe eine stereoisomere Verbindung zur Cerotinsäure ist. Am wahrscheinlichsten ist Phthionsäure identisch mit der noch unbekanntem Aethyl-n-decyl-n-dodecyl-essigsäure (26).



(25) S.F.Velick, J. Biol. Chem., 154, 497, (1944)

(26) A. Robinson, J. chem. Soc., 1940, 505

Da es bisher noch nicht gelungen ist, die Phthionsäure synthetisch herzustellen, wurde mit ähnlich konstituierten Verbindungen die Wirkung auf das Gewebe untersucht (27) und man fand, dass auch diese Substanzen tuberkulöse Granulationserscheinungen im Gewebe hervorrufen können.

Als typischer Vertreter der Wachsfraction der humanen und bovinen Tuberkelbazillen konnte Phthiocerol isoliert werden (28). Auch hier wurde die Konstitution weitgehend aufgeklärt, wobei für Phthiocerol die Summenformel $C_{34}H_{67}(OH)_2OCH_3$ oder $C_{35}H_{69}(OH)_2OCH_3$ angegeben wird (29). Weiter wurde eine linksdrehende Säure, Mykolsäure genannt, von der Summenformel $C_{30}H_{60}O_2$ aufgefunden (30).

Aus dem acetonlöslichen Fett der humanen Tuberkelbazillen wurde das Pigment Phthiocol isoliert (31). Es ist möglich, dass dieses Pigment im Tuberkelbazillus als Spaltprodukt des Vitamin K entsteht. In grosser Verdünnung ist Phthiocol ein schwacher Wuchsstoff, in grösserer Konzentration ein Hemmstoff für Tuberkelbazillen (32). In neuester Zeit wurde von Bloch bei der Extraktion mit Petroläther eine Substanz gefunden, welche für die Lebensfähigkeit des Bazillus nicht notwendig ist, jedoch sehr stark toxisch wirkt. Diese

(27) Buu-Hoi u. Cagniant, Zschr.f.physiol.chem., 279,76,(1943)

(28) H.Reeves u. R.J.Anderson, J.am.chem.Soc., 59,858,(1937)

(29) L.Ginger u. R.J.Anderson, J.Biol.Chem., 157,213,(1945)

(30) " " " " " " , 157,203,(1945)

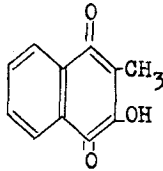
(31) R.J.Anderson, J.Biol.Chem., 101,499,773, 103,405,(1933)

(32) T.Wagner-Jauregg, Allg.Grlgen.d.Chemoth.v.Inf.kr.,

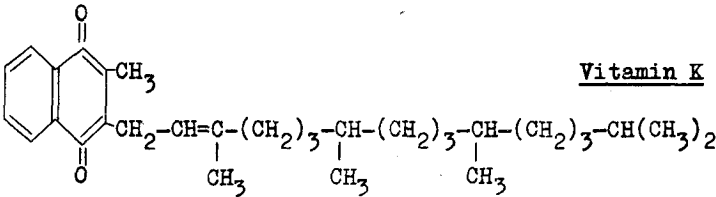
Pharmazie, 6. Beiheft, 1. Erg. Bd.

(1948)

toxische Substanz bildet ein Wachs mit einem Schmelzpunkt von 30° . 1 bis 3 γ genügen um eine Maus zu töten. Dubos hat diese, in äusserst kleinen Mengen vorkommende Substanz, den Cord-Faktor genannt.



Phthiocol



Vitamin K

4.) Allgemeine Chemotherapie der Tuberkulose:

Obschon man in diesem Falle nicht von Chemotherapie im heutigen Sinne sprechen darf, wurden im Altertum chemische Mittel zur Bekämpfung der Schwindsucht eingesetzt. Neben allen möglichen natürlichen Heilmitteln sind es die Arsenverbindungen, die eine gewisse Rolle spielten. Diese wurden ungefähr im 11. Jahrhundert abgelöst durch Jodverbindungen, welche später wiederum durch Kreosot, Guajakol und andere Phenol-

körper ersetzt wurden. Verglichen mit der toxischen Wirkung, die diese Stoffe auf den menschlichen Körper ausüben, kann von einer wirksamen Beeinflussung der Schwindsucht nicht die Rede sein. Erst nach den grundlegenden Arbeiten über die Chemotherapie von Ehrlich und der Entdeckung des Tuberkuloseerregers durch Robert Koch, konnte mit den Versuchen zu einer spezifischen, gegen den Tuberkelbazillus gerichteten Chemotherapie, begonnen werden. Man suchte ein Mittel zu finden, dessen Eigenschaften für den Bazillus toxischer sind als für den Patienten (Chemotherapeutischer Index). Die in diesen Zeitpunkt fallende Entwicklung der Teer- und Farbstoffindustrie führte zur Untersuchung einer ganzen Reihe dieser Stoffe zu chemotherapeutischen Zwecken. Man stellte wohl fest, dass Stoffe wie Acridinorange oder Methylenblau in die Erregerzellen eindringen, jedoch nur ganz geringe bakterio-statische Wirkung aufwiesen. Mit der Entdeckung der organischen Goldverbindungen zur Tuberkulosebekämpfung wurden erstmals Mittel gefunden, welche während einer relativ langen Zeit in Verwendung geblieben sind (33). Man ist sich heute über die Wirkung dieser Goldverbindungen im Klaren, und man stellte fest, dass das Gold selbst gegen das *Mycobacterium tuberculosis* vollkommen unwirksam ist (34). Die Wirkung des Goldes, wie auch der übrigen Schwermetallsalze, beruht auf einer Art Reiztherapie. Das Gewebe um die infektiöse Stelle wird gereizt, was eine Erhöhung der Sekretion und somit der Abkapselungsgeschwindigkeit bedeutet. Der Bakterienkörper selbst wird jedoch nicht

(33) R.Koch, Dtsch.med.Wschr., 16, 757, (1890)

(34) R.Frigge, Klin.Wschr., 19, 1273, (1940), 20, 633, (1941)

angegriffen. Alle in die Therapie eingeführten Verbindungen enthalten das Gold in seiner einwertigen Form. Das dreiwertige Metall wird im Organismus rasch zur einwertigen Stufe reduziert.

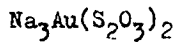
Eine aus der anorganischen Chemie stammende Verbindung wurde im Jahre 1924 durch Möllgaard (35) unter dem Namen Sanocrysin (siehe Tabelle 1), in die Chemotherapie der Tuberkulose eingeführt. Dieses Produkt erfüllte die hohen darauf gesetzten Erwartungen nicht (36). Es wird heute noch bei Hühner-Spirochaetose, sowie bei Rekurrens der Maus mit Erfolg verwendet. Das amerikanische Myochrysin, ein Calcium- oder Natrium-auro-thiomalat, ist ebenfalls nur noch in sehr geringem Masse in der Therapie der Tuberkulose anzutreffen. Das Krysolgan mit einem Goldgehalt von 50% wirkt im Reagenzglas noch in einer Verdünnung von $1 \cdot 10^{-6}$ hemmend auf den Tuberkelbazillus, ist jedoch sehr stark licht- und luftempfindlich. Das 1926 von Feldt hergestellte Solganal ist in chemischer und bakteriostatischer Hinsicht dem Krysolgan sehr nahe verwandt. Die Carboxylgruppe ist hier durch einen Sulfonsäurerest ersetzt. Zur Erhöhung der Wasserlöslichkeit wurde die Aminogruppe mit einem Methylensulfosäurerest verbunden. Es sei schon hier auf eine gewisse Ähnlichkeit von Krysolgan mit der später besprochenen p-Aminosalicylsäure hingewiesen. Zur intramuskulären Behandlung ist das Solganal B, eine Aurothioglucose mit 50% Gold, im Handel. Dieses Präparat wird vom Gewebe reizlos verarbeitet. Auch Tryphal, ein Benzimidazolyl-

(35) H.Möllgaard, Chemoth. of Tbc., Copenhagen, Busck (1924)

(36) C.C.Okele u. H.J.Parish, Brit.J.exp.Path., 12, 136, (1931)

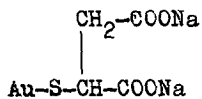
Tabelle 1

=====

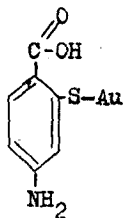


37% Au

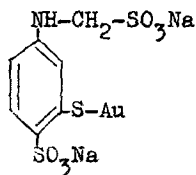
Sanocrysin



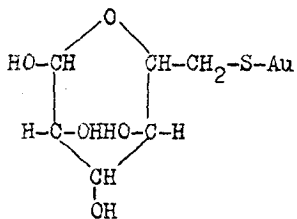
Myochrysin



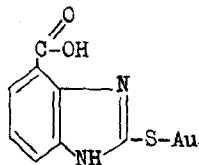
Krysolgan



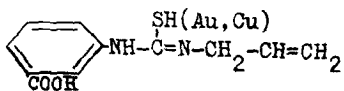
Solganal



Solganal B

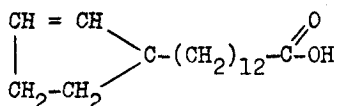


Triphal

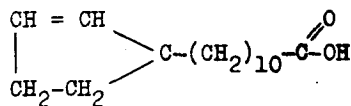


derivat, ist wie alle bisher angeführten Verbindungen heute gänzlich verschwunden. Einzig Ebesal, der Höchster-Farbwerke, wird heute noch für eine ganz beschränkte Anzahl von Indikationen in der Chemotherapie der Tuberkulose verwendet.

Wie im Abschnitt über den Aufbau des Tuberkelbazillus ausgeführt wurde, ist der Lipoidgehalt dieses Bazillus charakteristisch für sein Verhalten und seine Eigenschaften. Man sah deshalb die Ursache der Misserfolge in der Chemotherapie der Tuberkulose darin, dass die bisher angewandten chemischen Verbindungen nicht im Stande waren, diese vermeintliche Lipoidhülle anzugreifen. Aus diesem Grunde wurde nach einem lipophilen Mittel gesucht, um damit die Wachsschicht des *Mycobacterium tuberculosis* zu durchdringen und dasselbe für die natürlichen Abwehrstoffe des Organismus besser zugänglich zu machen. Den Ausgangspunkt für diese chemische Forschung bildete das Chaulmoograöl, welches bei der Bekämpfung der Lepra wertvolle Dienste geleistet hat. Durch die morphologischen Aehnlichkeiten und den ganz analogen chemischen Aufbau der Lepra- und Tuberkelbakterien begründet, lag es nahe, das Chaulmoograöl, sowie die darin enthaltenen Cyclofettsäuren (Chaulmoograensäure und Hydnocarpussäure) in die Chemotherapie der Tuberkulose einzuführen.



Chaulmoograensäure



Hydnocarpussäure

Tatsächlich konnte eine, wenn auch ziemlich schwache Wirkung dieser Substanz festgestellt werden (37,38). Ebenso erzielte man bei der Verwendung des Glycerin-phosphorsäureesters der Chaulmoograsäure keine wesentlichen Erfolge (39). Im Verlaufe dieser Untersuchungen wurde eine grosse Zahl ähnlicher Fettsäuren und Derivate hergestellt, über deren Wirkungsmechanismus (40) man sich bis heute noch kein abschliessendes Urteil bilden konnte. Franke und Mitarbeiter (41) konnten durch die Resultate der im Warburg-Apparat ausgeführten Versuche zeigen, dass höhere Fettsäuren mit einer oder mehreren Doppelbindungen eine starke Hemmung der Bakterienatmung bewirken. Man nimmt an, dass diese Fettsäuren die eigenen Fettsäuren des Bakteriums verdrängen können und es so zu einer Schädigung desselben kommt (42,43). Es dürfte nicht ausgeschlossen sein, auch in dieser Forschungsrichtung zu etwelchen Erfolgen zu gelangen.

Als in der Mitte der Dreissigerjahre die Erfolgsreihe der Sulfonamide bei der Streptokokken- und Staphylokokkeninfektion begann, stellte man ebenfalls Versuche

(37) R.Frigge, Biochemie der Tuberkulose, Naturforschung und Medizin in Deutschland, 43, (1948), Fiat-Reviews, Wiesbaden.

(38) B.Roger, Lancet, 254, 515, (1948)

(39) Th.Wagner-Jauregg, Pharmazie, 6. Beih., 1. Erg. Bd., (1948)

(40) Th.Wagner-Jauregg, Z. Hyg., 124, 311, (1942)

(41) F.Franke, Li-Tsoun-lee, B.Kibat, Biochem. Zschr., 319, 263, (1949)

(42) E.Küster u. T.Wagner-Jauregg, Biochem. Zschr., 316, 256, (1944)

(43) H.Arnold, B., 71, 1505, (1938); 73, 90, (1940)

an, mit Hilfe der Sulfonamide das Wachstum des Tuberkelbazillus zu beeinflussen. Es wurde auch wirklich eine hemmende Wirkung festgestellt (44). Die Versuche zur Behandlung der experimentellen Tuberkulose am Versuchstier haben jedoch gezeigt, dass die Sulfonamide keine nennenswerte Beeinflussung der Krankheit herbeiführen, auch nicht bei Verabfolgung grösserer Dosen. Aus den Arbeiten von Steenken u. Heisse (45) ist ersichtlich, dass die Sulfonamidwirkung durch p-Aminobenzoessäure aufgehoben wird. Man nimmt deshalb an, dass p-Aminobenzoessäure für den Tuberkelbazillus einen Metaboliten darstellt und von demselben selbst gebildet werden kann (46). Von den hin und wieder verwendeten Sulfonamiden sei hier das von der Gesellschaft für chemische Industrie Basel hergestellte Sulfathiazol sowie zwei Vertreter der Sulfathiodiazolreihe (47) angeführt, mit welchen Produkten man bei Meerschweinchen-Tuberkulose etwelche Wirkung erzielen kann. Erwähnenswert ist bei der letzten in Tabelle 2 angeführten Verbindung die Einführung des aliphatischen Restes des iso-Hydnocarpussäure in den Sulfathiodiazolkern.

Die Weiterentwicklung der Sulfonamide führte zu den ersten chemischen Substanzen, welche nicht nur in vitro und in vivo stark bakterio-statisch wirken, sondern auch

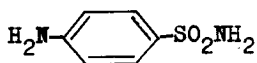
(44) H.R.Rich u. R.H.Follis, Bull.J.Hopkins.Hosp., 62,77,(1938)

(45) W.Steenken u. E.H.Heisse, Proc.Soc.Exp.a.Med., 52,180,(1943)

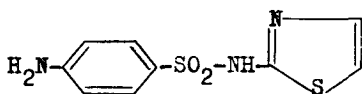
(46) M.Landy, N.W.Larkum u. E.J.Ostwald, Proc.Soc.Exp.Biol.a. Med., 52,338,(1943)

(47) H.Arnold, B., 75,87,(1942)

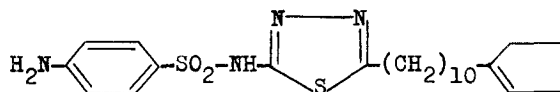
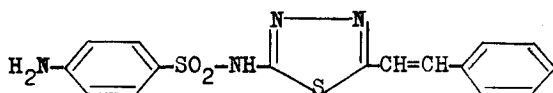
Tabelle 2



Sulfanilamid



Cibazol



eine sichtbare Beeinflussung des klinischen Bildes aufweisen (48).

Die erste Substanz, welche aus dieser Entwicklung entstand, war das 4,4'-Diamino-diphenylsulfon (DDS) (siehe Tabelle 3). Leider erwies sich diese Substanz infolge ihrer hohen Toxizität in der Klinik als unbrauchbar. Die Acetylierung der beiden Aminogruppen setzte die Toxizität herab, und man erhielt das 4,4'-Diacetyl-diphenylsulfon, welches unter dem Namen Rodilone (Fa. Rhône-Poulenc) in den Handel gebracht wurde. Diese Verbindung besitzt bezüglich ihrer bakteriosta-

(48) H.W.Tytler, Tubercle, London, 25, 95, (1944). 26, 23, (1945)

tischen Wirkung die gleichen Eigenschaften wie das DDS, jedoch hat sich dieselbe wegen der Erzeugung starker Cyanosen nicht bewährt.

Die Versuche gut wasserlösliche Produkte zu erhalten mit gleichzeitiger Herabsetzung der Toxizität führte zu der Blockierung beider Aminogruppen mit Mono- oder Polysacchariden (49). Diese wasserlöslichen Derivate können jedoch nur parenteral verabreicht werden, da im Magen das toxische Diamino-diphenylsulfon abgespalten wird. So wurde ein Digalaktose-Derivat hergestellt, wie auch das Natriumsalz des Didextrosesulfonates, welches heute unter dem Namen Promin bei chemotherapeutischen Tuberkulose-Tierversuchen als Standardsubstanz dient (50). Die Ergebnisse der mit Promin ausgeführten Versuche (51,52,53) zeigen, dass diese Substanz nicht im Stande ist eine Heilung zu bewirken, den Verlauf der Krankheit jedoch äusserst günstig beeinflusst. (Siehe Tabelle 3). Die Verwendung von Zucker als Trägersubstanzen hat den Nachteil, dass mit dem chemischen Mittel dem Tuberkelbazillus gleichzeitig eine energiereiche Substanz zugeführt wird, welche die Bakterienatmung unterstützen kann und der bakterio-statischen Wirkung entgegenwirkt. Aus diesem Grunde wurde von Felder (54) das Sulfon-Cilag entwickelt, ein Sulfon-N-Acetat, welches bezüglich seiner Toxizität und therapeu-

(49) R.Tschesche u. K.Bohle, Oest.Pat.Ann.Sch.113623/129, (1937)

(50) W.Feldmann u. H.Hinshaw, Am.Rev.Tbc., 51,582, (1945)

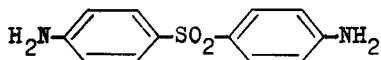
(51) E.Medlar u. K.Sasano, Am.Rev.Tbc., 47,618, (1943)

(52) W.Feldmann u. H.Hinshaw, AmRev,Tbc., 51,269(1945)

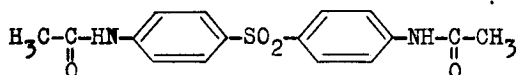
(53) W.Steenken, F.Heisse u. F.Wolinsky, Am.Rev.Tbc., 48,453, (1943)

(54) E.Felder (Cilag), Schwed.Pat., 125 071, (1947)

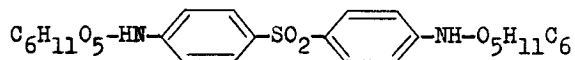
Tabelle 3



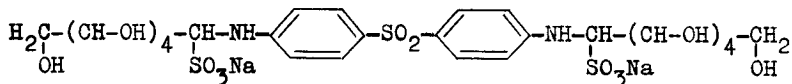
DDS



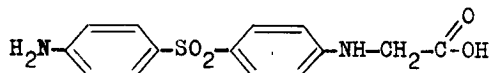
Rodilone



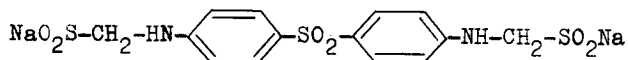
Tibatlin



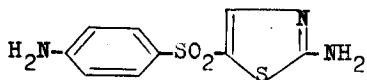
Promin



Sulfon-Cilag



Diason



Promizol

tischen Wirkung gute Erfolge zu verzeichnen hat. Das Kondensationsprodukt von p,p'-Diamino-diphenylsulfon mit 2 Mol

Formaldehydbisulfit wurde sowohl für Hauttuberkulose als auch bei der Behandlung experimenteller Tuberkulose in die Therapie eingeführt (55,56). Das 4,2'-Diaminophenyl-5'-thiazolyl-sulfon, Promizol genannt, erreicht nicht die relativ hohe Toxizität des Promin, jedoch scheint seine Wirkung etwas geringer zu sein (57).

Aus den Versuchen mit den Sulfonkörpern hat man gelernt, dass Resultate, welche in vitro und in vivo erhalten wurden, nicht ohne Weiteres auf den Menschen übertragen werden können. Während die Verbindungen auf synthetischen Nährböden nur eine geringe Hemmung aufweisen, zeigen sie im Tierversuch eine hohe therapeutische Wirkung, die jedoch im gleichen Verhältnis nicht auf den Menschen übertragen werden durfte (58). Weiter ist es interessant festzustellen, dass die ersten chemischen Substanzen, welche sich bis heute in der Klinik der Tuberkulose behaupten konnten, extrem gut wasserlöslich sind. Man hat somit gezeigt, dass zur Bekämpfung des Mycobacterium tuberculosis die Lipoidhülle nicht notwendigerweise geschädigt werden muss. Man neigt vielmehr zur Ansicht, dass chemische Substanzen durch den Stoffwechsel, also vom Bakterium selbst aufgenommen werden müssen, um durch ihre antagonistische Wirkung eine Störung der Lebensbedingungen und somit eine Schädigung hervorzurufen.

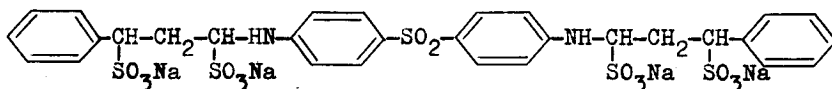
(55) W.Feldmann, H.Hinshaw u. H.Moses, Arch.Path., 36,46,(1943)

(56) F.Callomon, Am.Rev.Tbc., 47,97,(1943)

(57) H.Feldmann u. F.Mann, Am.Rev.Tbc., 50,418,(1944)

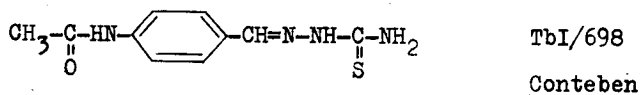
(58) H.Corper u. M.Lohn, J.am.med.Ass., 127,1043,(1945)

Eine Verbindung aus der Reihe der Sulfone, welche ziemlich viel später erschienen ist und sich auch durch die chemische Konstitution unterscheidet, ist das Sulphetron (59).



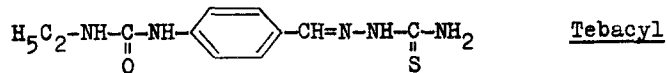
Da das Produkt eine relativ geringe Toxizität besitzt und ziemlich gut verträglich ist, nimmt es bestimmt neben den übrigen Sulfonen einen Platz in der Therapie ein. Wie die klinischen Erfahrungen lehren, ist Sulphetron bei Lupus und in frühen Fällen von Lungentuberkulose mit guter Wirksamkeit zu verwenden (60).

Gleichzeitig mit der Entwicklung der Sulfone wurde die hemmende Wirkung durch Thiosemicarbazone, Aldehyde und Ketone auf den Tuberkelbazillus erkannt (61). Das von Domagk (62) hergestellte TbI/698, ein p-Acetamidobenzaldehyd-thiosemicarbazone, scheint sich besonders bei Lupus-Fällen zu bewähren (63,64).



-
- (59) G.Brownlee, F.Green u. M.Woodbine, Brit.J.Pharmacol., 3, 21, (1948)
- (60) F.Anderson u. S.J.Strachan, Lancet, 1948, 132
- (61) G.Domagk, R.Behnisch u. F.Mietsch, Naturw., 10, 315, (1946)
- (62) G.Domagk, Beitr.z.Klin.d.Tbc., 101, 365, (1948)
- (63) W.Schmidt u. H.Hahn, Dtsch.med.Wschr., 74, 118, (1949)
- (64) H.Aue u. H.Saame, Dtsch.med.Wschr., 74, 215, (1949)

Die neuesten Versuchsergebnisse haben jedoch gezeigt, dass die Anwendungsmöglichkeiten des Tb I durch seine toxischen Nebenwirkungen, wie Leukozytose und Anaemie, nur bedingt sind. Ebenso scheint Tb I keinen Einfluss auf Meningitis tuberculosa und Miliartuberkulose zu haben. Als Weiterentwicklung des Conteben wurde von der Fa. Wander ein Aethylureido-benzaldehyd-thiosemicarbazon, Tebacyl genannt, herausgebracht. Ueber die klinischen Erfahrungen dieses neusten Mittels können jedoch noch keine Angaben gemacht werden.



Die Idee, Tuberkulosebazillen mit anderen saprophytären oder auch pathogenen Keimen zu bekämpfen, ist nicht neu. Wir finden schon am Ende des 19. Jahrhunderts Angaben über die Heilungsmöglichkeit von Lungentuberkulose durch Einatmen von zerstäubten Kulturen eines nicht pathogenen Bakterienstammes (65). Es wurden nun auch im Laufe der Jahrzehnte ungezählte, antibiotische Stoffe aus Pilzen und Bakterien isoliert, welche alle mehr oder weniger eine bakterio-statische, bisweilen geringe bakterizide Wirkung aufweisen. Doch keinem dieser Stoffe war dieselbe unerhörte Erfolgssreihe beschieden, wie dies bei Streptomycin der Fall war. Es gelang Waksman (66) die Isolierung einer hoch wirksamen

(65) A. Catani, Z.f.med.Wissensch., 23, 513, (1885)

(66) A. Schatz, E. Bugie u. S.A. Waksman, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 55, 66, (1944)

Substanz aus dem Pilz Streptomyces griseus, einem Stamm der Actinomyceten oder Strahlenpilze. Mit diesem Mittel ist nun zum ersten Mal ein Chemotherapeuticum entstanden, welches erlaubt, nicht nur in Fällen gewöhnlicher Tuberkulose (67), sondern auch bei Miliartuberkulose und Meningitis entscheidend einzugreifen. In Streptomycin ist wiederum ein extrem gut wasserlösliches Chemotherapeuticum gefunden worden, das gar keine oder nur sehr geringe Lipoidaffinität besitzt (68,69).

Die chemische Konstitution von Streptomycin ist aufgeklärt und der chemisch neuartige Bestandteil dieser Verbindung, das Streptidin, synthetisch hergestellt (70).

Wie aus der Konstitutionsformel von Streptomycin ersichtlich ist, handelt es sich bei dieser Verbindung um eine Base.

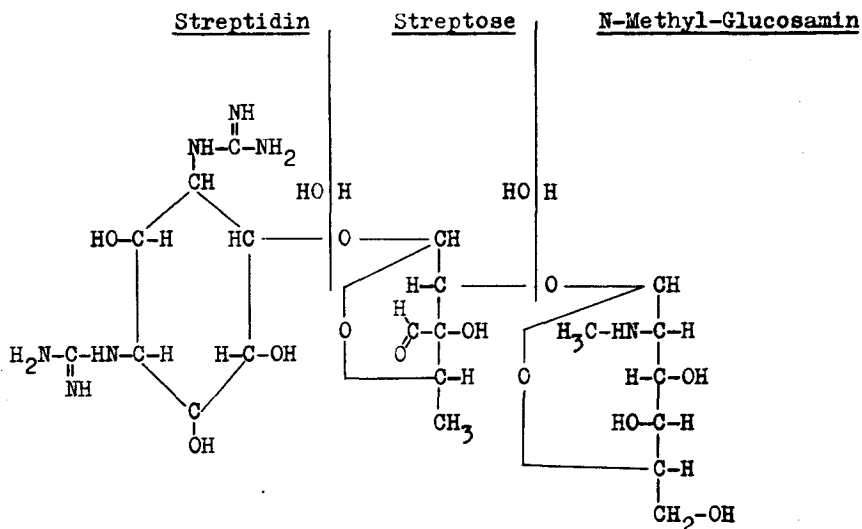
Streptomycin ist gewissermassen ein Trisacharid mit drei basischen Gruppen. Der eigentliche Baustein von Streptomycin, das Streptidin, ist allerdings kein reduzierter Zucker, sondern eine Cyclose, deren Struktur dem 1,3-Diguanido-2,4,5,6-tetraoxy-cyclohexan entspricht. Man erkennt beim Streptidin den gleichen sterischen Bau wie beim natürlichen Inosit. Das zweite Glied von Streptomycin wird gebildet durch die Streptose. Dabei ist der basische Teil vom 4 C-Atom aus zum ersten C-Atom, zugleich erste Aldehydgruppe der Methylpentose in der Art der Glucoside verbunden. Diese Bindung geht ganz analog

(67) W.Feldmann u. H.Hinshaw, Proc.Staff.Meet.Mayo.Clin.,
19,593,(1943)

(68) H.Loeschke, Dtsch.med.Wschr., 73,406,(1948)

(69) W.Löffler u. S.Moeschlin, Schw.med.Wschr., 15,365,(1950)

(70) M.Wolfram u. W.Polglase, J.chem.Soc., 70,1672,(1948)



den Bindungen bei den Di- und Polysacchariden. Im Gegensatz zu einer normalen Methylpentose besitzt die Streptose eine mittelständige Aldehydgruppe. Als drittes Glied schliesst sich ein Aminozucker an, ein N-Methyl-Glucosamin.

Ueber den genauen Wirkungsmechanismus des Streptomycin auf den Tuberkelbazillus ist man sich noch nicht im Klaren. Alle bekannten Stoffwechseleigentümlichkeiten geben keine sicheren Anhaltspunkte für das Verhalten im menschlichen Körper. Da im Tuberkelbazillus Inosit vorkommt (69), könnte an Stelle des natürlichen Inositrestes derjenige des Streptomycin gebunden werden, und so die Stoffwechselstörung hervorrufen (70). Man findet jedoch auch die Auffassung, dass

(69) R.J.Anderson, Fortschr.d.chem.org.Naturstoffe, **3**,149,(1939)

(70) H.V.Euler u. H.Jaarma, Ark.f.Kemie och Geol., **25**, (7)1,(1947)

die Streptose der verantwortliche Teil für die Wirkung sei (71), da Streptidin und N-Methyl-Glucosamin allein keine Hemmwirkung aufweisen. Es wurde gezeigt, dass Streptomycin eine ganz spezifische Wirkung gegenüber der Phenoloxydation der Tuberkelbazillen besitzt. Aus diesen Gründen war es auch nicht möglich, bis jetzt einen speziellen Streptomycin-Antagonisten zu finden. Die neueste Ansicht über die bakteriostatische Wirkung von Streptomycin nimmt eine Hemmung der Diaminooxydase an (72).

Obschon der Wert von Streptomycin, mit seiner hohen baktericiden Wirkung unanfechtbar ist, besitzt dieses Mittel einige nicht ausser Acht zu lassende Nebenwirkungen. Der toxische Effekt von Streptomycin beim Menschen besteht in den bisweilen schweren vestibulären Störungen. Bei Tagesdosen von 1 - 2g tritt diese Störung am Ende der 4. Woche ein, und verlangt somit eine sofortige Aussetzung der Kur. Ein weiterer Nachteil, der die Anwendung von Streptomycin nur bedingt erlaubt, ist die Resistenz der Tuberkelbazillen gegenüber diesem Mittel (73). Man stellte fest, dass nach 120 Tagen in 45% von allen Fällen eine Streptomycinresistenz zu beobachten war (74). Es scheint so zu sein, dass die Grosszahl der vorhandenen Tuberkelbazillen in ihrer Weiterentwicklung gehemmt wird, aber eine geringe Anzahl sich als

(71) F.Gray, J.Bact., 54,6,(1947)

(72) F.A.Zeller, C.A.Owen u. A.G.Karlson, Pros.Staff.Meet.Mayo. Clin., 24,490,(1949)

(73) M.Finland, J.am.med.Assoc., 132,16,(1946)

(74) B.Blattberg u. H.Einhorn, J.Labor.a.clin.Med., 34,358,(1949)

resistent erweisen. Diese Bakterien können sich nun ungehindert weiterentwickeln, so dass sich im Laufe von 3 - 4 Monaten ein vollkommen Streptomycinresistenter-Stamm herangebildet hat, auf welchen Streptomycin, auch bei Fortdauer der Behandlung, keinen Einfluss mehr hat. Diese Nachteile können, jedoch nur zum Teil, durch die Hydrierung der mittelständigen Aldehydgruppe der Streptose zum Dihydrostreptomycin behoben werden (75).

Durch die Erkenntnis dieser Tatsachen und dem Wissen um den Wirkungsmechanismus der einzelnen Chemotherapeutica, ist man heute allgemein zur Kombinationstherapie übergegangen. Man kombiniert allgemein Streptomycin mit einem zweiten tuberkulostatischen Mittel, um die verschiedenen Angriffspunkte der Chemotherapeutica auszunützen, wodurch man auch gleichzeitig eine Gewähr gegen das Auftreten der Streptomycinresistenz erhält (76). Die heute allgemein gebräuchlichste Kombination, ist diejenige des Streptomycin mit p-Aminosalicylsäure.

Wie aus den neusten klinischen Versuchen zu entnehmen ist, sind die bisher erzielten Erfolge aussichtsreich, wurde doch mit dieser Therapie bei der bis jetzt mit ziemlicher Sicherheit ad exitum verlaufenden Meningitis tuberculosa deutliche Rückbildungen der meningitischen Erscheinungen bewirkt.

(75) B.Freedlander u. F.French, Am.Rev.Tbc., 56, 373, (1947)

(76) W.Löffler u. S.Moeschlin, Schw.med.Wschr., 15, 365, (1950)

5.) Die p-Aminosalicylsäure und ihre Derivate:

Die richtungsgebenden Versuche, die später das Auffinden der p-Aminosalicylsäure ermöglichten, wurden von Bernheim (77) durchgeführt. Wie aus seinen Arbeiten ersichtlich ist, steigern die Salicylsäure und die Benzoesäure den Sauerstoffverbrauch und die Kohlendioxydabgabe der Tuberkelbazillen, während 3- und 4-Oxybenzoesäuren diese Wirkung nicht zeigen. Es stellte sich heraus, dass die Salicyl- und Benzoesäure beim Stoffwechsel oxydiert werden, und es wurde angenommen, dass ähnliche Konfigurationen im allgemeinen Stoffwechsel möglicherweise eine Rolle spielen. Diese Versuche wurden von Lehmann (78) weitergeführt, und es war ihm möglich, die vorher gemachten Beobachtungen zu bestätigen. Er nannte sie Salicylateffekt. In der Hoffnung eine Verbindung zu finden, die der Salicylsäure entgegenwirkt, wurden verschiedene Derivate der Salicylsäure untersucht, wobei die grosse Hemmkraft von p-Aminosalicylsäure (PAS) gegenüber Tuberkelbazillen erkannt wurde. PAS hatte keinen Einfluss auf die Wirkung der Salicylsäure, jedoch erwies sie sich, ganz analog den Sulfonamiden, als ein Antagonist zur p-Aminobenzoesäure(79).

Die tuberkulostatische Wirkung von PAS in

-
- (77) F. Bernheim, Science, 92, 204, (1940). J. Bact., 41, 387, (1941);
J. Biol. Chem., 143, 383, (1942)
- (78) J. Lehmann, Lancet, 250, 15, (1946). Nordisk. Med., 33, 140, (1947)
- (79) G. P. Youmans, G. W. Raleigh u. A. S. Youmans, J. Bact., 54, 409,
(1946)

vitro variiert zwischen 0,02 und 0,156 mg% (80), und deren allgemeinen bakteriziden Kraft ausser auf Tuberkelbazillen ist sehr gering. Die Wirkung der PAS ist spezifisch an das Vorhandensein der zur Carboxylgruppe para-ständigen Aminogruppe gebunden, eine Eigenschaft, welche allgemein bei aromatischen Aminen bezüglich Konstitution und tuberkulostatischer Wirkung festgestellt werden kann. Bei der PAS ist jedoch nicht nur die Aminogruppe, sondern auch die zum Carboxylrest ortho-ständige Oxygruppe massgebend für die bakteriostatische Wirkung. Bei Verschluss der Oxygruppe wird die Hemmkraft 10 mal kleiner als bei Substitution der Aminogruppe (81). Es scheint deshalb, dass auch die Phenolfunktion der PAS nicht zu vernachlässigen ist.

Ueber die chemischen Veränderungen der p-Aminosalicylsäure im menschlichen Organismus ist bis jetzt noch sehr wenig bekannt. Der Hauptteil der PAS wird in ihrer N-acetylierten Form ausgeschieden (82). Ebenfalls wurden andere Möglichkeiten, wie Dekarboxylierung, Oxydation zu Oxybenzoesäure und Paarung mit Glykokoll oder Glukuronsäure ins Auge gefasst, doch konnten diese Vermutungen bisher nicht bestätigt werden.

Obschon mit PAS in der Klinik ausserordentlich gute Erfolge zu verzeichnen sind, müssen ihrer Anwendung trotzdem gewisse Vorbehalte gemacht werden. Betrachtet man die Wirkung von PAS in vitro, so steht sie auf gleicher Höhe

(80) G.Youmans, Quart.Bull.Nw.Univ.Med.School, 20,420,(1946)

(81) J.Pisu u. G.F.Coduri, Minerva Pediatzico, 2,32,(1950)

(82) A.Venkataraman, P.Venkataraman u. H.Lewis, J.Biol.Chem., 173,641,(1948)

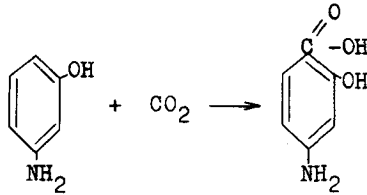
mit Streptomycin. In vivo hingegen sinkt die bakterio-
statische Kraft schnell ab, so dass man gezwungen ist, die 20 -
30 fache Menge zu applizieren, um denselben Effekt wie bei
Streptomycin zu erhalten. Durch den chronischen Verlauf der
Tuberkulose bedingt, sind hohe Dosen von PAS während einer
langen Zeit notwendig, so dass es trotz der geringen Toxi-
zität von PAS zu Störungen, hauptsächlich der Verdauungsor-
gane, kommt. p-Aminosalicylsäure steht heute trotz ihrer
bisweilen unangenehmen Nebenerscheinungen in Kombination
mit Streptomycin an erster Stelle der Tuberkulose-therapie (83).

Von den spezifisch chemischen Eigenschaften
ist hauptsächlich die grosse Fähigkeit zur Dekarboxylierung
zu erwähnen. Diese Erscheinung tritt schon unter gewissen Be-
dingungen bei Temperaturen von 80° ein, wobei kleine p_H-Werte
beschleunigend wirken. Durch diesen Umstand bedingt, wird
das chemische Arbeiten mit dieser Substanz äusserst erschwert.
Auch kann der Schmelzpunkt dadurch nicht eindeutig festgelegt
werden und variiert je nach der Art der Bestimmung zwischen
130° und 160°. Lange Zeit verunmöglichten die Schwierigkeiten
der synthetischen Herstellung der p-Aminosalicylsäure eine
medikamentöse Behandlung grösseren Ausmasses. Durch die An-
wendung der Kolb'schen Synthese (84) auf m-Aminophenol wurde
ein einfacher, zur grosstechnischen Fabrikation geeigneter
Weg gefunden.

(83) W.Löffler u. S.Moeschlin, Schw.med.Wschr., 15,365,(1950)

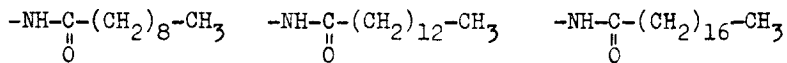
(84) J.T.Sheehan, J.am.chem.Soc., 70,1665,(1948)

H.Erlenmeyer, D.Prijs, E.Sorkin u. E.Suter, Helv., 31,988,
(1948)

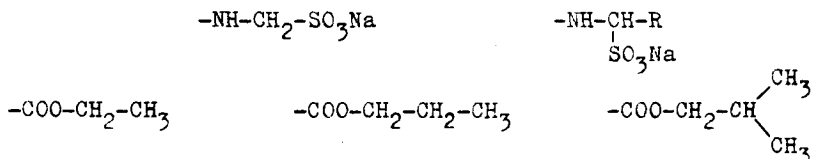


Um eventuell eine Wirkungsverstärkung oder zumindest Ausschaltung der eingangs erwähnten unangenehmen Nebenwirkungen der p-Aminosalicylsäure zu erhalten, wurden über 90 Derivate der PAS hergestellt. Wie aus den nachfolgenden Zusammenstellungen ersichtlich ist, zeigen alle bisher synthetisierten Substitutionsprodukte der Carboxyl-, Oxy- und Aminogruppe eine geringere Wirkung als die Grundsubstanz selbst. Allerdings wurden diese Derivate nur in vitro untersucht, wobei jedoch eine bessere Wirkung in vivo nicht ausgeschlossen wäre, doch muss man bei ungenügender bakteriostatischen Hemmkraft auf einen Tierversuch verzichten.

Nur einige wenige Verbindungen besitzen ungefähr dieselbe Wirkung wie PAS selbst. Es sind dies aliphatische Stickstoffderivate mit langen Ketten:



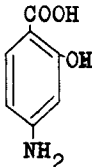
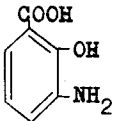
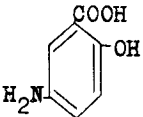
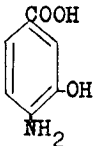
sowie einige N-Methylsulfosäuren und Ester:



Der tuberkulostatische Wert einer Substanz ist in den folgenden Tabellen als negativer Logarithmus der grössten noch wirksamen, molaren Verdünnung angegeben, doch ist dieser Wert nicht von allen Derivaten bekannt.

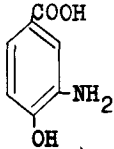
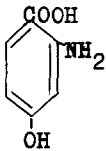
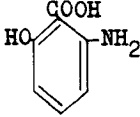
Tabelle 4
=====

PAS und Isomere

		- log mol. Konz.
	4-Amino-2-oxy-benzoessäure (85,88,89)	5,4
	3-Amino-2-oxy-benzoessäure (85)	2,5
	5-Amino-2-oxy-benzoessäure (86)	2,3
	4-Amino-3-oxy-benzoessäure (87)	3,6

(85) J. Lehmann, Nordisk. Med., 33, 140, (1947)

(86) G. Youmans, G. Raleigh u. A. Youmans, J. Bact., 54, 409, (1947)

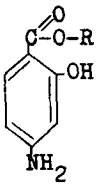
		- log mol. Konz
	3-Amino-4-oxy-benzoessäure (87)	3,8
	2-Amino-4-oxy-benzoessäure (87)	2,6
	6-Amino-2-oxy-benzoessäure (90)	

Nur die p-Amino-o-oxy-benzoessäure (PAS) besitzt eine tuberkulostatische Aktivität, wogegen sämtliche stellungsisomeren Produkte unwirksam sind. Man sieht daraus, dass die o-Stellung der Oxygruppe, und die p-Stellung der Aminogruppe, von ausschlaggebender Wichtigkeit ist. Wie schon erwähnt, spielen die Salicylsäure und die p-Amino-benzoesäure beim Stoffwechsel des Tuberkelbazillus eine gewisse Rolle, wodurch eine absolut festgelegte Stellung der Oxy- und Aminogruppe begründet werden kann.

- (87) C.L.Goodacre, B.W.Mitchell u. A.S.Seymour, Quart.J.of.Pharm. and Pharmacol., 21,301,(1948)
- (88) H.Erlenmeyer, B.Prijs, E.Sorkin u. E.Suter, Helv., 31,988, (1948)
- (89) D.Drain, B.Martin u. D.Mitchell, J.chem.Soc., 1949, 1498
- (90) C.Ferreira u. M.Taglianetti, Arquiv.biol.(S.Paulo), 33,119, (1949)

Tabelle 5

Ester der PAS

	- log	
	mol. Konz.	
R: —		
-CH ₃	(92)	3,5
-CH ₂ -CH ₃	(86)	4,0
-CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	(94)	3,3
-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	(94)	4,0
-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	(89)	
-CH ₂ -CH ₂ -OH	(93)	3,6
-CH(CH ₃) ₂	(94)	
-CH ₂ -CH(CH ₃) ₂	(87)	6,1
-CH ₂ -CH ₂ -N(C ₂ H ₅) ₂	(93)	

(91) R.Hirt u. H.Hurni, Helv., 32,378,(1949)

(92) B.Borsche, A., 390,18,(1912)

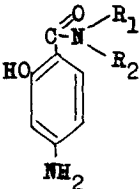
(93) D.Drain, C.Goodacre u. D.Seymour, J.of Pharm.a.Pharmacol.
1,784,(1949)

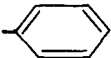
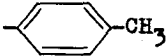

(94) A.Jensen, G.Rosdahl u. H.Jngvorsen, Act.Chim.Scand.,
2,220,(1948)

Die Wirkung der Ester der p-Amino-salicylsäure ist geringer als diejenige der freien Säure, doch scheinen immerhin verzweigte Ketten besser zu wirken als gerade. Die an den Estern beobachtete Wirkung dürfte auf die nach ihrer Verseifung im Organismus auftretende freie p-Amino-salicylsäure zurückzuführen sein.

Tabelle 6

Mono- und disubstituierte PAS-Amide

	<u>R₁:</u>	<u>R₂:</u>	- log mol. Konz.
	H	H	(87,94)2,1
	-CH ₃	H	(94)
	-C ₂ H ₅	H	(94)
	-n-C ₃ H ₇	H	(94)
	-i-C ₃ H ₇	H	(94)
	-n-C ₄ H ₉	H	(94)
	-i-C ₄ H ₉	H	(94)

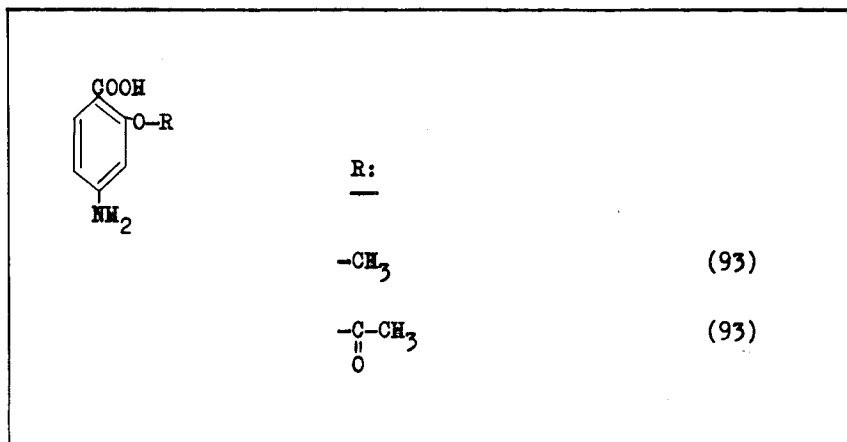
<u>R₁:</u>	<u>R₂:</u>	
$-\text{CH}_2-\text{COOH}$	H	(93)
$\begin{array}{c} -\text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$	H	(93)
$\begin{array}{c} -\text{CH}-\text{CH}_2-\text{COOH} \\ \\ \text{COOH} \end{array}$	H	(93)
	H	(93)
	H	(93)
$-\text{CH}_2-$ 	H	(94)
$-\text{NH}_2$	H	(89)
$-\text{C}_2\text{H}_5$	$-\text{C}_2\text{H}_5$	(94)
$-\text{n-C}_3\text{H}_7$	$-\text{n-C}_3\text{H}_7$	(94)

Da die mono- und disubstituierten Amide der p-Amino-salicylsäure auf ihre tuberkulostatische Wirkung nicht untersucht wurden, können wir über deren Anwendungsmöglichkeiten keine Aussagen machen.

Tabelle 7

=====

O-Derivate der PAS

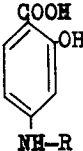


Da die Substitution der Hydroxylgruppe durch die chemischen Eigenschaften der PAS verunmöglicht wird, und die Synthese über die p-Nitro-salicylsäure ziemlich umständlich ist, wurden bisher nur die zwei oben angeführten Derivate mit unbekannter Wirkung hergestellt.

Bedeutend einfacher, und mit geringeren Schwierigkeiten als dies bei der Carboxyl- und Hydroxylgruppe der Fall ist, kann die Aminogruppe substituiert werden. Davon zeugt die grosse Anzahl der bisher dargestellten N-Derivate. Auch hier muss man feststellen, dass kein Derivat die Wirkung der freien Säure übertrifft.

Tabelle 8

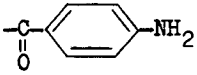
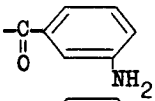
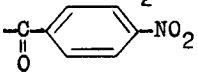
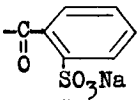
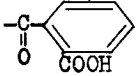
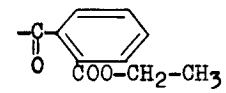
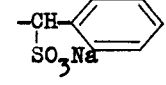
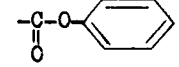
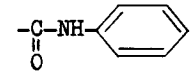
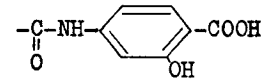
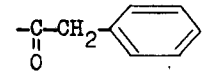
N-Derivate der PAS

	R:	- log	
		mol. Konz.	
	-OH	(95)	
	-CH ₃	(91)	4,4
	$\begin{array}{c} \text{-C-CH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	(89,87,86)	2,6
	$\begin{array}{c} \text{-C-NH}_2 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	(91)	3,2
	-CH ₂ -SO ₃ Na	(91)	5,1
	$\begin{array}{c} \text{-C-CH}_2\text{-CH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	(91)	4,2
	$\begin{array}{c} \text{-C-CH}_2\text{-SO}_3\text{Na} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	(91)	2,2
	$\begin{array}{c} \text{-C-O-CH}_2\text{-CH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	(91)	4,5
	$\begin{array}{c} \text{-C-CH}_2\text{-Cl} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	(90)	

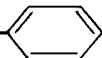

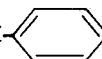
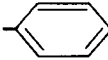
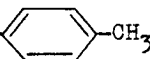
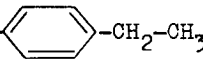
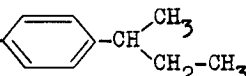
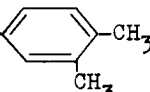
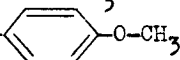
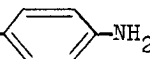

(95) R. Justoni, Il Pharm., 5, 165, (1950)

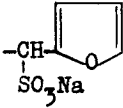
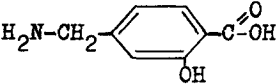
R: <hr style="width: 20px; margin: 0 auto;"/>	- log mol. Konz.
$\begin{array}{c} \text{---C---CH---Cl}_2 \\ \\ \text{O} \end{array}$	(90)
$\begin{array}{c} \text{---C---CH}_2\text{---CH}_2\text{---CH}_3 \\ \\ \text{O} \end{array}$	(91) 3,8
$\begin{array}{c} \text{---C---CH} \\ \quad \diagup \quad \diagdown \\ \text{O} \quad \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$	(91) 2,7
$\begin{array}{c} \text{---C---CH=CH---CH}_3 \\ \\ \text{O} \end{array}$	(91) 2,3
$\begin{array}{c} \text{---C---CH}_2\text{---CH}_2\text{---COOH} \\ \\ \text{O} \end{array}$	(91) 3,2
$\begin{array}{c} \text{---C---CH=CH---COOH} \\ \\ \text{O} \end{array}$	(91) 4,8
$\begin{array}{c} \text{---C---CH}_2\text{---N} \\ \quad \diagup \quad \diagdown \\ \text{O} \quad \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$	(91) 3,8
$\begin{array}{c} \text{---C---CH}_2\text{---CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3 \\ \\ \text{O} \end{array}$	(91) 3,8
$\begin{array}{c} \text{---C---CH}_2\text{---CH} \\ \quad \diagup \quad \diagdown \\ \text{O} \quad \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$	(91) 4,9
$\begin{array}{c} \text{---C---O---CH---CH}_3 \\ \quad \\ \text{O} \quad \text{CH}_3 \end{array}$	(91) 3,3
$\begin{array}{c} \text{---C---CH---N} \\ \quad \quad \diagup \quad \diagdown \\ \text{O} \quad \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$	(91) 3,1
$\begin{array}{c} \text{---C---CH} \\ \quad \diagup \quad \diagdown \\ \text{O} \quad \text{C}_2\text{H}_5 \quad \text{C}_2\text{H}_5 \end{array}$	(91) 4,3

R:		- log mol. Konz.
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ -\text{C}-\text{CH}-\text{N} \\ \parallel \quad \quad \diagdown \\ \text{O} \quad \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$	(91)	3,1
$\begin{array}{c} -\text{CH}-(\text{CHOH})_4-\text{CH}_2-\text{OH} \\ \\ \text{SO}_3\text{Na} \end{array}$	(91)	5,5
$\begin{array}{c} -\text{C}-(\text{CH}_2)_8-\text{CH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	(91)	5,6
$\begin{array}{c} -\text{C}-(\text{CH}_2)_{12}-\text{CH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	(91)	5,2
$\begin{array}{c} -\text{C}-(\text{CH}_2)_{16}-\text{CH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	(91)	5,1
$\begin{array}{c} -\text{C}-\text{O}-(\text{CH}_2)_{11}-\text{CH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	(91)	4,6
$-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$	(91)	3,6
$\begin{array}{c} -\text{C}-\text{C}_6\text{H}_5 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	(87)	3,4
$\begin{array}{c} -\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_5 \\ \\ \text{SO}_3\text{Na} \end{array}$	(91)	5,0
$\begin{array}{c} -\text{C}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{O}-\text{CH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	(91)	3,5
$\begin{array}{c} -\text{C}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	(91)	3,8
$\begin{array}{c} -\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{O}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{SO}_3\text{Na} \end{array}$	(91)	3,9

R: <hr style="width: 1em; margin: 0 auto;"/>	- log mol. Konz.
	(91) 3,1
	(91) 3,3
	(96)
	(91) 5,2
	(91) 4,0
	(91) 2,7
	(91) 5,5
	(91) 4,2
	(91) 3,8
	(91) 4,2
	(91) 3,2

(96) G.Rosdahl, Schwed.Pat. 125 453, (1950)

R: —		- log mol. Konz.
$\text{—C(=O)—CH}_2\text{—CH}_2\text{—}$ 	(91)	4,6
—C(=O)—CH=CH— 	(91)	2,6
$\text{—CH(SO}_3\text{Na)—CH=CH—}$ 	(91)	5,6
	(89)	
$\text{—SO}_2\text{—CH}_3$	(91)	2,5
$\text{—SO}_2\text{—}$ 	(91)	3,3
$\text{—SO}_2\text{—}$ 	(91)	3,5
$\text{—SO}_2\text{—}$ 	(91)	3,8
$\text{—SO}_2\text{—}$ 	(91)	3,6
$\text{—SO}_2\text{—}$ 	(91)	3,2
$\text{—SO}_2\text{—}$ 	(91)	3,8
$\text{—SO}_2\text{—CH}_2\text{—}$ 	(91)	2,2

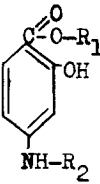

R:	- log mol. Konz.
	(91) 5,5
	(97)







Die hochmolekularen oder verzweigten, aliphatischen Fettsäurereste besitzen einen höheren Wirkungsindex als die kurzen, geraden Fettsäurereste. Diese Feststellung stimmt wiederum mit den Kenntnissen über die chemische Zusammensetzung und den Stoffwechsel des Tuberkelbazillus überein. Dieser kann selbst hochmolekulare, verzweigte Fettsäuren herstellen. Ebenso scheinen ungesättigte Substituenten geeigneter zu sein als gesättigte. Bei den aromatischen Derivaten kann eine phenolische Hydroxylgruppe die Wirkung erhöhen.

Tabelle 9

=====

Ester- und N-Derivate der PAS

	R ₁ :	R ₂ :	- log mol. Konz.
	-CH ₃		(89)

<u>R₁</u> :	<u>R₂</u> :		- log mol. Konz.
-CH ₂ -CH ₃	$\begin{array}{c} \text{-C-CH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	(91)	2,3
-CH ₂ -CH ₃	$\begin{array}{c} \text{-C-(CH}_2\text{)}_{16}\text{-CH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	(91)	2,0
-CH ₂ -CH ₃	$\begin{array}{c} \text{-C-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	(91)	2,3
-CH ₂ -CH ₃	$\begin{array}{c} \text{-C-CH=CH-COOH} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	(91)	2,7
-CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	$\begin{array}{c} \text{-C-CH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	(87)	5,2
-CH ₃	$\begin{array}{c} \text{-C-} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$ 	(87)	4,7
-CH ₃	-SO_2  -NH_2	(89)	
-CH ₃	-SO_2  $\text{-NH-CH}_2\text{-CH}_3$	(89)	
-CH ₂ -CH ₃	$\begin{array}{c} \text{-C-} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$ 	(91)	2,0
-CH ₂ -CH ₃	$\begin{array}{c} \text{-C-} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$ 	(91)	5,3
-CH ₂ -CH ₃	$\begin{array}{c} \text{-C-} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$ 	(98)	

(97) R.Kuhn, F.Zilliken u. H.Trischmann, B., 83,304,(1950)

(98) M.Viscontini u. J.Pudles, Helv., 33,591,(1950)

Tabelle 10
=====

N- und O-Derivate der PAS

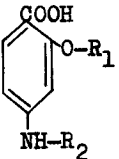


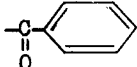
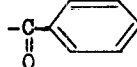
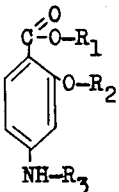


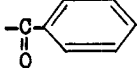
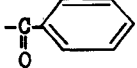
				- log mol. Konz.
	<u>R₁:</u>	<u>R₂:</u>		
			(87,89)	4,0
			(90)	

Tabelle 11
=====

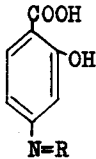

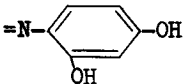
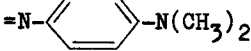
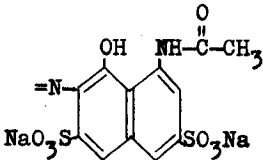
Amino-, Oxy- und Esterderivate der PAS

	<u>R₁:</u>	<u>R₂:</u>	<u>R₃:</u>		
	-CH ₃			(89)	
	-CH ₃			(86)	

Aus den vorstehenden Tabellen ist ersichtlich, dass die Substitution an mehr als einer der bisher erwähnten Stellen der p-Amino-salicylsäure, mit Ausnahme eines Acetyl- und Phthalyl-Derivates, die Wirkung beträchtlich herabsetzt. Von den verschiedenen Substituenten darf auf alle Fälle nur einer mit einem höheren Molekulargewicht sein, um noch irgendwelche Wirkung zu erzielen.

Tabelle 12
=====

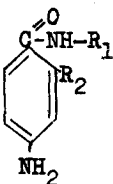
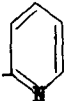


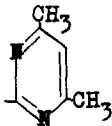
4-Azosalicylsäure-Derivate

			- log mol. Konz.
	R:		
		(91)	4,6
		(91)	2,5
		(91)	4,6
		(91)	2,0


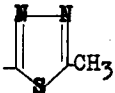

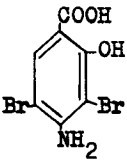
Die bisher untersuchten Azoderivate sind in ihrer Wirkung ungenügend, doch dürfte besonders in dieser Klasse die Wirkung in vivo besser sein als in vitro, da die Azoverbindung im Körper reduziert und somit das Molekül in zwei wirksame Hälften gespalten werden kann.

Tabelle 13
=====

o-Halogen-p-amino-benzoessäure-Derivate

	<u>R₁:</u>	<u>R₂:</u>	
	H	Cl	(99)
		Cl	(99)
		Cl	(99)
		Cl	(99)
		Cl	(99)

(99) K.A.Jensen u. J.Floug, Acta Chim.Scand., 3,13,(1949)

<u>R₁</u> :	<u>R₂</u> :	
	Br	(99)
	Br	(99)
H	J	(99)
	J	(99)
	Dibrom-PAS	(100)

Leider sind die Halogen substituierten Derivate der PAS noch nicht tuberkulostatisch untersucht, so dass man sich in dieser Richtung noch kein Urteil bilden kann.

(100) W.Borsche, A., 390,1,(1912)

C. S p e z i e l l e r T e i l

1.) Arbeitsplan:

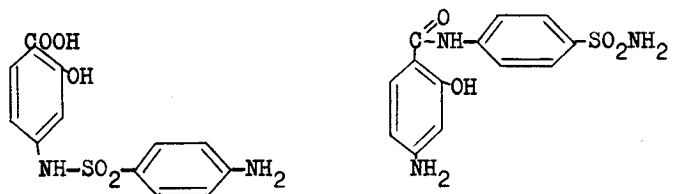
Auf Grund des Literaturstudiums ist ersichtlich, dass seit der Entdeckung der p-Aminosalicylsäure und deren Anwendungsmöglichkeit bei experimenteller Tuberkulose, sehr viele Derivate hergestellt worden sind. Aus den vorstehenden Tabellen ist zu entnehmen, dass es bisher nicht gelungen ist ein Produkt zu finden, welches die Wirksamkeit der PAS als Grundsubstanz übertrifft und deren unangenehmen Eigenschaften ausschalten könnte.

Wir haben uns deshalb die Aufgabe gestellt, verschiedene Körperklassen zu bearbeiten und einige neue Derivate herzustellen in der Hoffnung, es möge sich dadurch eine Möglichkeit für die Anwendung von p-Aminosalicylsäure-Derivate zeigen.

a) Substitution der Carboxylgruppe

Die chemische Kombination von p-Aminosalicylsäure mit Sulfanilamid wurde erst in neuester Zeit in die Chemotherapie eingeführt. Es zeigte sich, dass dieses Produkt, ein p-Aminosalicylsäure-p-benzolsulfosäure-amid (1), besonders bei Augenerkrankungen gute Dienste leistet.

(1) Ward, Blenkinsop, Co.Ltd., London.



Es schien uns nun interessant, ein analoges Produkt herzustellen, bei welchem wir die Aminogruppe frei liessen und den Sulfanilamidrest in die Carboxylgruppe einfuhrten.

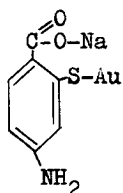
b) Substitution der Hydroxylgruppe

Das Halogen Chlor spielt in der allgemeinen Chemotherapie eine ausserordentlich wichtige Rolle, wobei Chlor als Substituent aromatischer Ringe häufig die chemotherapeutische Wirkung der Grundsubstanz beträchtlich steigern kann. Durch die von Wyss, Rubin u. Strandshov (2) erkannte antagonistische Wirkung von 4-Amino-2-chlor-benzoesäure gegenüber p-Aminobenzoesäure bestärkt, haben wir diese Säure, sowie deren Aethylester hergestellt, um diese Produkte auf ihre tuberkulostatische Wirkung hin untersuchen zu können.

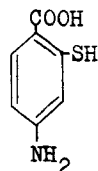


(2) O.Wyss, M.Rubin u. F.Strandshov, Proc.Soc.Exp.Biol.a.Med., 52,155,(1943)

Die 4-Amino-2-merkapto-benzoessäure ist vor Jahren im Zusammenhang mit der Synthese ihrer Gold- und Kupfersalze von Schering (3) hergestellt worden. Mit dem Ausscheiden des Krysolgan aus der Tuberkulose-Therapie, ist auch diese äusserst interessante Grundsubstanz gänzlich aus der Literatur verschwunden. Da Krysolgan nach Fischl und Schlossberger (4) eine gewisse Wirkung bei tuberkulösen Erkrankungen des Menschen zeigte, diese Wirkung aber nach heutiger Auffassung nicht auf die Goldkomponente zurückzuführen ist, war es von Interesse, die 4-Amino-2-merkapto-benzoessäure zu synthetisieren und der tuberkulostatischen Prüfung zuzuführen.



Krysolgan

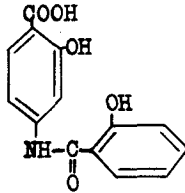


c) Substitution der Aminogruppe

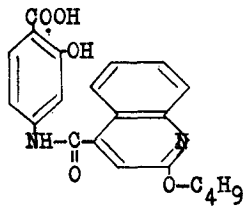
Salicylsäure beeinflusst bekanntlich den Stoffwechsel des Tuberkelbazillus (siehe Seite 32), so dass es uns interessant erschien, eine amidartige Verbindung von PAS mit Salicylsäure darzustellen.

(3) Schering, Chem.Fabr., D.R.P., 377 914, (1924)

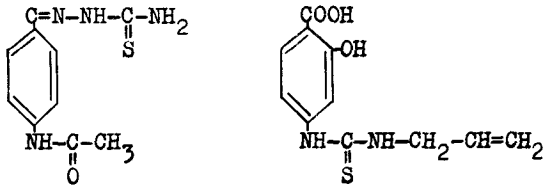
(4) V.Fischl u. H.Schlossberger, Handb.d.Chemoth., 732, (1934)



Ebenso erhofften wir eine Wirkungsverstärkung bei der Substitution der Aminogruppe mit der 2-Butoxychinolin-4-carbonsäure zu erhalten.



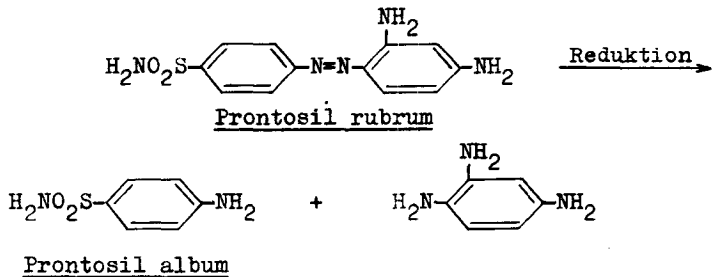
Die Wirkung des Thioharnstoff in vitro auf den Tuberkelbazillus ist schon sehr lange bekannt. Ebenfalls scheinen bei substituierten Alkylresten die ungesättigten eine grössere Wirkung zu haben als die gesättigten. Dadurch lässt sich auch die relativ gute Wirkung des Conteben (p-Acetamidobenzaldehyd-thiosemicarbazon) erklären, welches einen Thioharnstoff und eine Doppelbindung enthält. Aus diesen theoretischen Erwägungen haben wir versucht, mit p-Aminosalicylsäure ein analoges Produkt herzustellen. Es ist ersichtlich, dass dieses Produkt den theoretischen Anforderungen für die Wirksamkeit auf Tuberkelbazillen entspricht.



Conteben

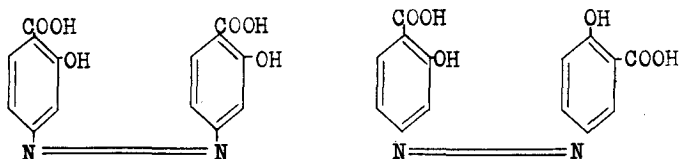
Die Salicylatkonfiguration ist unverändert, ebenso sind ein Thioharnstoff und ein ungesättigter Alkylrest vorhanden.

Der Grundgedanke für die Herstellung von Azoverbindungen war, ein Produkt zu erhalten, welches analog den Verhältnissen bei den Prontosilen (5), erst im menschlichen Körper in seine therapeutisch wirksame Form übergeführt wird.



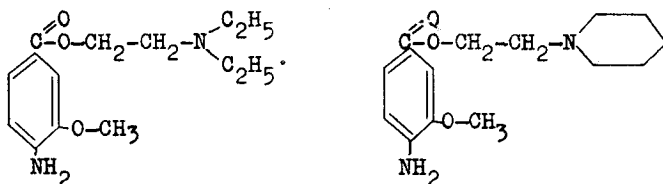
Wir haben versucht, in analoger Weise eine symmetrische 4-Azosalicylsäure herzustellen, in der Hoffnung, durch reduktive Aufspaltung im Körper zwei Moleküle PAS zu erhalten. Es gelang uns ein isomeres Produkt darzustellen und der tuberkulostatischen Untersuchung zuzuführen.

(5) L.Colebrook, H.Butle u. R.O'Meara, Lancet, 231,1323,(1936)



d) Substitution der Carboxyl- und der Hydroxylgruppe

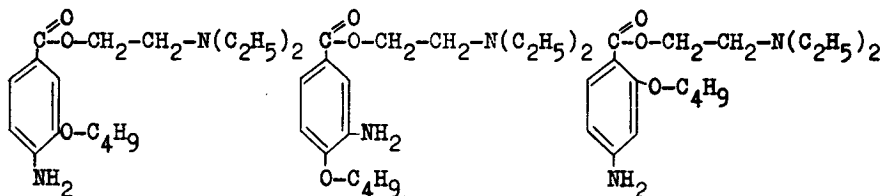
Die substituierten Ester-Aether der p-Amino-m-oxy-benzoesäure besitzen schon eine ziemlich lang bekannte lokalanaesthetische Wirkung. So sind zum Beispiel Verbindungen dieser Klasse, der Diaethylamino- und Piperidino-aethylester der p-Amino-m-methoxy-benzoesäure durch Schering-Kahlbaum A.G. (6) Berlin näher studiert worden.



In unserem Institut stellten Büchi, Hirt und Labhart den p-Amino-m-butoxy-benzoesäure-diäthylamino-äthylester und den m-Amino-p-butoxy-diäthylamino-äthylester her, deren Chlorhydrate gute lokalanaesthetische Eigenschaften zeigen (7).

(6) Schering-Kahlbaum, D.R.P., 522 064, (1930)

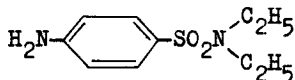
(7) Büchi, Hirt u. Labhart, persönliche Mitteilung



Es war nun interessant zu überprüfen, wie sich die Wirkung verändert, wenn an Stelle der 4-Amino-3-butoxy- die 4-Amino-2-butoxy-benzoesäure verwendet wird. Wir haben die letztgenannte, isomere Verbindung hergestellt und auf ihre lokalanaesthetische Wirkung untersuchen lassen.

e) Andere Körperklassen

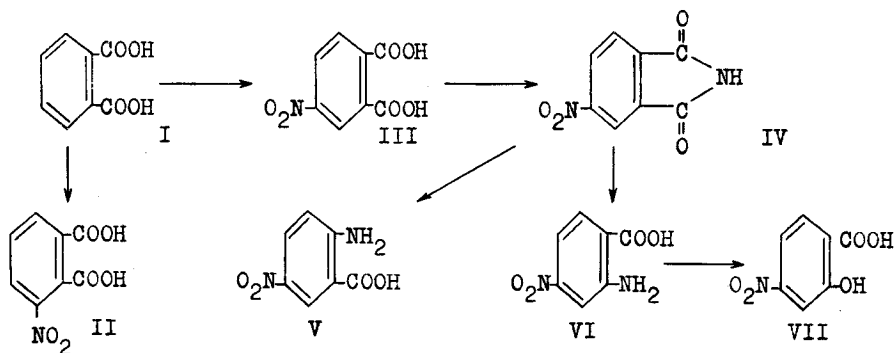
Im Zusammenhang mit den Azoverbindungen wurde ein Stoff hergestellt, der allerdings nicht in den engeren Rahmen unserer Aufgabestellung gehört. Da derselbe bisher in der Literatur nicht beschrieben ist, soll er trotzdem hier aufgeführt werden. Es handelt sich um ein disubstituiertes Sulfanilsäureamid, welches auf Grund seiner chemischen Konstitution chemotherapeutische Eigenschaften besitzen dürfte.



2.) Herstellung der p-Nitrosalicylsäure und des p-Nitro-
acetyl-salicylsäurechlorides als Ausgangsprodukte:

Die chemischen und physikalischen Eigenschaften von p-Aminosalicylsäure (PAS) erlauben es nur in beschränktem Masse, dieselbe als Ausgangsmaterial für die Darstellung von Derivaten zu benützen. Im Zusammenhang mit den nachfolgenden Versuchen war es uns zum Beispiel nicht möglich, trotz mannigfachster Variation der Versuchsbedingungen, das Säurechlorid aus PAS und ihren mono- und diacetylierten Derivaten herzustellen.

Das für unsere Versuche geeignete Ausgangsmaterial war die p-Nitrosalicylsäure, deren Darstellungsmöglichkeiten in der Folge besprochen werden und zum Teil untersucht wurden. Der von Seidel und Bittner (8) vorgeschlagene, und von Kondo, Nakajima und Murakawa (9) überprüfte Weg sei hier nur der Vollständigkeit halber erwähnt:



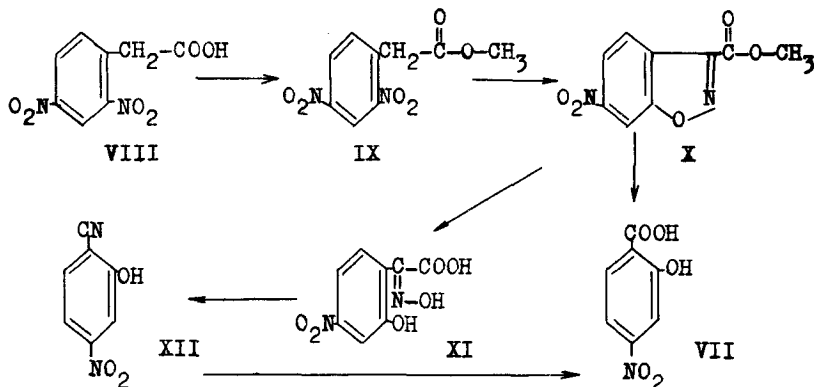
(8) Seidel u. Bittner, B., 34,4352,(1901)

(9) Kondo, Nakajima u. Murakawa, J.Pharm.Soc.Jap., 48,355,(1922)

Nach diesem Verfahren wird die Phthalsäure (I) nitriert, wobei die Stellungsisomeren II und III entstehen. Die 4-Nitrophthalsäure (III) wird abgetrennt und über das Anhydrid mit Ammoniak in das 4-Nitrophthalimid (IV) übergeführt. Der Hofmann'sche Säureamidabbau ergibt die 4-Nitro-anthranilsäure (VI), wobei wiederum ein isomeres Produkt V entsteht. Durch die Sandmeyer Reaktion kann VI in die gewünschte 4-Nitro-salicylsäure übergeführt werden.

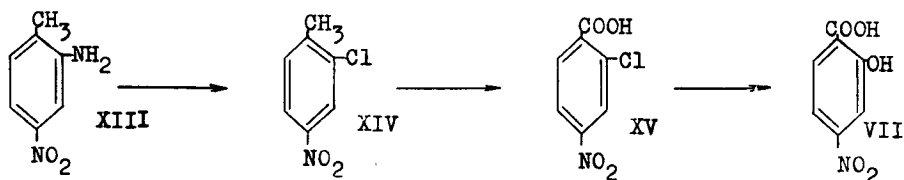
Diese Möglichkeit wurde von uns wegen der unumgänglichen, wiederholten Bildung von isomeren Produkten, sowie der daraus resultierenden schlechten Ausbeuten, zur Synthese der 4-Nitrosalicylsäure nicht angewendet.

Die von Borsche (10) vorgeschlagene Synthese wurde von uns als erste Möglichkeit zur Darstellung der 4-Nitrosalicylsäure untersucht:



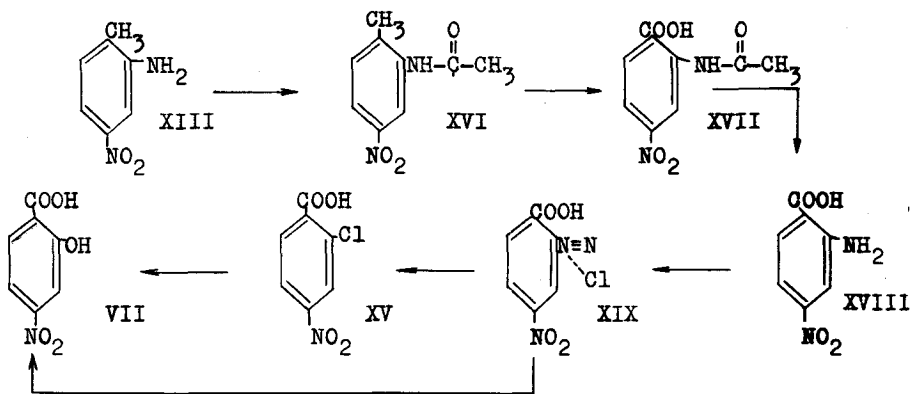
(10) W.Borsche, A., 390,1,(1912)

Der 2,4-Dinitrophenylesigsäure-methylester (IX), welcher durch die Schwefel-Salpetersäure-Nitrierung und Salzsäuregas-Veresterung erhalten wird, verwandelt sich in methylalkoholischer Lösung unter Mitwirkung einer Nitrogruppe in ein Derivat des Benzisoxazols, dem 5-Nitro-benzisoxazol-2-carbonsäure-methylester (X). Die Stufen bis zum Benzisoxazol (X) verlaufen, trotzdem es sich hier um relativ komplizierte Reaktionen handelt, mit zufriedenstellenden Ausbeuten. Die saure Zersetzung, welche nach Borsche (10) direkt zur p-Nitro-salicylsäure führen sollte, ergab in unseren Versuchen gar keine oder nur eine äusserst geringe Ausbeute des gewünschten Produktes VII. Bessere Resultate erhielten wir bei der alkalischen Zersetzung, wobei unter Bildung der 4-Nitro-2-oxy-phenylglyoximsäure (XI) nach Abspalten von Wasser und Kohlendioxyd, das p-Nitro-salicylsäure-nitril (XII) entstand. Die Verseifung des Nitrils kann am besten mit 50%iger Schwefelsäure durch Kochen am Rückfluss ausgeführt werden. Mit dieser Synthese erhielten wir wohl die gewünschte Säure VII, doch können wir diese Methode in Anbetracht der sehr mittelmässigen Ausbeute für die Darstellung grösserer Mengen nicht empfehlen. Als billigere und einfachere Möglichkeit zur Synthese der p-Nitro-salicylsäure erschien der von Ulmann und Wagner (11) angegebene Weg:



Durch die Nitrierung mit einem Gemisch von Salpetersäure-Schwefelsäure von o-Toluidin, erhält man mit guter Ausbeute das in p-Stellung nitrierte Produkt XIII. Die Diazotierung und die Einführung der Chlorgruppe nach der Sandmeyer'schen Reaktion gelingt ebenfalls gut und man erhält das p-Nitro-o-chlortoluol (XIV). Die Schwierigkeit bei dieser Reaktionsfolge besteht nach unseren Beobachtungen in der Oxydation des p-Nitro-o-chlortoluols (XIV) zur p-Nitro-o-chlor-benzoesäure (XV). Bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat erhielten wir nur eine ganz geringe Ausbeute, während mit Chromsäure starke Zersetzung auftrat.

Bedeutend besser und mit guten Ausbeuten liess sich die Synthese nach Ullmann und Uzbachian (12) ausführen:



(11) Ullmann u. Wagner, A., 355,360,(1907)

(12) Ullmann u. Uzbachian, B., 36,1801,(1903)

Allerdings ist für diese Methode eine Stufe mehr notwendig, doch lässt sich hier im Gegensatz zur erst beschriebenen Synthese die Oxydation ohne Schwierigkeiten mit Kaliumpermanganat durchführen, wobei das in der Originalvorschrift angegebene, grosse Flüssigkeitsvolumen ohne Nachteile bedeutend reduziert werden konnte. Die Acetylierung wurde nach Noelting und Collin (13) durch Kochen des p-Nitro-o-toluidins (XIII) mit Acetanhydrid durchgeführt, während die Desacetylierung zur p-Nitro-o-amino-benzoesäure (XVIII) in Abänderung der Vorschrift von Ullmann und Uzbachian (12) nicht mit Salzsäure, sondern mit 50%iger Schwefelsäure erfolgte.

Von der p-Nitro-o-amino-benzoesäure (XVIII) gibt es zwei Wege um zur p-Nitrosalicylsäure zu gelangen:

1) Die p-Nitro-o-chlor-benzoesäure (XV) haben wir nach den Angaben von Albert und Linnel (14) mit der Sandmeyer'schen Reaktion mit guten Ausbeuten hergestellt. Der Ersatz des Halogens durch eine Hydroxylgruppe erfolgt nach Ullmann und Wagner (11), wenn man die p-Nitro-o-chlor-benzoesäure (XV) mit Aetzkalk und Wasser im Bombenrohr erhitzt. Diese Methode eignet sich nur für kleinen Mengen, wobei die Ausbeuten nach der Reinigung der p-Nitro-salicylsäure (VII) über das Bariumsalz nur ca. 40% betragen.

2) Bedeutend bessere Ausbeuten erhielten wir durch Diazotieren und Verkochen der Diazolösung. Die Diazotierung

(13) Noelting u. Collin, B., 17,268,(1884)

(14) Albert u. Linnel, J.Soc.chem.Ind., 55,54 T,(1936)

der p-Nitro-o-amino-benzoesäure (XVIII) nach Albert und Linnel (14), welche die Säure umgekehrt diazotieren, ergibt bedeutend schlechtere Ausbeuten als die von uns ausgeführte direkte Diazotierung in 50%iger Schwefelsäure. Das Verkochen in 80%iger Schwefelsäure geht nach den von uns gemachten Erfahrungen, trotz den vielfach widersprechenden Angaben, glatt und mit guten Ausbeuten vor sich. Ausschlaggebend für den guten Verlauf ist eine vollständige und saubere Diazotierung.

Die Reinigung der p-Nitro-salicylsäure (VII) erfolgt wie schon oben erwähnt wurde über das Bariumsalz, indem man die Säure in alkalischer Lösung mit Bariumchlorid fällt und das so entstandene und abgetrennte Salz mit konzentrierter Salzsäure wieder zersetzt. Ebenso kann die Reinigung durch Umkristallisation aus Wasser erfolgen.

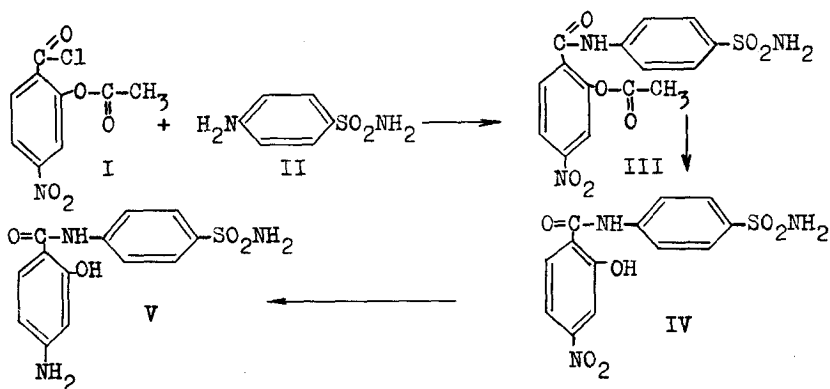
Nach unseren gemachten Erfahrungen ist die zuletzt beschriebene Methode, unter Berücksichtigung der abgeänderten Diazotierungsvorschrift, zur Darstellung der p-Nitro-salicylsäure geeignet. Durch die glatt verlaufende Diazotierung kann die Gesamtausbeute ziemlich verbessert werden.

Die Versuche das p-Nitro-salicylsäurechlorid direkt herzustellen gelangen nicht. Bei der Behandlung der Säure VII mit Thionylchlorid oder anderen Chlorierungsmitteln erhielten wir starke Polymerisation oder Verkohlungsprodukte. Wird hingegen die Hydroxylgruppe durch Acetylierung mit Acetanhydrid geschützt, so lässt sich das Säurechlorid mit Thionylchlorid ohne Schwierigkeiten darstellen und durch Vakuumdestillation reinigen.

3.) Derivate der p-Aminosalicylsäure:

a) Substitution der Carboxylgruppe

Als Ausgangsmaterial zur Synthese des p-Amino-salicylsäure-p-aminobenzolsulfosäure-amides diente uns das p-Nitro-acetyl-salicylsäure-chlorid (I). Die Amidierung mit Sulfanilsäureamid (II) erfolgte in acetonischer Lösung bei Siedetemperatur, wobei zur Bindung der entstehenden Salzsäure wasserfreies Natriumkarbonat in halb molarer Menge zugesetzt wurde.

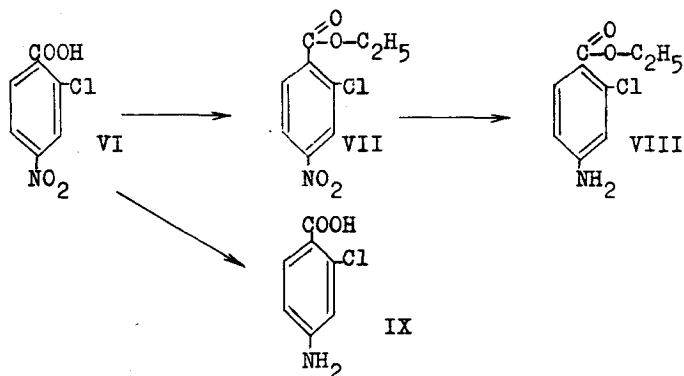


Durch die m-ständige Nitrogruppe aktiviert, konnten wir die Acetylgruppe schon mit wässriger Sodalösung abspalten. Das sich auf diese Weise bildende Natriumsalz ist in heissem Wasser gut, in kaltem schwer löslich, so dass die Reinigung des Nitroderivates IV keine Schwierigkeiten verursachte. Die Reduktion zu dem entsprechenden Aminoderivat V erfolgte in reinem Alkohol bei Normaldruck und Zimmertemperatur, wobei

wir als Katalysator Raney-Nickel (15) verwendeten. Bei allen Stufen erhielten wir gute Ausbeuten und führten die Produkte IV und V der bakteriostatischen Prüfung zu.

b) Ersatz der Hydroxylgruppe

Unsere Absicht, die Hydroxylgruppe der p-Aminosalicylsäure durch Chlor zu substituieren, also die 4-Amino-2-chlor-benzoesäure (IX) sowie deren Aethylester (VIII) herzustellen führten wir in folgender Weise aus:



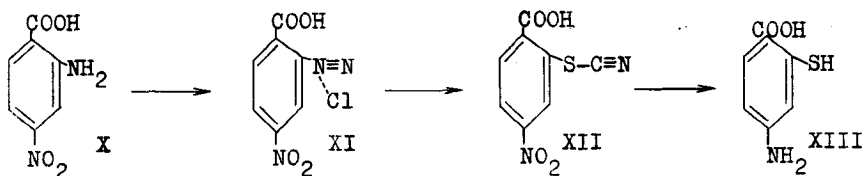
Als Ausgangsmaterial diente uns die bei der p-Nitrosalicylsäure-Synthese als Zwischenprodukt entstehende p-Nitro-o-chlor-benzoesäure (VI). Die Veresterung erfolgte nach der allgemein gebräuchlichen Methode (16) mit konzentrierter Schwefelsäure und absolutem Aethanol. Die Hydrierung zum p-Amino-o-chlor-benzoesäure-äthylester (VIII) führten wir

(15) Schröter, Neuere Methoden d.org.Chemie, S.89,(1943)

(16) Einhorn, A., 311,45,(1900)

in reinem Alkohol, bei Normaldruck und Zimmertemperatur aus, wobei Raney-Nickel als Katalysator verwendet wurde. Zur Reduktion für die Darstellung der 4-Amino-2-chlor-benzoesäure (IX) benützten wir Zinkstaub und Essigsäure nach den Angaben von Fierz (17), wobei wir das gewünschte Produkt IX mit guter Ausbeute erhielten. Von den dargestellten Produkten liessen wir VII, VIII und IX auf ihre tuberkulostatische Wirksamkeit untersuchen.

Die p-Amino-o-merkapto-benzoesäure (XIII), die sich von der PAS durch Ersatz der phenolischen Hydroxylgruppe durch eine Thiogruppe unterscheidet, stellten wir auf folgendem Wege her:



Wegleitend für die Aufnahme dieser Synthese war eine analoge, von P.Friedländer vorgeschlagene Darstellungsmöglichkeit von Thiosalicylsäure (18). Dieselbe Synthese wurde auch von Schering (19) bei der Krysolgan-Darstellung verwendet. Die Möglichkeit der Darstellung über die p-Nitro-o-benzoesulfinsäure (20) wurde von uns in einem anderen Zusammenhang unter-

(17) H.E.Fierz u. L.Blangey, *Grundl. Operat. d. Farbench.*, S.162, (1943)

(18) P.Friedländer, *B.*, 39, 1062, (1906)

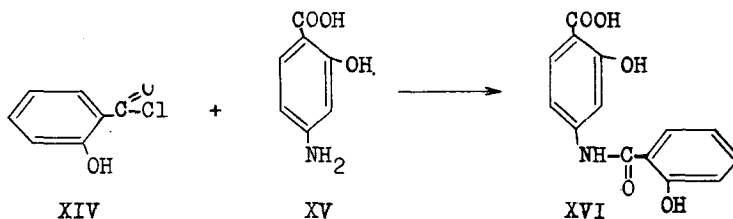
(19) Chem.Fabr.vorm.Schering, D.R.P. 377 914, (1924)

(20) Gattermann, *B.*, 32, 1149, (1899)

sucht, führte jedoch zu keinem Erfolg. Als Ausgangsprodukt verwendeten wir die bei der p-Nitrosalicylsäure-Synthese als Zwischenstufe entstehende p-Nitro-o-amino-benzoesäure (X), welche diazotiert und mit der Sandmeyer'schen Reaktion in die p-Nitro-o-rhodan-benzoesäure übergeführt wurde. Die Reduktion zur p-Amino-o-merkapto-benzoesäure (XIII) erfolgte in alkalischer Lösung mit Natriumsulfid, wobei gleichzeitig mit der Verseifung der Rhodan- auch die Nitrogruppe reduziert wurde.

c) Substitution der Aminogruppe

Die erste von uns hergestellte Verbindung dieser Klasse ist die Kombination von p-Amino-salicylsäure mit Salicylsäure, in der Weise, dass wir das Amid-Derivat (XVI) synthetisierten:

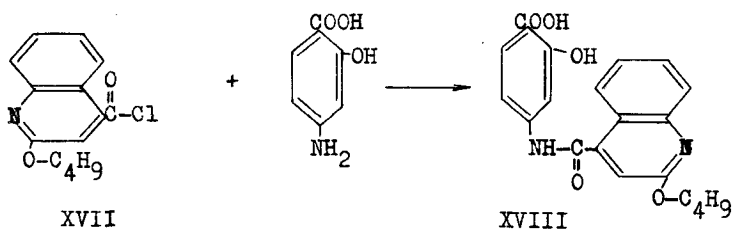


Einige Schwierigkeiten bereitete uns die Darstellung des Salicylsäurechlorides (XIV). Salicylsäure lässt sich nicht mit Hilfe von Phosphorchloriden in sein Säurechlorid verwandeln, doch hatte auch die Methode von Wolffenstein (21), der die Säure zusammen mit Thionylchlorid in siedendes Benzol einträgt, bezüglich der Ausbeute nur geringen Erfolg.

(21) Wolffenstein, D.R.P. 284 161, (1911)

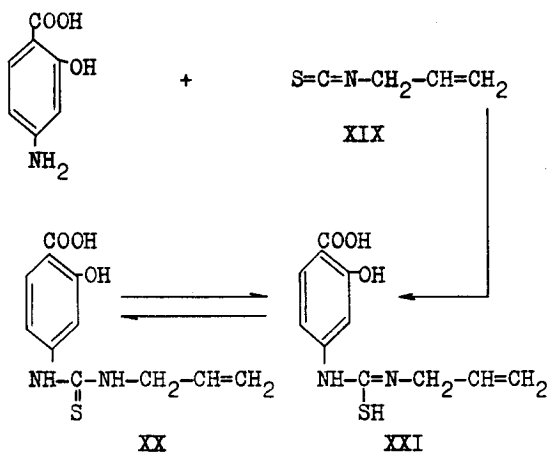
Kirpal (22) fand in dem wasserfreien Aluminiumchlorid ein äusserst wirksames Mittel zur Beschleunigung der Reaktion, was durch die von uns gemachten Erfahrungen bestätigt werden kann. Im Gegensatz zu dieser Vorschrift war es uns nicht möglich, das entstandene Säurechlorid (XIV) zur Reinigung zu destillieren, da wir in allen Versuchen starke Polymerisation erhielten. Die Amidierung wurde nach der allgemein gebräuchlichen Methode in absolutem Aceton bei Siedetemperatur durchgeführt, wobei zur Bindung des entstehenden Salzsäuregases, wasserfreies Natriumkarbonat zugesetzt wurde.

Die Substitution der Aminogruppe der p-Aminosalicylsäure mit der 2-Butoxy-4-chinolin-carbonsäure in der Form des Säureamides (XVIII) haben wir auf folgende Weise durchgeführt:



Die Ausgangssubstanz XVII wurde in unserem Institut im Zusammenhang mit der Percain-Synthese hergestellt, so dass wir nach der Bildung des Säurechlorides XVII, die Amidierung nach der oben beschriebenen Weise durchführen konnten.

Die Einführung eines schwefelhaltigen Substituenten in die Aminogruppe der PAS erreichten wir durch deren Kondensation mit Allylisothiocyanat (XIX) zu 4-Allyl-thioharnstoff-salicylsäure (XX,XXI):



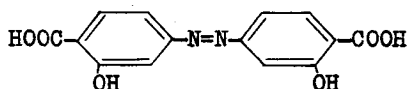
Im Allgemeinen wird die Kondensation von Isothiocyanaten zu Thioharnstoff-Derivaten als Nachweisreaktion für primäre Amine verwendet (23,24). Da es sich bei dieser Reaktion um eine üblicherweise glatt durchzuführende Synthese handelt, war es uns möglich, die Kondensation von PAS und Allyl-isothiocyanat (XIX) zu 4-Allylthioharnstoff-salicylsäure (XX) mit guten Ausbeuten durchzuführen. Ganz allgemein wird diese Reaktion in einem neutralen Lösungsmittel bei Siedetemperatur ausgeführt. Der erhöhten Dekarboxylierung wegen, waren wir genötigt, bei der Verwendung von p-Aminosalicylsäure ein

(23) T.Otterbach u. F.C.Whitmore, Am.Soc., 51,1909,(1929)

(24) C.M.Suter u. E.W.Moffet, Am.Soc., 55,2497,(1933)

Lösungsmittel mit relativ tiefem Siedepunkt, wie z.B. Aceton, zu benützen.

Als weitere Gruppe der N-substituierten Derivate der p-Aminosalicylsäure haben wir einige Azo-Verbindungen bearbeitet, und versucht, eine symetrische 4-Azosalicylsäure darzustellen.

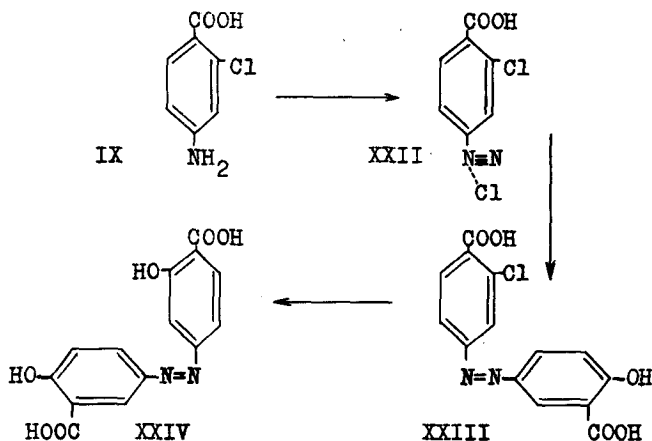


Wegen der Stellung der Hydroxylgruppe, musste von vornherein von einer Kupplungssynthese abgesehen werden. Eine Möglichkeit zu dieser Verbindung zu gelangen, besteht in der direkten Reduktion der entsprechenden Nitroverbindung. Wir haben versucht, p-Nitrosalicylsäure unter den verschiedensten Versuchsbedingungen mit Glukose zu reduzieren (25) und erhielten wohl ein Produkt welches in seiner Farbe und chemischen Eigenschaften seinen bisher bekannten isomeren Azo-Verbindungen sehr ähnlich war, sich jedoch nicht bis zur Analysenreinheit reinigen liess. Es scheint, dass sich die Reduktion nur unvollständig durchführen lässt und neben der gewünschten Verbindung noch Nebenprodukte, wie Azoxyderivate usw., entstehen, welche uns eine Reinigung der 4-Azosalicylsäure verunmöglichen.

Im Gegensatz dazu gelang die Herstellung

(25) J.Grossmann, Diss.E.T.H. (1950)

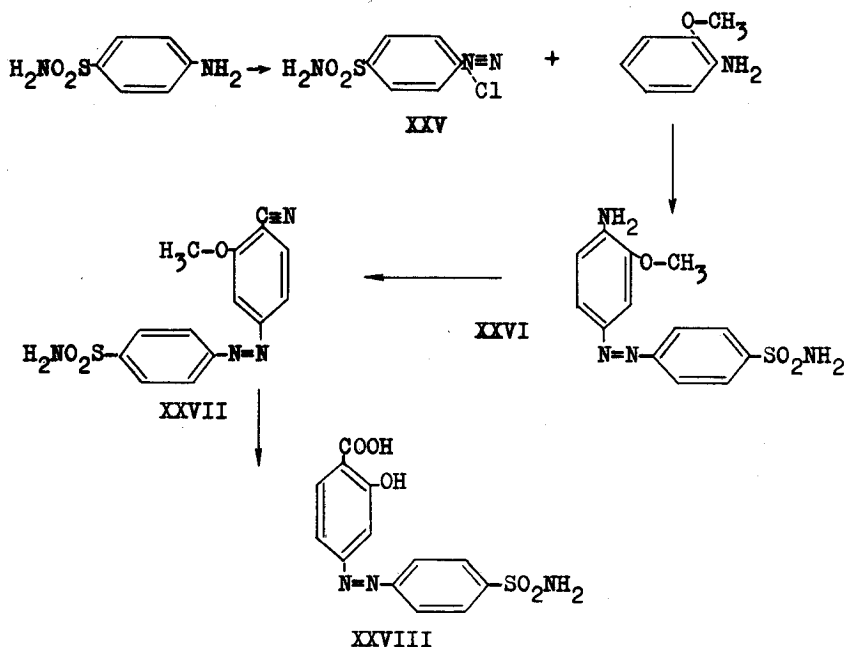
der bisher ebenfalls unbekanntes 4,5'-Azosalicylsäure (XXIV).
Wir haben diese Reaktion nach den Angaben von Fierz (26)
auf folgende Weise durchgeführt:



Nach unseren Erfahrungen lässt sich die p-Aminosalicylsäure nur äusserst schlecht diazotieren, so dass es notwendig war, den Umweg über die Chlorverbindung IX zu beschreiten. Das Verfahren zur Darstellung der p-Amino-o-chlor-benzoesäure (IX) wurde schon früher beschrieben (siehe S. 67). Bei guter Kühlung wurde in salzsaurer Lösung diazotiert und alkalisch mit Salicylsäure gekuppelt. Der Ersatz des Chlors durch eine Hydroxylgruppe erfolgte mit Natronlauge im Drehautoklaven, wobei als Katalysator Kupfersulfat zugesetzt wurde.

Eine andere von uns bearbeitete Diazoverbindung ist die p-Sulfonamido-p-azo-salicylsäure (XXVIII):

(26) H.E.Fierz u. L.Blangey, Grundl.Operationen der Farb-
chemie, S.279,(1943)



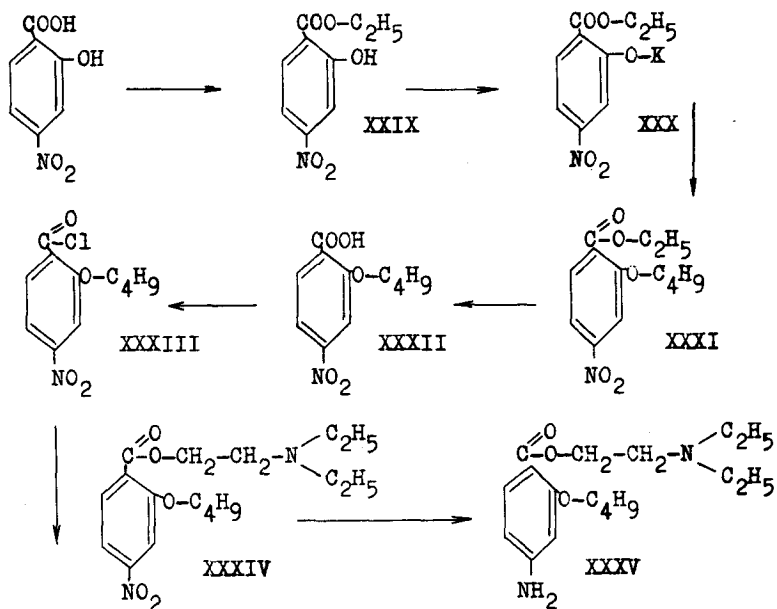
Die Synthese bis zum p,p'-Sulfanilamido-azo-o-anisidin (XXVI) konnten wir durch die Diazotierung von Sulfanilamid (XXV) (27) und der sauren Kupplung mit o-Anisidin ohne Schwierigkeiten durchführen. Die Diazotierung und die Einführung der Nitrilgruppe nach den Angaben Finger und Wilner (28) gelang nicht. Wir suchten den Grund darin, dass wir irgendwelche Anlagerungsverbindungen mit der Amidgruppe der Sulfosäure vermuteten. Doch zeigte sich nach der Dimethylierung derselben kein besseres Resultat.

(27) H.E.Fierz u. L.Blangey, Grundl.Op.d.Farbch., S.122,(1943)

(28) Finger u. Wilner, J.pr., (2)79,452,(1907)

d) Substitution der Carboxyl- und der Hydroxylgruppe

Wir haben die Synthese des 2-Butoxy-4-amino-benzoessäure-diäthylaminoäthylesters (XXXV) ausgehend von der p-Nitro-salicylsäure, nach folgendem Reaktionsschema durchgeführt:



Die Veresterung der p-Nitro-salicylsäure zum entsprechenden Äthylester XXXII erfolgte nach der allgemein üblichen Methode von Einhorn (16) in absolutem Äthanol und konzentrierter Schwefelsäure. Durch Umsetzung von Alkaliphenolat in trockener Form bzw. in einem indifferenten Lösungsmittel suspendiert oder in einem Ueberschuss des gleichen Alkohols gelöst, mit

Halogenalkyl unter Erwärmen am Rückfluss (29) oder im geschlossenen Rohr, können leicht Phenoläther dargestellt werden. Die Verätherung des p-Nitro-o-oxy-benzoessäure-äthylesters (XXIX) führten wir nach dieser Methode durch, und zwar wurde erst das Kaliumsalz des p-Nitro-o-oxy-benzoessäure-äthylesters (XXX) aus der Oxyverbindung in absoluter, ätherischer Lösung und äquimolarer Menge Aetzkali in absoluter alkoholischer Lösung dargestellt. Das trockene Kalisalz wurde hierauf im Bombenrohr während 10 Stunden auf 150° erhitzt. Nach den Angaben von Stünzi (30) erhält man die besten Ausbeuten für die Veresterung mit Diäthylaminoäthanol, wenn man den Weg über das Säurechlorid beschreitet. Dieses Säurechlorid XXXIII kann ohne Schwierigkeiten aus dem Aethylester XXXI durch Verseifung und der Behandlung der Säure XXXII mit Thionylchlorid in benzolischer Lösung erfolgen. Die Reduktion der Nitrogruppe haben wir katalytisch, mit molarem Wasserstoff und Raney-Nickel (15) bei gewöhnlicher Temperatur und Normaldruck durchgeführt. Diese Methode hat den Vorteil, dass in neutraler, alkoholischer Lösung gearbeitet werden kann, ausserdem befinden sich neben dem Katalysator und der zu reduzierenden Substanz keine anderen Stoffe in der Lösung. Da die Lokalanästhetika hauptsächlich in wässriger Lösung zur Anwendung gelangen, wurde die freie Base in ihr kristallines Chlorhydrat übergeführt, indem wir trockenes Salzsäuregas in die ätherische Lösung des p-Amino-o-butoxy-benzoessäure-diäthylaminoäthylesters

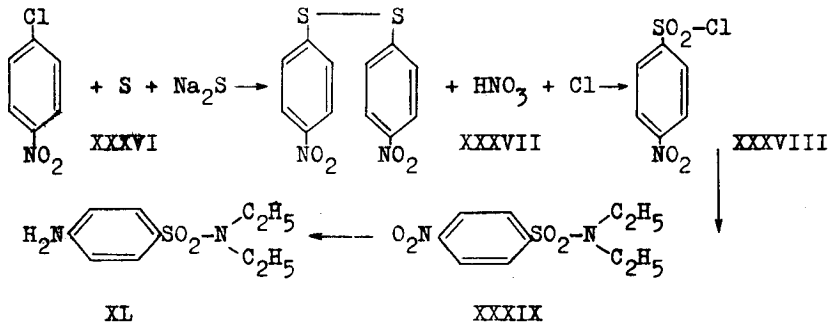
(29) Ullmann u. Wenner, A., 327, 114, (1903)

(30) E. Stünzi, Diss. E.T.H., (1950)

(XXXV) einleiten.

e) Andere Körperklassen

Die Methode der Allied Chemical and Dye Corp. (31) hat es uns erlaubt, das für die Synthese des Sulfanilsäure-diäthylamides (XL) notwendige p-Nitro-sulfosäurechlorid auf einfache Weise und mit guter Ausbeute herzustellen.



Nach den Angaben von Bell (32) wird Dipara-nitrophenyl-di-sulfid aus p-Nitro-chlorbenzol erhalten, indem man XXXVI mit Natriumsulfid und Schwefel in wässriger-alkoholischer Lösung reagieren lässt. Die Darstellung des p-Nitro-benzol-sulfosäurechlorides kann gemäss der Vorschrift von Fierz (33) für isomere ortho-Verbindungen erfolgen, indem man das Di-sulfid XXXVII in einem Salpeter-Salzsäuregemisch oxydiert und gleichzeitig durch Einleiten von Chlor in das entsprechende

(31) Allied Chemical a. Dye Corp., B.P. 602 597, (1948)

(32) Bell, J.chem.Soc., 1928,2776

(33) H.E.Fierz, Helv., 12,667,(1929)

Säurechlorid (XXXVIII) überführt. Die Kondensation mit Diäthylamin haben wir nach der von uns allgemein gebrauchten Methode in siedendem Aceton unter Zusatz von wasserfreiem Natriumkarbonat durchgeführt. Aus den schon früher erwähnten Gründen erschien es uns angebracht, die Reduktion zum p-Aminobenzolsulfosäure-diäthylamid (XL) mit molarem Wasserstoff und Raney-Nickel (15) als Katalysator, bei normalem Druck und gewöhnlicher Temperatur auszuführen.

D. Experimenteller Teil

Alle Schmelzpunkte sind korrigiert und auf dem Block bestimmt. Die Mikroanalysen wurden in den Mikrolaboratorien der organisch-chemischen Abteilung unter der Leitung von Herrn W. Manser und der organisch-technischen Abteilung unter der Leitung von Frau M. Grütter-Aebi an der E.T.H. ausgeführt.

1.) Herstellung der Ausgangsprodukte:

a) p-Nitrosalicylsäure nach Borsche (10)

Dinitro-phenylessigsäure: Zu einem Gemisch von 112 g Phenylessigsäure und 480 ccm konzentrierter Schwefelsäure wurden langsam unter gutem Rühren 60 ccm konzentrierte Salpetersäure in 120 ccm konzentrierter Schwefelsäure zugetropft. Durch Kühlung wurde darauf geachtet, dass die Temperatur 60° nicht überstieg. Nun wurde ein Tag bei Zimmertemperatur weitergerührt und das Gemisch alsdann auf Eis gegossen und nach dem Erkalten der Lösung der kristalline Brei abgenutscht, zweimal mit 50 ccm Wasser gewaschen und getrocknet. Das so erhaltene Produkt wurde zweimal aus Wasser umkristallisiert, wobei man farblose Nadelchen vom Schmelzpunkt 179° erhielt, was einer theoretischen Ausbeute von 81% entspricht.

Dinitro-phenylessigsäure-methylester: 75 g 2,4-Dinitro-phenylessigsäure wurden mit 240 ccm absolutem Methanol versetzt, wobei sich die Säure teilweise löste. Man leitete nun trockenes Salzsäuregas bis zur Sättigung des Methylalkohols ein. Darauf

wurde der Methylalkohol am Vakuum abgedampft und der Rückstand in Aether aufgenommen. Zur Reinigung des Esters schüttelte man die ätherische Lösung mit einer eisgekühlten ca. 2n-Sodalösung aus, wusch dreimal mit Wasser nach und trocknete den Aether über Natriumsulfat. Nach dem Abdampfen des Aethers erhielt man 48,2 g Ester vom Schmelzpunkt $82 - 83^{\circ}$ mit einer, mit den Angaben in der Literatur übereinstimmenden Ausbeute von 61%.

5-Nitro-benzisoxazol-2-carbonsäure-methylester: Zu 48 g Dinitro-phenylessigsäure-methylester in 480 ccm Methanol wurde eine Lösung von 24 g Isoamylnitrit und 4,6 g Natrium in 150ccm Methanol zugesetzt und über Nacht stehen gelassen. Die zu Beginn dunkelbraune, fast schwarze Flüssigkeit hellte sich langsam auf und begann auszukristallisieren. Nach 24 stündigem Stehen wurden die ausgefallenen Kristalle von der Mutterlauge getrennt und die Mutterlauge aufgearbeitet. Das kristalline Rohprodukt wurde aus Methanol umkristallisiert. Man erhielt 34,8 g einer seidenglänzenden, in weissen Nadeln kristallisierenden Substanz vom Schmelzpunkt $130 - 131^{\circ}$. Ausbeute: 84,5% der Theorie (Lit.: 85%).

4-Nitro-salicylsäure: 10 g Benzisoxazol-carbonsäure-methylester wurden mit 200 ccm 5%iger Natronlauge bis zur vollständigen Auflösung erwärmt. Hierauf wurde die gelbrote Lösung angesäuert. Unter lebhafter Kohlendioxydentwicklung erhielten wir ein weisses Produkt vom Schmelzpunkt $140 - 150^{\circ}$. Dieses Nitril wurde nun scharf abgesaugt und mit 60 ccm 50%iger Schwefelsäure während einer Stunde am Rückfluss gekocht. Nach dem Erkalten erhielt man 6,3 g p-Nitro-salicyl-

säure, was einer Ausbeute von 76,2% der Theorie entspricht (Lit.:83%). Schmelzpunkt:230°.

b) p-Nitro-o-chlorbenzoesäure nach Ullmann und Uzbachian (12)

p-Nitro-o-toluidin: 90 g o-Toluidin wurden in ungefähr 1350 g konzentrierter Schwefelsäure bei 0° gelöst und bei gleicher Temperatur eine Mischung von 84 g Salpetersäure (63%ig) und 300 g konzentrierte Schwefelsäure eingerührt. Hierauf wurde die Lösung noch 2 Stunden weitergerührt und über Nacht stehen gelassen. Nachdem man auf Eis gegossen hatte, wurde der kristalline Brei abgenutscht und unter gutem Rühren zuerst mit Wasser und dann mit konzentriertem Ammoniak bis zur bleibenden alkalischen Reaktion versetzt. Man erhielt so die freie Base vom Schmelzpunkt 103,5 - 104° mit einer Ausbeute von 85% der Theorie.

Acetyl-p-nitro-o-toluidin: 100 g p-Nitro-o-toluidin wurden mit 150 g Acetanhydrid in einen Rundkolben mit Rückflusskühler gegeben und sorgfältig umgeschüttelt. Die Temperatur stieg sofort bis zur Siedetemperatur des Acetanhydrid, wodurch bisweilen Kühlung notwendig wurde. Nach Beendigung der exothermen Reaktion kochte man das Reaktionsgemisch für zwei Stunden am Rückfluss und rührte es hierauf in 500 ccm siedendes Wasser ein. Man erhielt so nach dem Erkalten der Lösung 120 g acetyliertes Produkt mit einer Ausbeute von 96% der Theorie (Lit.:95%). Schmelzpunkt: 150 - 151°.

Acetyl-p-nitro-o-amino-benzoesäure: 120 g Acetyl-p-nitro-o-toluidin wurden in 4,5 l Wasser suspendiert und 240 g

Magnesiumsulfat zugegeben. Nun erhitzte man das Gemisch auf Siedetemperatur und fügte unter Rühren während 6 Stunden 255 g Kaliumpermanganat portionenweise hinzu. Das verdampfende Wasser wurde während dieser Zeit laufend ersetzt. Hierauf wurde die Lösung vom ausgefallenen Braunstein getrennt und dieser mit Wasser gründlich gewaschen. Die schwach gelblich gefärbte Lösung wurde ungefähr auf die Hälfte eingengt und nach dem Erkalten mit konzentrierter Salzsäure angesäuert. Man erhielt so ein vollkommen weisses Produkt vom Schmelzpunkt $214 - 215^{\circ}$, welches sofort weiter verarbeitet werden konnte. Die Ausbeute betrug 124 g p-Nitro-o-acetamino-benzoesäure, was einer theoretischen Ausbeute von 85% (Lit.: 87%) entspricht.

p-Nitro-o-amino-benzoesäure: 124 g acetylierte Säure wurden während 4 Stunden mit 320 g konzentrierter Schwefelsäure in 165 g Wasser am Rückfluss gekocht und man erhielt nach Zusatz von 300 g Wasser und Neutralisation der überschüssigen Schwefelsäure mit Ammoniak 92 g p-Nitro-o-amino-benzoesäure vom Schmelzpunkt $266 - 268^{\circ}$. Ausbeute: 91% der Theorie.

p-Nitro-o-chlor-benzoesäure: 48 g p-Nitro-o-amino-benzoesäure wurden mit 118 ccm Wasser versetzt und zusammen mit 11,2 g Natronlauge in 10 ccm Wasser auf dem Dampfbad in Lösung gebracht. Die Lösung kühlte man auf ca. 30° ab und gab 28 g Natriumnitrit in 15 ccm Wasser hinzu. Dieses Gemisch wurde nun langsam in 320 ccm 50%ige Salzsäure getropft, wobei man die Temperatur zwischen 0 und -2° beliess. In der Zwischenzeit wurde eine Sandmeyerlösung aus 79 g Kupferchlorid, 165 ccm

Wasser, 165 g konzentrierter Salzsäure und 20 g Zinkstaub hergestellt. Die klare, schwach gelblich gefärbte Diazolösung liess man nun bei einer Temperatur von 40° in die Sandmeyerlösung einlaufen, wobei sich unter starker Schaumbildung die p-Nitr-o-chlor-benzoessäure abschied. Zur Vervollständigung der Reaktion erwärmte man das Gemisch auf ca. 70° und erhielt nach dem Abkühlen der Lösung und Umfällen des entstandenen Produktes aus Ammoniak 32 g der reinen Säure vom Schmelzpunkt 133° . Ausbeute: 61,5% der Theorie (Lit.: 75%).

c) p-Nitrosalicylsäure aus p-Nitro-o-chlor-benzoessäure nach Ullmann und Wagner (11):

7,5 g Säure wurden zusammen mit 5g gebranntem Kalk, 0,4 g Naturkupfer und 25 ccm Wasser im Bombenrohr während 12 Stunden auf 145° erhitzt. Das entstandene Reaktionsgemisch löste man in 2n-Natronlauge in der Wärme auf, filtrierte vom Kupfer ab und fällte die p-Nitrosalicylsäure als Bariumsalz mit einer konzentrierten Lösung von Bariumchlorid. Der entstandene Niederschlag wurde abgenutscht, mit Wasser gut gewaschen und mit konzentrierter Salzsäure die p-Nitrosalicylsäure wiederum freigesetzt. Man erhielt so 2,8 g Säure, was einer theoretischen Ausbeute von 41% entspricht. Schmelzpunkt: 230° .

d) p-Nitrosalicylsäure aus p-Nitro-o-amino-benzoessäure nach Albert und Linnel(14):

50 g p-Nitro-o-amino-benzoessäure wurden in 125 ccm 50%iger Schwefelsäure suspendiert. Nun kühlte man die Suspension auf 0° ab und tropfte sehr langsam 37,5 g Natriumnitrit in 50 ccm Wasser hinzu. Die Suspension löste sich langsam auf und man

erhielt am Schlusse der Diazotierung eine klare, schwach gelblich gefärbte Lösung. Es ist wichtig, dass die Diazotierung bei guter Kühlung und sehr langsam erfolgt, ansonst stark verminderte Ausbeuten auftreten. Zur Zersetzung des Diazoniumsulfates brachte man 1000 ccm 80%ige Schwefelsäure bis fast zur Siedetemperatur und liess die Diazoniumlösung möglichst rasch einlaufen. Unter lebhafter Stickstoffentwicklung bildete sich die p-Nitrosalicylsäure. Man belies noch ca. eine halbe Stunde bei Siedetemperatur und verdünnte alsdann mit dem gleichen Volumen Wasser. Nach dem Erkalten der Lösung erhielt man 39 g p-Nitrosalicylsäure in feinen gelben Nadeln. Die Ausbeute beträgt 78% der Theorie. Schmelzpunkt: 230°.

e) p-Nitro-acetyl-salicylsäurechlorid aus p-Nitrosalicylsäure:

39 g p-Nitrosalicylsäure wurden während 1½ Stunden mit 200 ccm Acetanhydrid am Rückfluss gekocht. Nun brachte man 200 ccm Wasser zum Sieden und goss das Reaktionsgemisch unter Rühren langsam ein, wobei sich das überschüssige Acetanhydrid zersetzte. Die Lösung kochte man mit Tierkohle auf, filtrierte und erhielt 34 g O-Acetyl-p-nitro-salicylsäure vom Schmelzpunkt 157 - 157,5°. Ausbeute: 71% der Theorie.

10 g Acetyl-p-nitrosalicylsäure wurden direkt mit 6 g Thionylchlorid versetzt und während 3 Stunden am Rückfluss gekocht. Nach der Beendigung der Chlorwasserstoff-Entwicklung sog man das überschüssige Thionylchlorid im Wasserstrahlvakuum ab und destillierte alsdann den Rückstand im Hochvakuum bei 0,01 mmHg. Bei einer Siedetemperatur von 122 - 125° erhielten wir 9,7 g einer gelblichen Flüssigkeit, welche bei

längerem Stehen bei Zimmertemperatur in langen weissen Nadeln kristallisierte. Ausbeute: 89,9% der Theorie.

2.) Derivate der p-Aminosalicylsäure:

a) p-Aminosalicylsäureamido-p-benzolsulfonamid

p-Nitrosalicylsäure-p-benzolsulfonamid: 4 g

p-Nitro-o-acetyl-salicylsäurechlorid wurden in absolutem Aceton gelöst und zusammen mit 3 g wasserfreiem Natriumkarbonat und 3,5 g Sulfanilamid in 20 ccm Aceton 4 Stunden am Rückfluss gekocht. Hierauf dampfte man das Aceton im Vakuum ab und versetzte den Rückstand mit siedendem Wasser. Nun wurde so lange unter Erwärmen in kleinen Portionen Natriumkarbonat zugegeben, bis sich die gesamte Substanz gelöst hatte. Nach dem Erkalten erhielten wir ein in feinen, roten Nadeln kristallisierendes Produkt, welches sich nach der Behandlung mit kalter, verdünnter Salzsäure in das weisse Amid der p-Nitrosalicylsäure-p-benzolsulfonamid vom Schmelzpunkt 262 - 265° umwandeln liess. Wir erhielten 4,5 g der Nitroverbindung mit einer theoretischen Ausbeute von 75%.

Analyse:

14,14 mg Substanz ($C_{13}H_{11}O_6N_3S$) gaben 23,99 mg CO_2 und 4,14 mg H_2O .

gef:	C	46,30%	H	3,28%
ber:	C	46,29%	H	3,29%

p-Aminosalicylsäureamido-p-benzolsulfonamid: 2 g

der Nitroverbindung wurden in reinem Alkohol gelöst und mit Raney-Nickel als Katalysator bei gewöhnlicher Temperatur und Normaldruck mit Wasserstoff hydriert. Nach beendiger Wasserstoffaufnahme wurde der Alkohol abgedampft und der Rückstand, welcher unlöslich in Aether und Benzol und sehr schlecht löslich in Alkohol war, bis zu einem konstanten Schmelzpunkt von 266 - 267° aus Aceton-Wasser umkristallisiert. Wir erhielten 1,6 g der Aminoverbindung. Ausbeute: 87,8% der Theorie.

Analyse:

19,79 mg Substanz ($C_{17}H_{13}O_4N_3S$) gaben 37,10 mg CO_2 und 7,72 mg H_2O .

gef: C 51,06% H 4,37%

ber: C 50,82% H 4,27%

b) p-Amino-o-chlor-benzoesäure-äthylester:

p-Nitro-o-chlor-benzoesäure-äthylester: 8 g p-Nitro-o-chlor-benzoesäure wurden in 30 ccm absolutem Alkohol gelöst und mit 3 g konzentrierter Schwefelsäure am Rückfluss gekocht. Nach 6 Stunden dampfte man den Alkohol ab und nahm den Rückstand in Aether auf. Diese ätherische Lösung wurde nun mit Eiswasser zweimal ausgewaschen, hierauf mit 2n-Sodalösung die nicht veresterte Säure entfernt und wiederum mit Wasser gewaschen. Der Aether wurde getrocknet und abdestilliert, worauf wir eine gelbe Flüssigkeit erhielten, die sich im Hochvakuum bei

0,01 mmHg und einer Siedetemperatur von 103 - 104° destillieren liess. Wir erhielten 5,3 g Substanz, was einer theoretischen Ausbeute von 58,2% entspricht.

p-Amino-o-chlor-benzoesäure-äthylester: Zur Reduktion der Nitrogruppe wurden 6 g Raney-Nickel mit 240 ccm 2n-Natronlauge versetzt und während 40 Minuten auf dem Dampfbad auf 50° erwärmt. Der aktivierte Nickel wurde vorerst mit Wasser neutral gewaschen und mit reinem Alkohol nachgespült. Nun löste man den Ester in 150 ccm reinem Alkohol auf und hydrierte bei gewöhnlicher Temperatur und Normaldruck. Nach beendeter Wasserstoffaufnahme destillierte man den Alkohol ab und kristallisierte den Rückstand bis zu einem konstanten Schmelzpunkt von 110° aus Alkohol-Wasser um. Wir erhielten 4,1 g p-Amino-o-chlor-benzoesäure-äthylester. Ausbeute: 89,1% der Theorie.

Analyse:

8,20 mg Substanz ($C_9H_{10}O_2NCl$) gaben 13,27 mg CO_2 und 3,72 mg H_2O .

gef:	C	54,14%	H	5,08%
ber:	C	54,15%	H	5,05%

c) p-Amino-o-merkapto-benzoesäure:

p-Nitro-o-rhodan-benzoesäure: 8 g p-Nitro-o-amino-benzoesäure wurden in 20 ccm 50%iger Schwefelsäure suspendiert. Nun tropfte man zu der sehr gut gekühlten Lösung 6,1 g Natriumnitrit

in möglichst wenig Wasser hinzu, wobei die Temperatur 0° nicht überstieg. Während dieser Zeit wurde frisches Kupfer-rhodanür bereitet, indem man 20 g Kupfersulfat und 38 g Eisenvitriol in Wasser löste und das Kupferrhodanür mit 9 g Kaliumrhodanid, gelöst in Wasser, ausfällte. Das so erhaltene weisse Produkt wurde abgenutscht und sauber gewaschen. Man rührte nun dasselbe mit wenig Wasser und 20 g Kaliumrhodanid zu einer Paste an und liess unter kräftigem Rühren bei einer Temperatur von $40 - 50^{\circ}$ die inzwischen erhaltene Diazolösung einlaufen. Unter vorübergehender Schwarzfärbung bildete sich ein gelbes Produkt vom Schmelzpunkt 87° , welches durch Umlösen aus Soda gereinigt werden konnte.

p-Amino-o-merkapto-benzoesäure: Die so erhaltene p-Nitro-o-rhodan-benzoesäure wurde mit Soda in Wasser gelöst und mit einem grossen Ueberschuss (ca. 3 fache Substanzmenge) Natriumsulfid versetzt. Innerhalb von 24 Stunden wurde nun diese Lösung auf dem Dampfbad zur Trockene eingedampft, wobei sich ziemliche Mengen Schwefel ausschieden. Das trockene Produkt wurde wiederum in Wasser aufgenommen und bis zur bleibenden lackmussauren Reaktion angesäuert. Dieses Ansäuern muss vorsichtig geschehen, da die p-Amino-o-merkapto-benzoesäure in verdünnter Säure löslich ist. Zur Reinigung des entstandenen Produktes kochte man es in Alkohol auf und filtrierte durch eine mit einer dichten Kohleschicht überstreuten Porzellannutsche, um sämtliche Schwefelrückstände zu beseitigen. Der Alkohol wurde eingeeengt und stehen gelassen. Nach einigen Tagen erhielten wir ein in feinen, weissen Nadeln

kristallisierendes Produkt vom Schmelzpunkt 198 - 198,5° mit einer Ausbeute von 2,8 g, was theoretisch 37,6% entspricht.

Analyse:

12,38 mg Substanz (C₇H₇O₂NS) gaben 21,31 mg CO₂ und 4,52 mg H₂O

gef:	C	46,98%	H	4,08%
ber:	C	46,92%	H	3,94%

d) 4-(Salicylamido-)-2-oxy-benzoesäure:

5 g Salicylsäure wurden mit 0,1 g Aluminiumchlorid und 5 ccm Thionylchlorid versetzt und auf eine Temperatur von 60° erwärmt. Es setzte sofort eine starke Chlorwasserstoffentwicklung ein, wobei sich nach ungefähr 4 Stunden alle Salicylsäure gelöst hatte. Wir saugen das überschüssige Thionylchlorid im Vakuum ab und erhielten eine stark lichtbrechende, gelblich-grüne Flüssigkeit von charakteristischem Geruch. Diese Flüssigkeit wurde in absolutem Aceton gelöst und 2,1 g wasserfreies Natriumkarbonat zugesetzt. Nun tropften wir langsam 5,5 g p-Aminosalicylsäure (hergestellt durch die Fa. Dr.A. Wander, Bern) in 20 ccm absolutem Aceton zu, wobei sich das Reaktionsgemisch ziemlich stark erwärmte. Man kochte darauf 2 Stunden am Rückfluss, filtrierte die acetonische Lösung und dampfte zur Trockene ein. Nach mehrmaliger Umkristallisation aus Pyridin erhielten wir ein weisses Produkt mit

einem Zersetzungspunkt von 246 - 248°. Ausbeute: 53,8% der Theorie.

Analyse:

19,90 mg Substanz ($C_{14}H_{11}O_5N$) gaben 45,07 mg CO_2 und 7,49 mg H_2O .

gef:	C	61,81%	H	4,21%
ber:	C	61,54%	H	4,06%

e) 4-(2-Butoxy-cinchonyl-amido-)-2-oxy-benzoesäure:

2 g 2-Butoxy-chinolin-4-carbonsäure wurden in absolutem Benzol gelöst und mit 3 g Thionylchlorid während 3 Stunden am Rückfluss gekocht. Nachdem die Chlorwasserstoffentwicklung aufgehört hatte, sogen wir das Benzol und das überschüssige Thionylchlorid im Vakuum ab und lösten den Rückstand in absolutem Aceton. Diese Lösung wurde mit 0,45 g wasserfreiem Natriumkarbonat und 1,25 g p-Aminosalicylsäure (Fa.Dr.A. Wander) versetzt und weitere 3 Stunden am Rückfluss gekocht. Nun dampfte man das Reaktionsgemisch zur Trockene ein und nahm den Rückstand heiss in Alkohol auf. Diese alkoholische Lösung wurde zur Kristallisation eingeengt. Man erhielt 1,9 g des gewünschten Produktes mit einer Ausbeute von 61,2% der Theorie. F: 192 - 192,5°.

Analyse:

gef:	C	66,29%	H	5,50%
ber:	C	66,30%	H	5,30%

f) N₁-Allyl-N₂-(3-oxy-4-carboxy-phenyl)-thioharnstoff:

7,5 g p-Aminosalicylsäure und 11 g Allylsenöl wurden während 6 Stunden in absolutem Aceton am Rückfluss gekocht. Hierauf dampfte man das Aceton ab, nahm den Rückstand in Aether auf und schüttelte mit 2n-Sodalösung aus. Diese Lösung wurde angesäuert, die ausgefallene Säure wiederum in Aether aufgenommen, denselben mit Wasser gewaschen und getrocknet. Nach dem Abdestillieren des Aethers erhielten wir eine weisse, kristalline Substanz, welche sich gut aus Alkohol reinigen liess. F: 168°. Die Ausbeute betrug 9,6 g entsprechend 77,4% der Theorie.

Analyse:

19,53 mg Substanz (C₁₁H₁₂O₃N₂S) gaben 37,44 mg CO₂ und 8,42 mg H₂O.

gef:	C	52,32%	H	4,82%
ber:	C	52,38%	H	4,79%

14,71 mg Substanz (C₁₁H₁₂O₃N₂S) gaben 1,50 ccm N₂ 29° 725 mmHg

gef:	N	11,00%
ber:	N	11,11%

g) 4,5'-Azosalicylsäure:

p-Amino-o-chlor-benzoesäure: 20,2 g Nitrochlorbenzoesäure wurden in 5,5 g Soda und 70 ccm Wasser gelöst und mit 10 ccm 40%iger Essigsäure angesäuert. Diese Lösung tropfte man zu

einer Suspension von 100 g Zinkstaub in 250 ccm siedenden Wassers, zu welchem man 4 ccm 40%ige Essigsäure zugegeben hatte. Unter stetem Rühren wurde nun ununterbrochen gekocht, wobei die Masse oft stark schäumte. Nach ca. 2 Stunden wurden nochmals 5 g Soda zur Lösung gegeben und filtriert. Diese Lösung säuerte man nun vorsichtig an und erhielt 14,5 g p-Amino-o-chlor-benzoesäure vom Schmelzpunkt $207 - 208^{\circ}$ mit einer Ausbeute von 84,5% der Theorie.

4,5'-Azosalicylsäure: 8 g p-Amino-o-chlor-benzoesäure wurden mit 15 ccm 30%iger Salzsäure angesäuert und auf ca. -2° abgekühlt. Dazu liess man innert einigen Minuten 3,5 g Natriumnitrit in 17 ccm Wasser hinzuströmen. Man vermischte nun die klare, leicht gelbliche Diazolösung mit einer Lösung von 7,5 g Salicylsäure in 150 ccm Wasser, 7,5 ccm 30%iger Natronlauge und 20 g Natriumkarbonat. Nach ca. 3 Stunden war die Kupplung beendet und man erhielt nach dem Aussalzen der Lösung und Ansäuern mit konzentrierter Salzsäure einen braunen Farbstoff, welcher direkt weiter verarbeitet wurde.

Das so erhaltene Produkt wurde mit 100 ccm Wasser, 1 g Kupfersulfat und 15 ccm 30%iger Natronlauge in einem Drehautoklaven wähen 10 Stunden auf 140° erhitzt. Die Lösung wurde alsdann vom ausgefallenen Kupferoxyd abgetrennt und angesäuert. Man erhielt 5,5 g 4,5'-Azosalicylsäure mit einer Ausbeute von 76,5% der Theorie. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Alkohol erhielten wir ein Produkt mit einem konstanten Schmelzpunkt von $240 - 241^{\circ}$.

Analyse:

3,588 mg Substanz ($C_{14}H_{10}O_6N_2$) gaben 7,318 mg CO_2 und
1,083 mg H_2O .

gef: C 55,66% H 3,38%

ber: C 55,63% H 3,34%

h) Versuch zur Darstellung von p,p'-Sulfonamido-azo-salicyl-
säure:

p,p'-Sulfonamido-azo-o-anisidin: 14 g Sulfanilamid wurden
in 200 ccm Wasser suspendiert und 21 ccm konzentrierte Salz-
säure zugegeben. Hierauf tropfte man unter guter Kühlung
eine konzentrierte Lösung von 6,9 g Natriumnitrit in wenig
Wasser hinzu. Das Sulfanilamid löste sich vollständig auf
und man erhielt eine klare, farblose Diazolösung. Nun wurden 12,3
o-Anisidin in verdünnter Salzsäure gelöst und dazu die Diazo-
lösung hinzugegropft. Nach beendiger Kupplung wurde auf ca.
70° erwärmt und nach dem Erkalten der Lösung der ausgefallene
Farbstoff abgenutscht. Dieser wurde alsdann mit verdünntem
Ammoniak bis zur bleibenden alkalischen Reaktion verrührt,
mit Wasser gut gewaschen und aus Alkohol umkristallisiert.
Wir erhielten 20 g eines schönen, in roten Nadeln kristalli-
sierenden Farbstoffes vom Schmelzpunkt 218 - 219°. Ausbeute:
69,8% der Theorie.

Analyse:

3,922 mg Substanz ($C_{13}H_{14}O_3N_4S$) gaben 7,300 mg CO_2 und
1,592 mg H_2O .

gef: C 50,79% H 4,54%
ber: C 50,96% H 4,60%

p,p'-Sulfanilamido-azo-o-methoxy-benzoessäurenitril: 15,8 g
p,p'-Sulfanilamido-azo-o-anisidin wurden in 50 ccm Wasser suspendiert und 13 ccm konzentrierte Salzsäure zugesetzt. Diese Lösung wurde nun gut gekühlt und langsam 3,5 g Natriumnitrit in 20 ccm Wasser zugetropft. Schon bei den ersten Tropfen zeigte sich eine starke Bildung nitroser Gase, welche gegen den Schluss der Diazotierung stark zunahm. Das gleiche Bild erhielten wir, als wir versuchten, die Diazotierung in konzentrierter Schwefelsäure auszuführen. Eine Probe der filtrierten Diazolösung wurde bei einer Temperatur von 50° in eine Kalium-Kupfercyanürlösung, bereitet aus Kaliumcyanid und Kupfervitriol, eingetragen, wobei wir einen dunkelbraunen Niederschlag erhielten, der sich jedoch nicht reinigen liess. Die direkte Verseifung mit 2n-Natronlauge führte ebenfalls zu keinem Resultat.

i) p-Amino-o-butoxy-benzoessäure-diäthylaminoäthylester:

p-Nitro-salicylsäure-äthylester: 6,3 g p-Nitrosalicylsäure wurden in 16 ccm absolutem Alkohol gelöst und ca. 5 Stunden zusammen mit 3 g konzentrierter Schwefelsäure am Rückfluss gekocht. Hierauf wurde der Alkohol bis auf einen kleinen Rückstand im Vakuum abgedampft und die restliche Lösung mit Aether versetzt. Die ätherische Lösung schüttelte man mit Eiswasser und 2n-Sodalösung aus und wusch den Aether mit kaltem Wasser neutral. Nach dem Abdampfen des Aethers erhiel-

ten wir 5,5 g Ester mit einer Ausbeute von 75% der Theorie.

Kalium-phenolat des p-Nitro-salicylsäure-äthylesters: Zur Darstellung des Kalisalzes wurde der Ester in möglichst wenig Aether gelöst und mit 1,2 g Aetzkali in wenig Methanol versetzt. Nach ca. einer Stunde konnte man den schön roten, kristallinen Niederschlag absaugen, mit absolutem Aether waschen und an der Luft trocknen. Man erhielt 6,0 g Kalisalz, was einer theoretischen Ausbeute von 92% entspricht.

p-Nitro-o-butoxy-benzoesäure: 6,0 g Kalisalz löste man in 10 g absolutem Alkohol und fügte 4,0 g Butylbromid hinzu. Hierauf wurde dieses Gemisch 5 Stunden im Bombenrohr auf 150° erhitzt. Nach dem Erkalten spülte man das Rohr mit absolutem Alkohol aus, dampfte denselben ab und versetzte den Rückstand mit einer ca. 5n-alkoholischen Natronlauge. Zur Verseifung des Esters wurde während einer halben Stunde auf dem Wasserbad erwärmt, nachher das Lösungsmittel abgedampft, mit wenig Eiswasser versetzt und vorsichtig angesäuert. Man erhielt einen weissen Niederschlag, der sich durch Umkristallisation aus Alkohol-Wasser in ein kristallines Produkt vom Schmelzpunkt 121° überführen liess. Die Ausbeute an p-Nitro-o-butoxy-benzoesäure betrug 3,8 g, entsprechend einer theoretischen Ausbeute von 64,5%.

Analyse:

3,686 mg Substanz ($C_{11}H_{13}O_5N$) gaben 7,466 mg CO_2 und 1,843 mg H_2O .

gef: C 55,26% H 5,60%
ber: C 55,22% H 5,48%

p-Nitro-o-butoxy-benzoesäure-diäthylamino-äthylester: 3,8 g p-Nitro-o-butoxy-benzoesäure wurden in wenig absolutem Benzol gelöst und mit 3,5 g Thionylchlorid 3 Stunden am Rückfluss gekocht. Nach dem Absaugen des Benzols und des überschüssigen Thionylchlorids wurde der Rückstand in 20 ccm absolutem Benzol gelöst und mit der berechneten Menge Diäthylaminoäthanol versetzt. Hierauf kochte man dieses Reaktionsgemisch wiederum während einer Stunde am Rückfluss, dampfte das Benzol im Vakuum ab und nahm den Rückstand in Aether auf. Zur Bildung der freien Base wurde die ätherische Lösung mit 2n-Sodalösung in der Kälte ausgeschüttelt, neutral gewaschen, getrocknet und der Aether abdestilliert. Der Rückstand wurde sofort weiter verarbeitet.

p-Amino-o-butoxy-benzoesäure-diäthylamino-äthylester: Die Hydrierung erfolgte mit frisch vorbereitetem Raney-Nickel in reinem Alkohol, bei Normaldruck und gewöhnlicher Temperatur. Der Alkohol wurde nach beendigter Wasserstoffaufnahme abgedampft und der Rückstand in einem Hickmann-Destillierkolben destilliert. Man erhielt bei einem Siedepunkt von 178° bei 0,01 mmHg 1,8 g p-Amino-o-butoxy-benzoesäure-diäthylamino-äthylester. Ausbeute: 37% der Theorie.

Zur Bildung des Chlorhydrates wurde die Base in absolutem Aether gelöst und bis zur Sättigung mit trockenem Chlorwasserstoff versetzt. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus abso-

lutem Alkohol erhielt man ein Produkt vom konstanten Schmelzpunkt 123 - 125°.

Analyse:

3,470 mg Substanz ($C_{17}H_{28}O_3N_2 \cdot 1 HCl$) gaben 7,542 mg CO_2 und 2,628 mg H_2O .

gef: C 59,31% H 8,47%

ber: C 59,20% H 8,48%

k) p-Amino-benzolsulfosäure-diäthylamid:

p-Nitro-benzolsulfosäure-disulfid: Zu einer siedenden Lösung von 125 g p-Nitro-chlorbenzol in 300 ccm Alkohol gab man in kleinen Portionen 100 g Natriumsulfid in wenig Wasser und 17 g Schwefel in 50 ccm Alkohol hinzu. Nun wurde das Gemisch für ca. eine halbe Stunde auf Siedetemperatur erhitzt, dann während 2 Stunden bei einer Temperatur von 50° belassen. Beim Erkalten der Lösung erhielten wir 110 g p-Nitro-benzol-disulfid, welches mit Wasser gewaschen und getrocknet wurde. Ausbeute: 89,8% der Theorie.

p-Nitro-benzolsulfosäure-chlorid: 100 g p-Nitro-benzol-disulfid wurden mit 66 g 67%iger Salpetersäure, 230 g konzentrierter Salzsäure und 140 g Benzol in einen Rückflusskühler-Dreihalskolben mit Rührer gebracht und das Gemisch auf 50 - 60° erwärmt. Nun wurde während 3 Stunden Chlor eingeleitet, wobei die Temperatur auf 60 - 62° stieg. Nach dem Abkühlen der Lösung konnte ein erster Teil des entstandenen kristallinen

Produktes abgenutzt werden. Die Benzolschicht wurde hierauf abgetrennt, mit kaltem Wasser neutral gewaschen und bei einer Temperatur von 0 - 5° mit dem gleichen Volumen Petroläther versetzt. Man erhielt so einen zweiten Teil des p-Nitrobenzolsulfosäure-chlorides vom Schmelzpunkt 77 - 78°. Die Gesamtausbeute betrug 82 g entsprechend 57,2% der Theorie.

p-Nitro-benzolsulfosäure-diäthylamid: 22,1 g des Säurechlorides wurden in absolutem Aceton gelöst und mit 5,3 g wasserfreiem Natriumkarbonat und 8 g Diäthylamin während 3 Stunden am Rückfluss gekocht. Man konnte während der Reaktion eine ziemlich starke Kohlendioxyd-Entwicklung und Kochsalz-Abscheidung feststellen. Nach dem Abdampfen des Acetons wurde der Rückstand in Aether aufgenommen, mit verdünnter Salzsäure kalt ausgeschüttelt und mit Eiswasser neutral gewaschen. Nach der Entfernung des Aethers und der mehrmaligen Umkristallisation aus Alkohol erhielten wir ein weisses, kristallines Produkt vom konstanten Schmelzpunkt 128°. Ausbeute: 18 g gleich 69,8% der Theorie.

Analyse:

3,779 mg Substanz ($C_{10}H_{14}O_4N_2S$) gaben 6,436 mg CO_2 und 1,846 mg H_2O .

gef: C 46,48% H 5,52%

ber: C 46,50% H 5,46%

p-Amino-benzolsulfosäure-diäthylamid: 14 g der Nitroverbindung wurden mit 10 g frisch aktiviertem Raney-Nickel in reinem Alkohol, bei Normaldruck und gewöhnlicher Temperatur hydriert. Nach beendigter Wasserstoffaufnahme wurde der Alkohol abgedampft, der Rückstand in Aether aufgenommen und mit verdünnter Salzsäure kalt ausgeschüttelt. Nachdem die freie Base wieder hergestellt worden war, wurde wiederum in Aether aufgenommen und derselbe mit Wasser gewaschen und getrocknet. Wir erhielten 9 g p-Amino-benzolsulfosäure-diäthylamid entsprechend einer theoretischen Ausbeute von 72,5%. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Alkohol wurde ein Produkt vom konstanten Schmelzpunkt 104° erhalten. Das Chlorhydrat stellten wir dar, indem die freie Base in absolutem Aether gelöst wurde, und man erhielt durch Einleiten von trockenem Chlorwasserstoff die Ausfällung des kristallinen Chlorhydrates. F: $124 - 125^{\circ}$.

Analyse:

3,905 mg Substanz ($C_{10}H_{16}O_2N_2S$) gaben 7,501 mg CO_2 und 2,435 mg H_2O .

gef:	C	52,42%	H	6,98%
ber:	C	52,60%	H	7,06%

3.) Pharmakologische Wirkung:

Die pharmakologische Prüfung des p-Amino-o-butoxy-benzoesäure-diäthylaminoäthylesters auf lokalanästhetische-, sowie der übrigen PAS-Derivate auf tuberkulostatische Wirkung wurde in verdankenswerter Weise durch die wissenschaftliche Abteilung der Fa. Dr.A.Wander A.G. in Bern ausgeführt.

a) Lokalanästhesie

Oberflächenanästhesie an der Kaninchencornea (34): Durch periodische Reizung der mit einer Lösung des Lokalanästhetikums behandelten Hornhaut wird Tiefe und Dauer der Anästhesie geprüft, d.h. die Penetrationsfähigkeit und die Wirkung der Substanz auf sensible Nervenendigungen festgestellt. Es werden Konzentrationen von gleicher Wirkung verglichen. Als Standardsubstanz dient Cocain. Das Verhältnis von Konzentration gleicher Wirksamkeit wird als anästhetischer Index bezeichnet. Die auf diese Weise ermittelten Wirkungsverhältnisse an der Kaninchencornea sind in der Kolonne "Oberfläche", bezogen auf Cocain = 1, aufgeführt.

Spinalanästhesie am Frosch (35): Die Lösung des Lokalanästhetikums wird in die unmittelbare Umgebung der im unteren Rückenmarkskanal verlaufenden Nervenstränge gespritzt und die Wirkung am Ausbleiben der Beinreflexe nach Salzsäurewirkung durch die Nervenhülle, die eigentliche Wirkung auf die Nerven-

(34) Régnier, C.r., 177,558,(1923)

(35) Bieter und Burgess, J.Pharmacol., 45,291,(1932)

faser, sowie die Stabilität des gesetzten Depots. Man vergleicht die Wirkung mit derjenigen von Novocain, d.h. das Verhältnis von Konzentration gleicher Wirksamkeit wird wiederum als anästhetischer Index bezeichnet. Die nach dieser Methode gefundenen Wirkungen sind in der Kolonne "Leitung" angegeben und auf Novocain = 1 bezogen.

Reizwirkung: Die Gewebsverträglichkeit muss bei den Lokalanästhetika naturgemäss sehr gut sein. Sie wird durch Einträufeln einer Lösung des zu prüfenden Stoffes ins Kaninchenauge, oder durch intrakutane Injektion am Kaninchen- oder Meerschweinchen-Ohr ermittelt. Dabei kann man analog den Gewebsschädigungen bei Verbrennungen drei Intensitätsgrade unterscheiden. (Kolonne "Gewebsreizung").

In der nachfolgenden Tabelle 14 sind die Resultate der lokalanästhetischen Prüfung des p-Amino-ortho-butoxy-benzoesäure-diäthylaminoäthylesters aufgeführt und mit den bisher dargestellten isomeren Produkten verglichen. Aus dieser Zusammenstellung ist ersichtlich, dass die Oberflächenanästhesie bedeutend schwächer ist, als bei den anderen bisher dargestellten stellungs-isomeren Produkten. Die Leitungsanästhesie ist gleich wie bei den Vergleichsprodukten. Als Vorteil des von uns dargestellten Produktes dürfte die vollkommene Reizlosigkeit gegenüber dem Gewebe erwähnt werden.

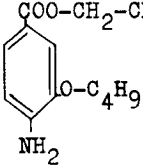
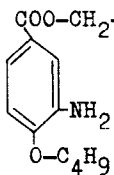
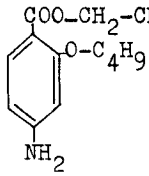
b) Tuberkulostatische Wirkung

Die Prüfung erfolgte in vitro in der Nährlösung von Dubos (36) mit Zusatz von Tween 80. Zu 9 ccm

(36) R.J.Dubos, Exper., 3, 45, (1947)

Tabelle 14

Lokalanästhetische Wirkung

Verbindung	Lokalanästhetischer Index		Gewebe- reizung
	Oberfläche Cocain = 1	Leitung Novocain = 1	
Cocain	1	-	
Novocain	0,05	1	
Perccain	100	27,5	
$\text{COO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N(C}_2\text{H}_5)_2$  $\cdot \text{HCl}$	20	10	(+)
$\text{COO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N(C}_2\text{H}_5)_2$  $\cdot \text{HCl}$	20	10	±
$\text{COO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N(C}_2\text{H}_5)_2$  $\cdot \text{HCl}$	11	10	-

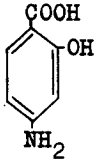
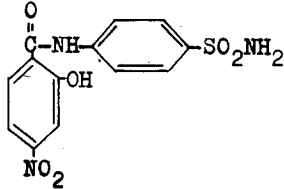
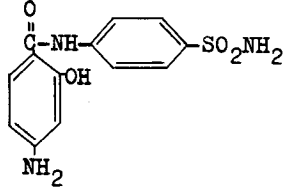
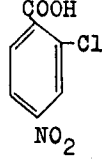
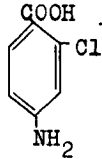
Nährlösung wurde immer 1 ccm der zu untersuchenden Substanz in solcher Konzentration gegeben, dass in 13 verschiedenen Abstufungen 10^{-2} bis 10^{-6} molare Lösungen entstanden. Als Testkeime dienten 4 Tuberkelstämme vom Typus humanus. Für jeden Stamm wurden 4 Parallelreihen von Verdünnungen hergestellt. Beimpft wurden die Kulturen mit je 0,3 ccm Tuberkelbazillen-Suspension, entsprechend 0,1 mg Trockengewicht. Nach 12-tägiger Bebrütung bei 37° wurden die kulturen auf Wachstum untersucht. Eine Wachstumshemmung wurde angenommen, wenn bei nephelometrischem Vergleich die Trübung durch die Tuberkelbazillen in der Nährlösung weniger als 50% derjenigen der Kontrollen betrug. Der tuberkulostatische Wert einer Substanz stellt das Mittel aus den Resultaten der vier verschiedenen Stämme dar und ist in der folgenden Tabelle 15 als negativer Logarithmus der grössten noch wirksamen, molaren Verdünnung angegeben.

Die in der Tabelle 15 zusammengestellten PAS-Derivate besitzen alle eine erheblich geringere tuberkulostatische Wirksamkeit als die p-Aminosalicylsäure selbst. Aus dem Vergleich der verschiedenen Wirkungswerte geht hervor, dass die auch von anderen Autoren gemachte Feststellung, dass jede Substitution der p-Aminosalicylsäure an der Carboxyl-, Oxy- und Aminogruppe die tuberkulostatische Wirkung herabsetzt, bestätigt werden muss. Der Vergleich der synthetisierten Nitroverbindungen mit den entsprechenden Aminokörpern ergibt durchwegs praktisch die gleichen Wirkungsstärken für beide Körperklassen.

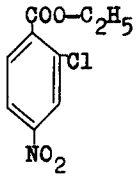
Tabelle 15

=====

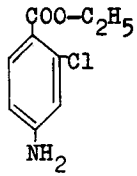
Tuberkulostatische Wirkung

Verbindung	- log mol. Konz.
	5,4 - 5,6
	3,5
	<3,0
	<3,0
	3,0

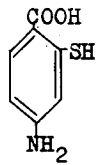
- log
mol. Konz.



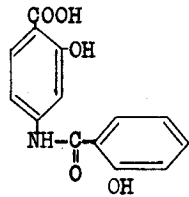
3,0



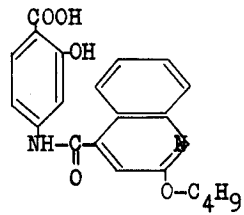
3,3



3,3

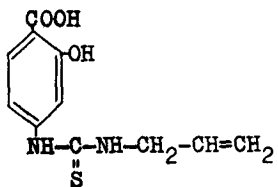


4,1

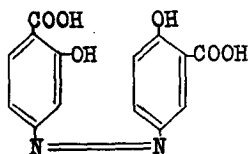


4,8

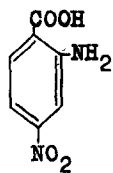
- log
mol. Konz.



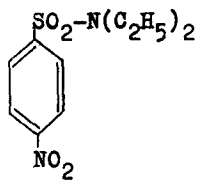
3,0



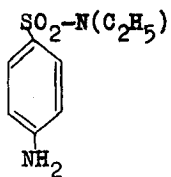
3,0



3,0



3,3



3,3

E. Zusammenfassung

1. Es wird eine Uebersicht gegeben über die Entwicklung der Chemotherapie der Tuberkulose und den heutigen Stand der Tuberkulose-Therapie.
 2. Die p-Aminosalicylsäure wird hinsichtlich ihrer chemischen, bakteriologischen, pharmakologischen und therapeutischen Eigenschaften näher studiert und ihre bis heute hergestellten Derivate zusammengestellt.
 3. Mit der p-Aminosalicylsäure als Grundkörper werden einige neue Derivate hergestellt.
 4. Die auf ihre lokalanästhetische und tuberkulostatische Wirkung geprüften Derivate zeigen alle eine geringere Wirksamkeit als die p-Aminosalicylsäure. Engere Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und tuberkulostatischer Wirkung lassen sich nicht feststellen.
-

Curriculum vitae

Ich wurde am 15. September 1923 in Lausanne geboren. In Bern besuchte ich die Primarschule, das Progymnasium und die Real-Abteilung des städtischen Gymnasiums, wo ich im Sommer 1943 die Maturitätsprüfung ablegte. Während dem folgenden Jahre leistete ich Militärdienst. Im Herbst 1944 begann ich meine Studien an der Chemischen Abteilung der Eidgenössischen Technischen Hochschule und erwarb im Frühjahr 1948 das Diplom als Ingenieur-Chemiker. Im Herbst 1948 begann ich am Pharmazeutischen Institut unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. J. Büchi die vorliegende Promotionsarbeit, die ich im Dezember 1950 abschloss.

Zürich, Dezember 1950

Max A. Flury