

Einfluß von Agonisten und Antagonisten des Histamin-H₁- und H₂-Rezeptors auf das Wachstum von *Mycobacterium tuberculosis* H 37 Ra

Wolfgang Meindl*

Institut für Pharmazie der Universität Regensburg, Universitätsstraße 31, 8400 Regensburg, West-Germany

Andrea Frieze-Kimmel, Friedhelm Lachenmayr, Armin Buschauer und Walter Schunack

Institut für Pharmazie der Freien Universität Berlin, Königin-Luise-Straße 2 + 4, 1000 Berlin 33, West-Germany

Eingegangen am 19. April 1989

Beschrieben wird der Einfluß von Histamin-H₁- und H₂-Agonisten sowie -Antagonisten auf das Wachstum von Mykobakterien. Während sehr eng mit Histamin verwandte Verbindungen das Wachstum fördern, hemmen vor allem Verbindungen mit H₁-antagonistischer Aktivität.

The Influence of Agonists and Antagonists of the Histamine H₁- and H₂-Receptor on the Growth of *Mycobacterium tuberculosis* H 37 Ra

The influence of histamine H₁- and H₂-agonists and -antagonists on the growth of mycobacteria is described. While compounds which are strongly related to histamine improve the growth, predominantly H₁-antagonists inhibit bacterial growth.

Histamin fördert das Wachstum von *Mycobacterium tuberculosis* H 37 Ra¹⁾. Aus diesem Grund haben wir eine Vielzahl auf dem Markt befindlicher Antihistaminika sowie Verbindungen mit antihistaminischen Nebenwirkungen gegen *M. tuberculosis* H 37 Ra geprüft^{2,3,4)}. Bei diesen Verbindungen handelt es sich hauptsächlich um H₁-Antihistaminika, von denen viele das Wachstum von Mykobakterien hemmen.

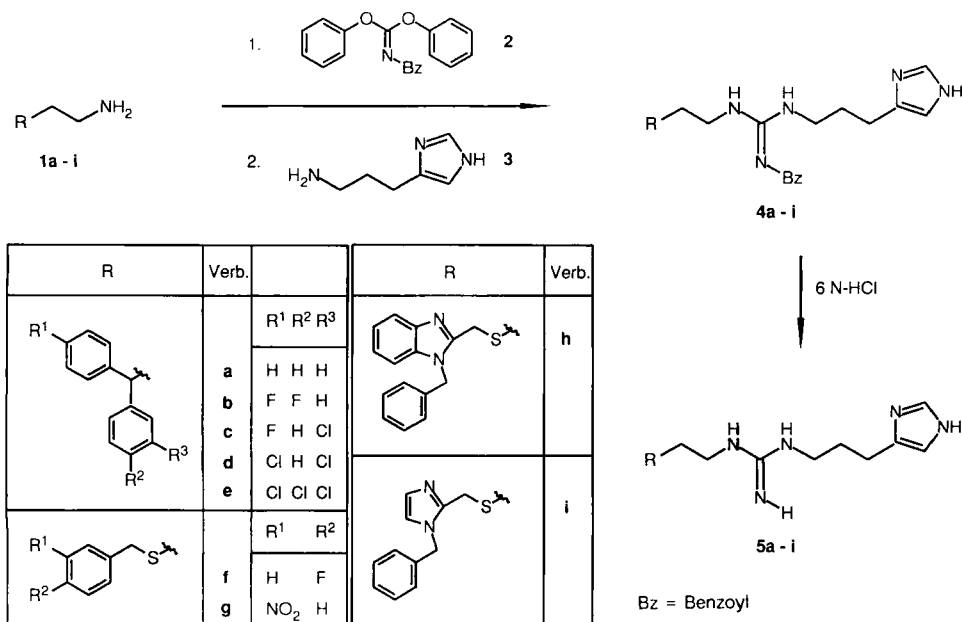
In der vorliegenden Publikation soll der Einfluß von Histamin-H₁- und H₂-Agonisten sowie -Antagonisten auf Mykobakterien untersucht werden. Damit soll der Frage nachgegangen werden, ob und welche Agonisten das Wachstum von Mykobakterien fördern und ob Antagonisten das Wachstum generell hemmen oder ob die Auswirkungen auf den Mikroorganismus Rezeptor-unabhängig erfolgen.

Chemischer Teil

Die Synthese der 3-(Imidazol-4-yl)propylguanidine erfolgt nach Schema 1. Durch sukzessive nucleophile Substitution der beiden Phenoxy-Gruppen von N-Benzoyldi-phenylimidocarbonat (2)⁵⁾ mit den entspr. Aminen 1a-i und 3-(Imidazol-4-yl)propylamin (3)⁶⁾ erhält man die N-Benzoylguanidine 4a⁷⁾, 4b-i, die durch saure Hydrolyse mit 6N-HCl in die Guanidine 5a⁷⁾, 5b-i übergeführt werden.

Mikrobiologische Testergebnisse

Die Testung der Verbindungen erfolgt am Stamm *M. tuberculosis* H 37 Ra in Middlebrook-7H9-Nährlösung. Die



Schema 1

Tab.1: Minimale Hemmkonzentrationen der Verbindungen 5 bis 13 gegen *M. tuberculosis* H 37 Ra

Verbindung	MHK (in µg/ml)
5a	32
5b	16
5c	8
5d	8
5e	4
5f	128
5g	128
5h	32
5i	64
6	≥2048
7	≥2048
8	2048
9	1024
10	>2048
11	> 512
12	> 512
13	> 512

minimalen Hemmkonzentrationen (MHK; in µg/ml) sind in Tab. 1 aufgeführt.

2-Benzylhistamin · 2 HCl (**8**) und 2-Phenyl-histamin · 2 HCl (**9**) sind Histamin-H₁-Agonisten. Im Gegensatz zu Histamin fördern sie das Wachstum von *M. tuberculosis* H 37 Ra nicht, sondern hemmen dieses sogar in sehr hohen Konzentrationen (MHK = 2048 bzw. 1024 µg/ml). In den Konzentrationen 256 und 128 µg/ml zeigen sie weder einen wachstumsfördernden noch einen hemmenden Effekt.

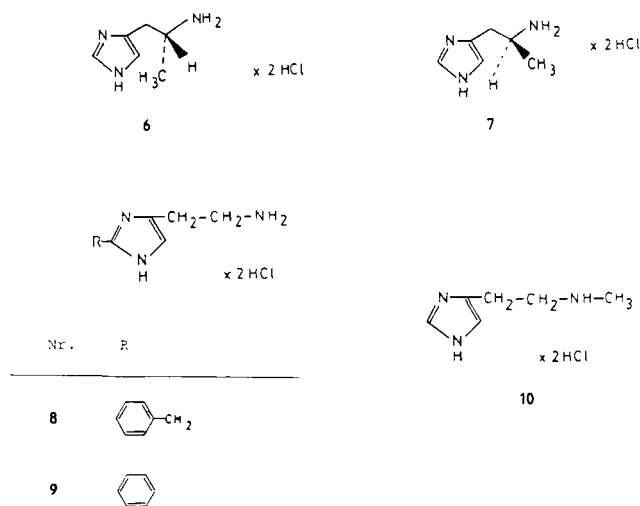
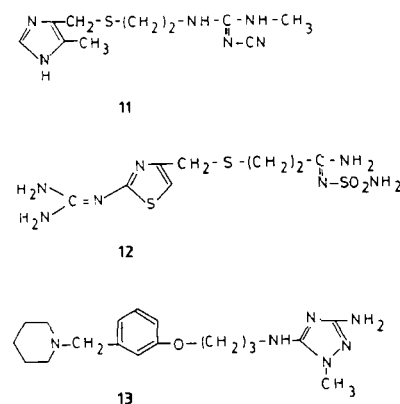
Der Histamin-H₂-Agonist N-α-Methylhistamin · 2 HCl (**10**), der zusätzlich Histamin-H₁-agonistische Eigenschaften besitzt, beschleunigt das Wachstum von *M. tuberculosis* H 37 Ra in Konzentrationen von 256 bis 2048 µg/ml, d.h. die Wachstumskurve weist eine größere Steigung auf. Die Bakterienendzahl der Kontrolle wird nicht erreicht. Eine mögliche Erklärung für diesen Effekt wäre, daß durch das beschleunigte Wachstum limitierende Nährbodenbestandteile verbraucht werden.

Aus den Ergebnissen mit den Verbindungen **8** bis **10** läßt sich schließen, daß nur strukturell sehr eng mit Histamin verwandte Substanzen wie **10** wachstumsfördernd wirken. Eine Phenyl- oder Benzylgruppe in 2-Stellung des Histamins verhindert eine wachstumssteigernde Wirkung.

Um diese Aussage zu prüfen, haben wir die Einflüsse der enantiomeren α-Methylhistamine **6** und **7** auf *M. tuberculosis* untersucht. Das R-konfigurierte Enantiomer **6** ist ein potenter Histamin-H₃-Agonist, während das S-Enantiomer **7** nur sehr schwach H₃-agonistisch wirksam ist.

6 hemmt in extrem hohen Konzentrationen das Mykobakterien-Wachstum, die MHK liegt bei ≥2048 µg/ml. Eine Wachstumsförderung wie bei **10** ist bei keiner der eingesetzten Konzentrationen zu sehen.

Diese Wachstumssteigerung der Mykobakterien ist aber bei **7** in allen Konzentrationen von 4 bis 2048 µg/ml zu

**Schema 2****Schema 3**

beobachten. Die räumliche Anordnung der α-Methylgruppe scheint also eine wichtige Rolle zu spielen.

Die Verbindungen **5a-e** sind Histamin-H₂-Agonisten mit H₁-antagonistischen Eigenschaften. Sie hemmen das Wachstum von *M. tuberculosis* H 37 Ra in therapeutisch interessanten Konzentrationen von 4 bis 32 µg/ml. Die Aktivität der ringunsubstituierten Verbindung **5a** gegen *M. tuberculosis* wird durch Einführung von Halogenatomen in die Phenylringe verbessert.

Für diese Wirkungsoptimierung dürfte die gesteigerte Lipophilie der halogenierten Verbindungen verantwortlich sein (Cl: π = 0.71; F: π = 0.14). Durch die Einführung von zwei F-Atomen wird die MHK um eine geometrische Verdünnungsstufe verbessert (**5b**, MHK = 16 µg/ml). Bei Einführung von Cl-Atomen, die einen höheren Lipophiliebeitrag erbringen, entstehen noch wirksamere Substanzen. Das dreifach chlorierte **5e** besitzt die höchste Lipophilie der untersuchten Reihe und zeigt auch die beste MHK (4 µg/ml). Die Wirksamkeit gegen Mykobakterien nimmt also innerhalb einer Wirkklasse mit steigender Lipophilie zu. Ein sterischer Einfluß durch die Substitution verschiedener Positionen der Aromaten ist nicht zu erkennen.

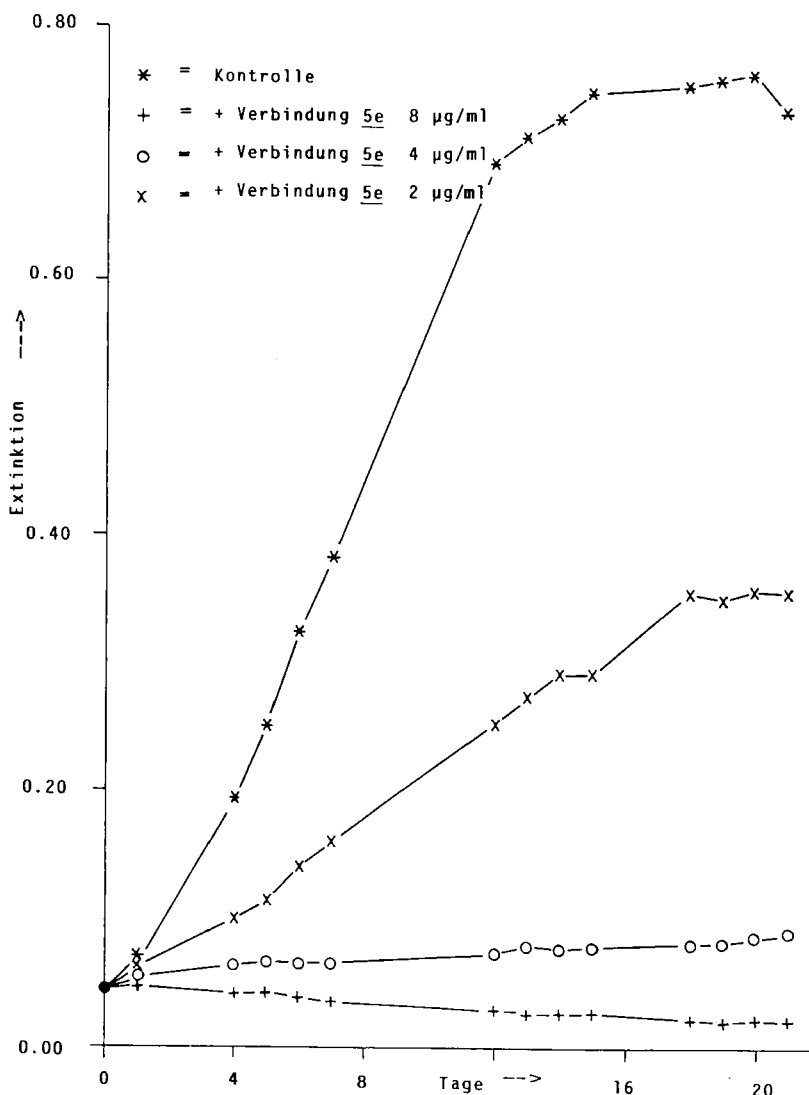


Abb. 1: Wachstum von *M. tuberculosis* H 37 Ra unter dem Einfluß verschiedener Konzentrationen von 5e.

Die Substanzen 5f-i, eine weitere Substanzklasse mit H_2 -agonistischen und H_1 -antagonistischen Eigenschaften, hemmen das Wachstum von *M. tuberculosis* ebenfalls, allerdings in weit höheren Konzentrationen als 5b-e. Die MHK-Werte liegen zwischen 32 und 128 µg/ml.

Die MHK-Werte der H_2 -Antagonisten Cimetidin (11), Famotidin (12) und Lamtidin (13) liegen über 512 µg/ml. Diese Verbindungen besitzen auf Mykobakterien weder einen fördernden noch einen hemmenden Einfluß.

Diskussion und Zusammenfassung

Das Vorkommen von Histaminrezeptoren in Mykobakterien ist bisher nicht untersucht worden. Allerdings wird von Einzellern wie z.B. *Tetrahymena* berichtet, die über Histamin- H_1 - und - H_2 -Rezeptoren verfügen^{8,9)}.

Die Wachstumsförderung von *M. tuberculosis* durch Histamin könnte auf die Bindung an Histaminrezeptoren oder aber auf andere Gründe zurückzuführen sein, wie z.B. auf

eine Auflockerung der Bakterienzellwand und eine dadurch erleichterte Aufnahme von Nährstoffen.

Die Untersuchung des Einflusses der beschriebenen Verbindungen auf das Wachstum von *M. tuberculosis* läßt eine eindeutige Aussage, ob Histaminagonisten das Wachstum der Mikroorganismen fördern und Antagonisten dieses entsprechend hemmen, nicht zu.

Die Methylderivate 7 und 10 beschleunigen wie Histamin selbst das Wachstum von Mykobakterien. Bereits die Einführung einer Benzyl- oder Phenylgruppe läßt diese Eigenschaft verschwinden, wie an 8 und 9 zu sehen ist. Interessant ist vor allem die Beobachtung, daß lediglich das S-Enantiomer 7, nicht aber das R-Enantiomer 6 wachstumsfördernd wirkt.

Die Feststellung einer antimykobakteriellen Wirksamkeit der Verbindungen 5a-i paßt zu den bisherigen Untersuchungen^{2,3,4)}, die ergaben, daß H_1 -Antihistaminika der verschiedensten chemischen Klassen das Wachstum von Mykobakterien hemmen.

Tab.2 ¹H-NMR-Daten von 4a-i, 5a-i

Verb. (Lösungsmittel) δ (ppm; J in Hz) ^{a)}	
4a	(C) 1.84 (m, 2H, CH ₂), 2.42 (m, 2H, CH ₂), 2.61 (m, 2H, CH ₂ -Im), 3.24 (m, 2H, CH ₂ -NH), 3.55 (m, 2H, CH ₂ -NH), 4.04 (t, J = 7.5, 1H, CH), 6.69 (s, 1H, Im-5-H), 7.2-7.55 (m, 14H; arom., Im-2-H), 8.12 (m, 2H, arom.), 10.5 (br, 1H ^{b)} , Im-NH).
4b	(C) 1.88 (m, 2H, CH ₂), 2.38 (q, J = 7.5, 2H, CH ₂), 2.65 (t, J = 6, 2H, CH ₂ -Im), 3.1-3.8 (br d, 4H, CH ₂ -NH), 4.04 (t, J = 7.5, 1H, CH), 6.75 (s, 1H, Im-5-H), 6.95-7.0 (m, 4H, arom.), 7.15-7.2 (m, 4H, arom.), 7.35-7.45 (m, 4H; arom., Im-2-H), 8.10 (m, 2H, arom.), 10.5 (br, 1H ^{b)} , Im-NH).
4c	(C) 1.88 (m, 2H, CH ₂), 2.38 (q, J = 7.5, 2H, CH ₂), 2.65 (t, J = 6, 2H, CH ₂ -Im), 3.0-3.8 (br, 4H, CH ₂ -NH), 4.02 (t, J = 8, 1H, CH), 6.75 (s, 1H, Im-5-H), 6.95-7.45 (12H; arom., Im-2-H), 8.11 (m, 2H, arom.), 10.45 (br, 1H ^{b)} , Im-NH).
4d	(C) 1.85 (m, 2H, CH ₂), 2.36 (q, J = 7, 2H, CH ₂), 2.64 (t, J = 6, 2H, CH ₂ -Im), 3.0-3.6 (br, 4H, CH ₂ -NH), 3.99 (t, J = 7.5, 1H, CH), 6.73 (s, 1H, Im-5-H), 7.05-7.25 (m, 8H, arom.), 7.35-7.5 (m, 4H; arom., Im-2-H), 8.10 (m, 2H, arom.), 10.4 (br, 1H ^{b)} , Im-NH).
4e	(C) 1.89 (m, 2H, CH ₂), 2.38 (q, J = 7, 2H, CH ₂), 2.66 (t, 2H, CH ₂ -Im), 3.1-3.8 (br, 4H, CH ₂ -NH), 4.03 (t, 1H, CH), 6.79 (s, 1H, Im-5-H), 7.05-7.5 (m, 11H; arom., Im-2-H), 8.05 (m, 2H, arom.), 10.55 (br, 1H ^{b)} , Im-NH).
4f	(C) 1.94 (m, 2H, CH ₂), 2.65-2.75 (m, 4H; S-CH ₂ , CH ₂ -Im), 3.41 (br m, 2H, CH ₂ -NH), 3.70 (br m, 2H, CH ₂ -NH), 3.73 (s, 2H, Phe-CH ₂), 6.79 (s, 1H, Im-5-H), 7.2-7.3 (m, 4H, arom.), 7.35-7.45 (m, 4H; arom., Im-2-H), 8.20 (m, 2H, arom.), 10.5 (br, 1H ^{b)} , Im-NH).
4g	(C) 1.92 (m, 2H, CH ₂), 2.6-2.8 (m, 4H; S-CH ₂ , CH ₂ -Im), 3.39 (br m, 2H, CH ₂ -NH), 3.72 (br m, 2H, CH ₂ -NH), 3.81 (s, 2H, Phe-CH ₂), 6.81 (s, 1H, Im-5-H), 7.4-7.6 (m, 5H; arom., Im-2-H), 7.64 (m, 1H, arom.), 8.10 (m, 1H, arom.), 8.2-8.3 (m, 3H, arom.), 10.5 (br, 1H ^{b)} , Im-NH).
4h	(C) 2.02 (m, 2H, CH ₂), 2.7-2.9 (m, 4H; S-CH ₂ -Im), 3.40 (br m, 2H, CH ₂ -NH), 3.75 (br m, 2H, CH ₂ -NH), 3.96 (s, 2H, Benzim-CH ₂ -S), 5.52 (s, 2H, Benzim-CH ₂ -Phe), 6.81 (s, 1H, Im-5-H), 7.11 (m, 2H, arom.), 7.3-7.6 (m, 10H; arom., Im-2-H), 7.74 (m, 1H, arom.), 8.20 (m, 2H, arom.), 10.5 (br, 1H ^{b)} , Im-NH).
4i	(C) 2.01 (m, 2H, CH ₂), 2.65-2.85 (m, 4H; S-CH ₂ , CH ₂ -CH ₂ -Im), 3.41 (br m, 2H, CH ₂ -NH), 3.80 (s, 2H, Im-CH ₂ -S), 3.87 (br m, 2H, CH ₂ -NH), 5.22 (s, 2H, Im-CH ₂ -Phe), 6.81 (s, 1H, [CH ₂] ₃ -Im-5-H), 7.00 (m, 2H; Im-4-H, S-CH ₂ -Im-5-H), 7.18 (m, 2H, arom.), 7.35-7.6 (m, 7H; arom., Im-2-H), 8.22 (m, 2H, arom.), 10.9 (br, 1H ^{b)} , Im-NH).
5a	(D) 1.80 (m, 2H, CH ₂), 2.27 (q, 2H, CH ₂), 2.68 (t, J = 7.5, 2H, CH ₂ -Im), 3.03 (m, 2H, CH ₂ -NH), 3.16 (m, 2H, CH ₂ -NH), 4.10 (t, J = 7.5, 1H, CH), 7.15-7.45 (m, 13H; arom., Im-5-H, 2H ^b , C=NH ₂ ⁺), 7.81 (br s, 2H ^b , CH ₂ -NH), 8.99 (s, 1H, Im-2-H), 14.3 (br, 2H ^b , Imidazolium-NH).
5b	(D) 1.81 (m, 2H, CH ₂), 2.23 (q, 2H, CH ₂), 2.67 (t, 2H, CH ₂ -Im), 2.99 (m, 2H, CH ₂ -NH), 3.15 (m, 2H, CH ₂ -NH), 4.17 (t, 1H, CH), 7.10-7.15 (m, 4H, arom.), 7.35-7.45 (m, 7H; arom., Im-5-H, 2H ^b , C=NH ₂ ⁺), 7.81 (s, 2H ^b , CH ₂ -NH), 9.01 (s, 1H, Im-2-H), 14.4 (br, 2H ^b , Imidazolium-NH).
5c	(D) 1.83 (m, 2H, CH ₂), 2.28 (q, 2H, CH ₂), 2.71 (t, 2H, CH ₂ -Im), 3.02 (m, 2H, CH ₂ -NH), 3.18 (m, 2H, CH ₂ -NH), 4.24 (t, 1H, CH), 7.1-7.55 (m, 11H; arom., Im-5-H, 2H ^b , C=NH ₂ ⁺), 7.98 (br s, 2H ^b , CH ₂ -NH), 9.05 (s, 1H, Im-2-H), 14.55 (br, 2H ^b , Imidazolium-NH).
5d	(D) 1.84 (m, 2H, CH ₂), 2.28 (q, 2H, CH ₂), 2.73 (t, J = 7.5, 2H, CH ₂ -Im), 3.05 (m, 2H, CH ₂ -NH), 3.17 (m, 2H, CH ₂ -NH), 4.30 (t, 1H, CH), 7.25-7.65 (m, 11H; arom., Im-5-H, 2H ^b , C=NH ₂ ⁺), 8.05 (br m, 2H ^b , CH ₂ -NH), 9.07 (s, 1H, Im-2-H), 14.53 (br, 1H ^b , Imidazolium-NH), 14.84 (br s, 1H ^b , Imidazolium-NH).
5e	(D) 1.83 (m, 2H, CH ₂), 2.27 (q, 2H, CH ₂), 2.71 (t, J = 7.5, 2H, CH ₂ -Im), 3.02 (m, 2H, CH ₂ -NH), 3.16 (m, 2H, CH ₂ -NH), 4.26 (t, J = 8, 1H, CH), 7.15-7.65 (m, 10H; arom., Im-5-H, 2H ^b , C=NH ₂ ⁺), 7.97 (br s, 2H ^b , CH ₂ -NH), 9.05 (s, 1H, Im-2-H), 14.55 (br, 2H ^b , Imidazolium-NH).
5f	(D) 1.85 (m, 2H, CH ₂), 2.51 (m, 2H, CH ₂ -Im), 2.72 (t, 2H, S-CH ₂), 3.20 (m, 2H, CH ₂ -NH), 3.42 (br, 2H, CH ₂ -NH), 3.82 (s, 2H, Phe-CH ₂), 7.1-7.2 (m, 2H, arom.), 7.4-7.5 (m, 2H, arom.), 7.52 (s, 1H, Im-5-H), 7.63 (br s, 2H ^b , C=NH ₂ ⁺), 7.82 (t, 1H ^b , CH ₂ -NH), 8.04 (t, 1H ^b , CH ₂ -NH), 9.04 (s, 1H, Im-2-H), 14.5 (br, 2H ^b , Imidazolium-NH).
5g	(D) 1.88 (m, 2H, CH ₂), 2.59 (m, 2H, CH ₂ -Im), 2.73 (t, 2H, S-CH ₂), 3.19 (m, 2H, CH ₂ -NH), 3.45 (m, 2H, CH ₂ -NH), 4.01 (s, 2H, Phe-CH ₂), 7.51 (s, 1H, Im-5-H), 7.6-7.75 (m, 3H; arom., 2H ^b , C=NH ₂ ⁺), 7.90 (m, 2H, arom.), 8.1-8.2 (m, 3H; arom., 1H ^b , CH ₂ -NH), 8.28 (t, 1H ^b , CH ₂ -NH), 9.08 (s, 1H, Im-2-H), 14.6 (br, 2H ^b , Imidazolium-NH).
5h	(D) 1.86 (m, 2H, CH ₂), 2.74 (t, J = 7, 2H, CH ₂ -Im), 2.72 (t, J = 6.5, 2H, S-CH ₂), 3.22 (m, 2H, CH ₂ -NH), 3.57 (m, 2H, CH ₂ -NH), 4.62 (s, 2H, Benzim-CH ₂ -S), 5.85 (s, 2H, Benzim-CH ₂ -Phe), 7.35-7.45 (m, 5H, arom.), 7.5-7.6 (m, 3H; arom., Im-5-H), 7.64 (d, J = 7, 1H, arom.), 7.77 (br s, 2H ^b , C=NH ₂ ⁺), 7.87 (d, J = 7, 1H, arom.), 8.01 (t, 1H ^b , CH ₂ -NH), 8.21 (t, 1H ^b , CH ₂ -NH), 9.06 (s, 1H, Im-2-H), 14.9 (br, 2H ^b , Imidazolium-NH).
5i	(D) 1.89 (m, 2H, CH ₂), 2.7-2.85 (m, 4H; S-CH ₂ , CH ₂ -CH ₂ -Im), 3.24 (m, 2H, CH ₂ -NH), 3.42 (m, 2H, CH ₂ -NH), 4.45 (s, 2H, Im-CH ₂ -S), 5.56 (s, 2H, Im-CH ₂ -Phe), 7.4-7.5 (m, 5H, arom.), 7.51 (s, 1H, [CH ₂] ₃ -Im-5-H), 7.67 (d, J = 5, 2H; Im-4-H, S-CH ₂ -Im-5-H), 7.80 (br s, 2H ^b , C=NH ₂ ⁺), 8.04 (t, 1H ^b , CH ₂ -NH), 8.27 (t, 1H ^b , CH ₂ -NH), 9.12 (s, 1H, Im-2-H), 14.7 (br, 2H ^b , Imidazolium-NH).

a) 250 MHz, 4a-d, 5c-e: 300 MHz; Lösungsmittel C = CDCl₃, D = [D₆]DMSO; Benzim = Benzimidazol, Im = Imidazol, Phe = Phenyl; 5a-i wurden als Hydrochloride zur ¹H-NMR verwendet; b) austauschbar mit D₂O.

Die Bedeutung der Lipophilie innerhalb einer chemischen Klasse für die antimykobakterielle Aktivität ist aus den Ergebnissen von 5a-e deutlich zu sehen.

Die H₂-Antagonisten Cimetidin (11), Famotidin (12) und Lamtidin (13) haben keinen Einfluß auf das Wachstum von *M. tuberculosis* H 37 Ra.

Die Autoren danken Frau E. Schreiber für die Mithilfe bei den mikrobiologischen Arbeiten.

Experimenteller Teil

Schmp. (unkorr.): Schmp.-Bestimmungsapparat nach Dr. Tottoli (Fa. Büchi). - Elementaranalysen: Perkin-Elmer-Elementaranalysator 240C. -

¹H-NMR-Spektren: Bruker WM 250 (250 MHz) und Bruker AC 300 (300 MHz), TMS als int. Stand. - EI-MS: Finnigan MAT CH7A (70 eV; Quellentemp. 170°C) und MAT 711 (80 eV; Quellentemp. 200°C), *FAB-MS (Xenon; DMSO/Glycerin): Finnigan MAT CH5DF. - Präp. Chromatographie: Chromatotron Modell 7924T (Fa. Harrison Research), Kieselgel 60 PF₂₅₄ gipshaltig, Schichtdicke 4 mm.

Herstellung der Substanzen

Die Amine 1b, d, e⁽¹⁰⁾, 6, 7⁽¹¹⁾, 8, 9⁽¹²⁾ und 10⁽¹³⁾ werden nach bekannten Methoden hergestellt. Die neu synthetisierten Amine 1c, 1f-i werden gesondert veröffentlicht. Analytische Daten von 4a-i und 5a-i sind in Tab. 2 und 3 zusammengefaßt.

Tab. 3: Präparative und analytische Daten

Nr.	Ausb. (%)	Schmp.°C (Lösungsm.)	Summenformel (Molmasse)	Analyse		Ber. Gef. N	Masse ^{a)} m/z (%)
				C	H		
4a	52	148-149 (EtOAc)	C ₂₉ H ₃₁ N ₅ O (465.6)	74.8 74.8	6.71 6.74	15.0 15.0	465 (M ⁺ , 1), 105 (100).
4b	59	158 (MeCN)	C ₂₉ H ₂₉ F ₂ N ₅ O (501.6)	69.5 69.8	5.83 5.88	14.0 14.1	501 (M ⁺ , 2), 105 (100).
4c	63	118 (EtOAc)	C ₂₉ H ₂₉ ClFN ₅ O (518.0)	67.2 67.3	5.64 5.64	13.5 13.5	517 (M ⁺ , 2), 105 (100).
4d	59	128.5 (MeCN)	C ₂₉ H ₂₉ Cl ₂ N ₅ O (534.5)	65.2 64.8	5.47 5.53	13.1 13.0	533 (M ⁺ , < 1), 105 (100).
4e	65	131 (MeCN)	C ₂₉ H ₂₈ Cl ₃ N ₅ O (568.9)	61.2 60.9	4.96 4.96	12.3 12.4	567 (M ⁺ , 3), 105 (100).
4f	55	124 (EtOAc)	C ₂₃ H ₂₆ FN ₅ OS (439.6)	62.9 62.9	5.96 5.99	15.9 16.0	439 (M ⁺ , 2), 109 (100).
4g	51	119 (EtOAc)	C ₂₃ H ₂₆ N ₆ O ₃ S (466.6)	59.2 58.9	5.62 5.61	18.0 18.2	466 (M ⁺ , 1), 105 (100).
4h	43	140 (EtOAc)	C ₃₁ H ₃₃ N ₇ OS (551.7)	67.5 67.2	6.03 6.07	17.8 17.7	552 ([M+H] ⁺ , 27), 91 (100).
4i	48	102 (EtOAc)	C ₂₇ H ₃₁ N ₇ OS (501.7)	64.7 64.8	6.23 6.26	19.5 19.5	501 (M ⁺ , 8), 105 (100).
5a	87	147 (EtOH/H ₂ O)	C ₂₂ H ₂₇ N ₅ · 2C ₆ H ₃ N ₃ O ₇ · H ₂ O (837.7)	48.8 49.0	4.21 3.89	18.4 18.0	362 ([M+H] ⁺ , 84), 109 (100).
5b	92	139 (EtOH/H ₂ O)	C ₂₂ H ₂₅ F ₂ N ₅ · 2C ₆ H ₃ N ₃ O ₇ · H ₂ O (873.7)	46.7 46.7	3.81 3.80	17.6 17.2	398 ([M+H] ⁺ , 70), 109 (100).
5c	93	159 (EtOH/H ₂ O)	C ₂₂ H ₂₅ ClFN ₅ · 2C ₆ H ₃ N ₃ O ₇ (872.1)	46.8 47.1	3.58 3.54	17.7 17.3	414 ([M+H] ⁺ , 37), 109 (100).
5d	90	150-151 (EtOH/H ₂ O)	C ₂₂ H ₂₅ Cl ₂ N ₅ · 2C ₆ H ₃ N ₃ O ₇ (888.6)	46.0 46.3	3.52 3.37	17.3 16.9	430 ([M+H] ⁺ , 34), 109 (100).
5e	85	172 (EtOH/H ₂ O)	C ₂₂ H ₂₄ Cl ₃ N ₅ · 2C ₆ H ₃ N ₃ O ₇ (923.0)	44.2 44.0	3.28 3.05	16.7 16.3	464 ([M+H] ⁺ , 29), 109 (100).
5f	89	141 (EtOH/H ₂ O)	C ₁₆ H ₂₂ FN ₅ S · 2C ₆ H ₃ N ₃ O ₇ · H ₂ O (811.7)	41.4 41.7	3.73 3.38	19.0 19.3	335 (M ⁺ , 1), 109 (100).
5g	88	175 (EtOH/H ₂ O)	C ₁₆ H ₂₂ N ₆ O ₂ S · 2C ₆ H ₃ N ₃ O ₇ · H ₂ O (838.7)	40.1 39.8	3.61 3.23	20.0 19.6	362 (M ⁺ , 1), 82 (100).
5h	81	158 (EtOH/H ₂ O)	C ₂₄ H ₂₉ N ₇ S · 3C ₆ H ₃ N ₃ O ₇ (1134.9)	44.4 44.3	3.37 3.27	19.8 19.6	448 ([M+H] ⁺ , 27), 91 (100).
5i	80	86 (EtOH/H ₂ O)	C ₂₀ H ₂₇ N ₇ S · 3C ₆ H ₃ N ₃ O ₇ (1084.9)	42.1 42.0	3.34 3.15	20.7 20.5	398 ([M+H] ⁺ , 20), 91 (100).

^{a)} 4a-g, 5f, g: EI 70 eV; 4i: EI 80 eV; 4h, 5a-e, h, i: ⁺FAB; 5a-i wurden als Hydrochloride zur MS verwendet.

Herstellung der N-Benzoylguanidine 4a-i

5 mmol N-Benzoyl-diphenylimidocarbonat (2) und 5 mmol der entspr. Aminbase 1a-i werden 15 min bei Raumtemp. in 20 ml Dichlormethan gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert, der Rückstand in 30 ml Pyridin aufgenommen und nach Zusatz von 5.5 mmol 3-(Imidazol-4-yl)propylamin (3) 60-120 min unter Rückfluß erhitzt (DC-Kontrolle). Pyridin wird i. Vak. abgedampft, der Rückstand in verd. HCl aufgenommen und Phenol mit Ether entfernt. Nach Alkalisieren mit wäßrigem NH₃ wird mit Dichlormethan extrahiert, die org. Phase mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert. Die N-Benzoylguanidine 4a-i werden mit Hilfe eines Chromatotrons (Fließmittel: Chloroform/Methanol, 99+1 bis 95+5, Ammoniakatmosphäre) gereinigt und aus Essigsäureethylester bzw. Acetonitril umkristallisiert.

Herstellung der Guanidine 5a-i

1-2 mmol 4a-i werden in 45 ml 6 N-HCl 5-10 h unter Rückfluß erhitzt (DC-Kontrolle). Nach dem Erkalten des Reaktionsansatzes wird Benzoe-

säure durch Extraktion mit Ether entfernt, die wäßrige Phase i. Vak. zur Trockne eingedampft und der Rückstand i. Hochvak. getrocknet. Die Dihydrochloride 5a-g bzw. Trihydrochloride 5h-i werden in Form trockener hygroskopischer Schäume erhalten und zur Charakterisierung in die entspr. Pikrate überführt.

Mikrobiologische Testmethode

Die Testverbindungen werden in H₂O oder DMSO gelöst und dem flüssigen Middlebrook-7H9-Nährboden in einer geometrischen Verdünnungsreihe, beginnend bei 256 µg/ml, zugegeben. Die Endkonzentration an DMSO beträgt 2.5%. Die Teströhrchen mit der Nährlösung werden mit einer Suspension von *M. tuberculosis* H 37 Ra (Max-von-Pettenkofer-Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Universität München, Prof. Dr. G. Ruckdeschel) in physiologischer Kochsalzlösung so beimpft, daß in den Kulturgefäßen (Schott-Duran, 18 mm Durchmesser) eine Extinktionsdifferenz von 0.04 festzustellen ist (Eppendorf 1101 M Photometer, 546 nm). Dies entspricht 5·10⁶ Keimen/ml. Die Inkubation erfolgt 21 d

bei 37°C in einem Rundschtüttler (TR-1 und ITH-1, B. Braun-Melsungen, 100 Umdrehungen/min). Das Bakterienwachstum wird 1 x täglich, 5 x wöchentlich durch Trübungsmessung ausgewertet. Die kleinste Konzentration einer Verbindung, die eine Wachstumskurve ergibt, die den Wert 0.2 nicht übersteigt, wird als minimale Hemmkonzentration (MHK) bezeichnet.

Die Verbindungen 5a-l, 6-10 werden als Hydrochloride, 11-13 als freie Basen eingesetzt.

Literatur

- 1 W. Meindl, Arch. Pharm. (Weinheim) 320, 475 (1987).
- 2 W. Meindl, Arch. Pharm. (Weinheim) 321, 473 (1988).
- 3 W. Meindl und R. Laske, Arch. Pharm. (Weinheim) 322, 133 (1989).
- 4 W. Meindl, Arch. Pharm. (Weinheim) 322, 493 (1989).
- 5 A. Buschauer, Arch. Pharm. (Weinheim) 320, 377 (1987).
- 6 S. Elz und W. Schunack, Z. Naturforsch. 42b, 238 (1987).
- 7 Heumann Pharma GmbH und Co. (Erf. A. Buschauer, H. Schikaneder, W. Schunack, S. Elz, I. Szelenyi, G. Baumann und K.H. Ahrens), DE 3 512 084, 2.4.1985; C.A. 106, 84 609y (1987).
- 8 P. Kovacs, Development of Hormone Receptors, S. 125, Birkhäuser Verlag, Basel, Boston 1987.
- 9 G. Csaba, Development of Hormone Receptors, S. 148, Birkhäuser Verlag, Basel, Boston 1987.
- 10 Farbwerke Höchst AG (Erf. H. Leditschke, H. Rolly und H. Schmidt-Ruppin), US 2 843 594, 15.7.1958; C.A. 63, 16 162i (1958).
- 11 G. Gerhard und W. Schunack, Arch. Pharm. (Weinheim) 313, 709 (1980).
- 12 P. Dziuron und W. Schunack, Arch. Pharm. (Weinheim) 307, 89 (1974).
- 13 H.-G. Lennartz, M. Hepp und W. Schunack, Eur. J. Med. Chem. 13, 229 (1978).

[Ph674]