

H. Schönenberger und P. Lippert

Untersuchungen zur tumorhemmenden und antimikrobiellen Wirkung acylierter N-Halbacetale, Aminale und Aminomethylester der Dithiocarbamidsäure*)

18. Mitt.: Über Cytostatica¹⁾

Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München
(Eingegangen am 9. Juni 1971)

Acylierte N-Halbacetale, Aminale und Dithiocarbamidsäure-acyl-aminomethylester wurden vergleichend auf ihre tumorhemmenden (YOSHIDA-Sarkom der Ratte) und antimikrobiellen Eigenschaften untersucht. Die Tumورهemmung betrug zwischen 25 und 66 %, war jedoch zeitlich begrenzt. Die vergleichende Testung läßt keine gesteigerte Wirkung der Dithiocarbamidsäure-acyl-aminomethylester gegenüber den entsprechenden Halbacetalen und Aminalen erkennen.

Gegenüber grampositiven und gramnegativen Bakterien sind alle Verbindungen praktisch unwirksam. Ihre Wirkung gegenüber Pilzen steigt in der Reihenfolge N-Halbacetal < Aminoal < Ester, ist im Vergleich zu den isosteren β -Aminoketonen und Dithiourethanen jedoch gering.

Studies on the Carcinostatic and Antimicrobial Activity of Acylated N-Hemiacetals, Aminoals and Aminoethyl Esters of Dithiocarbamic Acid

The comparative carcinostatic (YOSHIDA-sarcoma of rats) and antimicrobial properties of acylated N-hemiacetals, aminoals and acyl-aminomethylesters of dithiocarbamic acid have been studied. The inhibition of YOSHIDA-sarcoma was found to be between 25 and 66 %. The inhibitory effect however was transitory. The comparative study showed no increased carcinostatic activity of the acyl-aminoethyl esters of dithiocarbamic acid as compared to the corresponding hemiacetals and aminoals.

All compounds are practically ineffective against grampositive and gramnegative bacteria. Their effect toward fungi increases in the order N-hemiacetal < aminoal < ester. Compared with the isosteric β -aminoketones and dithiourethanes the fungistatic activity is low.

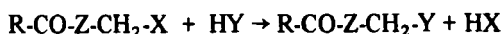
Über die tumorhemmenden Eigenschaften acylierter N-Halbacetale und Aminale liegen bereits Untersuchungen vor. Weitzel und Mitarb.²⁾ berichteten eingehend über die Wirkung dieser Substanzklassen am Ehrlich-Ascites-Carcinom der Maus und am Walker-Carcinosarkom der Ratte. Die carcinostatischen Eigenschaften wurden mit der Amidomethylierung biologisch wichtiger Substrate (HY) erklärt. Dieser Vorgang steht in Analogie zur Acyläthylierung nucleophiler Substrate durch isostere β -Aminoketone:

*) Auszug aus der Dissertation P. Lippert, Universität München 1970.

1 17. Mitt.: H. Schönenberger, D. Adam, G. Alonso und A. Adam, Arch. Pharmaz. 305, 300 (1972).

2 G. Weitzel et al., Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. 334, 1 (1963), 336; 107 (1964).

sie wurde als Ursache für die antimikrobiellen und tumorhemmenden Eigenschaften erkannt³⁾⁴⁾.



Amidomethylierung durch:	N-Halbacetale	[Z = NH, X = OH],
	Aminale	[Z = NH, X = N(R) ₂],
Acyläthylierung durch:	Dithiocarbamidsäure-acyl-amino-	
	methylester	[Z = NH, X = S(CS)N(R) ₂]
	β-Aminoketone	[Z = CH ₂ , X = N(R) ₂]
	Dithiourethane	[Z = CH ₂ , X = S(CS)N(R) ₂]

Ein gleichartiges reaktives Verhalten wie bei Aminen und damit tumorhemmende Eigenschaften sind für Dithiocarbamidsäure-acyl-aminomethylester anzunehmen^{*)}. Sie sind Isostere der Dithiourethane, die sich durch ausgeprägte antimikrobielle Wirkungen auszeichnen⁵⁾.

Über die tumorhemmenden Eigenschaften von Dithiocarbamidsäure-acyl-aminomethylester liegen unseres Wissens keine Testdaten vor. Dagegen erschienen ausführliche Arbeiten⁶⁾⁷⁾ über die Synthese dieser Verbindungsklasse. Angaben zur Reaktion mit nucleophilen Substraten unter physiologischen Bedingungen fehlen.

Das Ziel unserer Untersuchungen war eine vergleichende Prüfung acylierter N-Halbacetale, Aminerale und Acyl-aminomethylester der Dithiocarbamidsäure auf tumorhemmende und antimikrobielle Eigenschaften. Dabei wurde folgenden Fragen Beachtung geschenkt: 1) führen die beim Wirkungsvorgang freigesetzten Dithiocarbamidsäuren zu einer Verbesserung dieser Eigenschaften, 2) bleibt die fungistatische Wirkung der Dithiourethane beim Austausch der CH₂-Gruppe durch NH erhalten?

Die Darstellung der acylierten N-Halbacetale erfolgte nach ⁸⁾ und ⁹⁾ durch Reaktion der entsprechenden Carbonsäureamide mit wässriger Formaldehydlösung. Das N-Hydroxymethyl-acetamid wurde durch Schmelzen von Acetamid und Paraformaldehyd hergestellt¹⁰⁾. Die Synthese der acylierten Aminerale erfolgte durch Erhitzen von Amid, Formaldehydlösung und Amin¹¹⁾. Dithiocarbamidsäure-acyl-aminomethylester wur-

3 H. Schönenberger, T. Bastug und D. Adam, *Arzneimittel-Forsch.* 19, 1082 (1969)

4 H. Schönenberger und T. Bastug, *Arzneimittel-Forsch.* 21, 68 (1971).

5 H. Schönenberger und P. Lippert, *Pharmazie i. Dr.*

*) Siehe dazu auch ⁶⁾

6 N. Kreutzkamp und H. Y. Oei, *Dtsch. Apotheker-Ztg.* 104, 1387 (1964). *Arch. Pharmaz.* 299, 906 (1966).

7 H. Y. Oei, Dissertation, Universität Hamburg 1966.

8 F. Sachs, *Ber. dtsch. chem. Ges.* 31, 3230 (1898).

9 A. Einhorn, *Liebigs Ann. Chem.* 343, 207 (1905).

10 H. Böhme et al., *Chem. Ber.* 92, 1599 (1959).

11 H. Hellmann und G. Haas, *Chem. Ber.* 90, 50 (1957).

Tabelle 1: Prüfung der Derivate des Acetamids am soliden YOSHIDA-Sarkom der Ratte

Nr.	Verbindung	Gesamtdosis		Tierzahl		Mittlere Lebensdauer		Lebensverlängerung in %	Tumorzunehmung in %	DL ₅₀ (l) mg/kg	**)
		in mg/kg	verteilt auf Tage	Versuch	Kontrolle	Versuch	Kontrolle				
I	R = OH	12000	5	5	5	24	20	20	66	9000	wL
II	R = N(CH ₃) ₂	1200	4	4	4	29	19	52	36	860	wL
III	R = S-CS-N(CH ₃) ₂	85	4	4	4	21	19	10	25	60	ös

Tabelle 2: Prüfung der Derivate des Benzamids am soliden YOSHIDA-Sarkom der Ratte

Nr.	Verbindung	Gesamtdosis		Tierzahl		Mittlere Lebensdauer		Lebensverlängerung in %	Tumorzunehmung in %	DL ₅₀ (l) mg/kg	**)
		in mg/kg	verteilt auf Tage	Versuch	Kontrolle	Versuch	Kontrolle				
IV	R = N(C ₂ H ₅) ₂	120	1	8	8	59	51	16	—*)	240	wL
V	R = S-CS-N(C ₂ H ₅) ₂	230	1	8	8	17	51	—	—*)	460	ös

*) Hemmung unter 25 % = 0 (Fehlergrenze)

**) = Zubereitungsform: wL = wässrige Lösung; öS = ölige Suspension

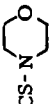
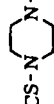
Tabelle 3: Prüfung der Derivate des Succinimids am soliden YOSHIDA-Sarkom der Ratte

Nr.	Verbindung	Gesamtdosis		Tierzahl		Mittlere Lebensdauer		Lebensverlängerung in %	Tumorzunahme in %	DL ₅₀ (1)	
		in mg/kg	verteilt auf Tage	Versuch	Kontrolle	Versuch	Kontrolle			mg/kg	**)
	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C}-\text{CO} \backslash \\ \quad \quad \quad \text{N}-\text{CH}_2-\text{R} \\ \text{H}_2\text{C}-\text{CO} / \end{array}$										
VI	R = OH	875	5	8	8	—	—	—	—*)	700	wL
VII	R = N(CH ₃) ₂	205	4	4	4	25	19	32	38	150	wL
VIII	R = S-CS-N(CH ₃) ₂	405	4	4	4	21	19	10	33	350	ös
IX	R = 	575	5	6	6	28	20	40	31	600	wL
X	R = S-CS- 	1125	4	5	5	20	18	11	45	950	ös
XI	R =  -CH ₃	350	5	5	5	20	20	—	25	230	wL
XII	R = S-CS-  -N-CH ₃	775	4	5	5	21	18	17	27	500	ös

*) Hemmung unter 25 % = 0 (Fehlergrenze); nach L. Bindl, unveröffentlichte Versuche

**) = Zubereitungsform: wL = wässrige Lösung; öS = ölige Suspension

Tabelle 4: Prüfung der Derivate des Nicotinamids am soliden YOSHIDA-Sarkom der Ratte

Nr.	Verbindung 	Gesamtdosis		Tierzahl		Mittlere Lebensdauer		Lebens- verlän- gerung in %	Tumor- wachs- tums- hemmung in %	DL ₅₀ (1) mg/kg	**)
		in mg/kg	verteilt auf Tage	Versuch	Kontrolle	Versuch	Kontrolle				
XIII	R = OH	3900	5	8	8	—	—	—	45*)	3100	wL
XIV	R = S-CS-N(CH ₃) ₂	60	4	5	5	20	18	11	41	30	öS
XV	R = 	1300	5	6	6	28	20	40	22	1400	wL
XVI	R = S-CS-N 	40	4	5	5	17	20	—	36	45	öS
XVII	R = N  -CH ₃	1375	5	6	6	36	20	80	43	1450	wL
XVIII	R = S-CS-N  -CH ₃	75	4	5	5	20	20	—	35	65	öS

*) L. Bindl, unveröffentlichte Versuche

**) = Zubereitungsform: wL = wässrige Lösung; öS = ölige Suspension

Tabelle 5: Prüfung der Derivate des Isonicotinamids am soliden YOSHIDA-Sarkom der Ratte

Nr.	Verbindung 	Gesamtdosis		Tierzahl		Mittlere Lebensdauer		Lebensverlängerung in %	Tumorzunwuchshemmung in %	DL ₅₀ (1) mg/kg **)
		in mg/kg	verteilt auf Tage	Versuch	Kontrolle	Versuch	Kontrolle			
XIX	R = OH	2250	5	8	8	—	—	—	45 ⁺)	1750 wL
XX	R = S-CS-N(CH ₃) ₂	40	4	5	5	22	30	—	41	30 öS
XXI	R wie IX	1500	5	6	6	29	20	45	30	1750 wL
XXII	R wie X	47	5	5	5	21	20	5	43	25 öS
XXIII	R wie XI	1125	5	6	6	38	20	90	45	1200 wL
XXIV	R wie XII	70	5	5	5	21	20	5	35	45 öS

+) L. Bindl, unveröffentlichte Versuche

++) = Zubereitungsform: wL = wäßrige Lösung; öS = ölige Suspension

den durch Umsetzung acylierter Aminale mit Schwefelkohlenstoff oder aus N-Chlor-methyl-carbonsäureamiden und den Natriumsalzen der Dithiocarbamidsäuren hergestellt⁶⁾⁷⁾.

Tumorhemmende Eigenschaften

Die vergleichende Prüfung auf tumorhemmende Wirkung der acylierten N-Halbacetale, Aminale und Dithiocarbamidsäure-acyl-aminomethylester wurde am YOSHIDA-Sarkom der Ratte durchgeführt (Methodik siehe ⁵⁾). Als Kriterium für die Wirksamkeit der untersuchten Verbindungen diente die Hemmung des Tumorwachstums und die Lebensdauer der Tiere. Verbindungen, die eine Hemmung unter 25 % aufwiesen, wurden auf Grund der Fehlergrenze als unwirksam betrachtet. Mit Ausnahme der Benzamid-Derivate (IV und V), des N-Hydroxymethyl-succinimids (VI) und N-Morpholino-methyl-nicotin-amids (XV) kam es durch alle übrigen Substanzen zu einer Verlangsamung des Tumorwachstums. Das Ausmaß der proz. Hemmung betrug zwischen 25 und 66 %, war jedoch zeitlich begrenzt. Nach Absetzen der Therapie begann der Tumor in der Regel wieder zu wachsen und erreichte zuletzt die Größe der Kontrolltumoren.

Die ausgeprägten Hemmeffekte, die Weitzel und Mitarb.²⁾ durch acylierte N-Halbacetale und Aminale am Ehrlich-Ascites-Carcinom der Maus erzielten, wobei es durch einige Verbindungen zur völligen Hemmung des Tumorwachstums kam, konnten wir bei unserer Versuchsanordnung nicht beobachten. Dieser Befund steht in Einklang mit den Ergebnissen, die Weitzel und Mitarb.²⁾ am Walker-Carcinosarkom der Ratte erhielten. Die unterschiedlichen Wirkungen erklären sich durch die Art der Verabreichung – intratumorale Applikation im Falle des Ehrlich-Ascites-Carcinom, tumorferne Applikation beim YOSHIDA-Sarkom.

Vergleicht man die tumorhemmenden Eigenschaften der Dithiocarbamidsäure-acyl-aminomethylester mit denen der entsprechenden Halbacetale und Aminale, so läßt sich keine gesteigerte Wirkung feststellen. Die Kombination der beiden Wirkprinzipien – Amidomethylierung und Freisetzung aktiver Dithiocarbamidsäure – führt zu keiner verstärkten Wirkung.

Antimikrobielle Eigenschaften

Alle untersuchten Verbindungen sind gegen Bakterien unwirksam; sie zeigen jedoch in Abhängigkeit von ihrer Struktur unterschiedliche fungistatische Eigenschaften (Tab. 6). Die angegebene relative fungistatische bzw. bakteriostatische Wirkung bezieht sich auf Formaldehyd = 1.

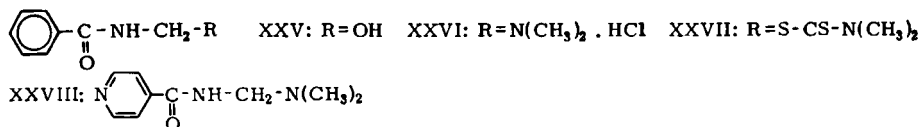
Unter den acylierten N-Halbacetalen weist das Succinimid-Derivat (VI) die stärksten fungistatischen Eigenschaften auf. Die Halbacetale von Nicotinamid (XIII) und Isonicotinamid (XIX) zeigen eine schwache Wirkung, während die des Acetamids (I) und Benzamids (XXV) wirkungslos sind.

Dieses Ergebnis steht in Einklang mit der Stabilität dieser Verbindungen, die von Weitzel und Mitarb.²⁾ an Hand der Formaldehydabspaltung untersucht wurde. Sie

Tabelle 6: Antimikrobielle Wirkung acylierter N-Halbacetale, Aminale und Dithiocarbamidsäure-acyl-aminomethylester

Verbdg. Nr.	Rel. fung. Wirkung	Rel. bakt. Wirkung	Verbdg. Nr.	Rel. fung. Wirkung	Rel. bakt. Wirkung
I	0,05	0,01	XV	0,93	0,37
II	0,16	0,04	XVI	0,42	0,09
III	4,89	0,38	XVII	0,83	0,14
IV	0,39	0,08	XVIII	0,37	0,06
V	0,91	0,07	XIX	0,36	0,13
VI	0,73	0,14	XX	1,68	0,38
VII	0,24	0,04	XXI	0,62	0,06
VIII	1,86	0,09	XXII	0,48	0,10
IX	0,78	0,69	XXIII	1,11	0,29
X	0,96	0,04	XXIV	0,62	0,15
XI	0,51	0,16	XXV	0,07	0,01
XII	0,85	0,05	XXVI	0,85	0,19
XIII	0,33	0,10	XXVII	4,09	0,32
XIV	1,58	0,38	XXVIII	0,36	0,11

Die in den Tab. 1 – 5 nicht aufgeführten Verbindungen XXV – XXVIII besitzen folgende Struktur:



stellten beim N-Hydroxy-methyl-succinimid (VI) eine starke, bei den Nicotinamid- und Isonicotinamid-Derivaten (XIII und XIX) eine sehr schwache und beim N-Hydroxy-methyl-benzamid (XXV) keine Formaldehydabspaltung fest. Die ebenfalls von Weitzel und Mitarb.²⁾ untersuchte Reaktionsfähigkeit der acylierten Halbacetale gegenüber Cystein und Glutathion ergab analoge Zusammenhänge zwischen Reaktivität und tumorhemmender Wirkung. Die aktivste Verbindung N-Hydroxymethyl-succinimid (VI) setzt sich mit Cystein und Glutathion um, die praktisch unwirksamen Verbindungen (XIII, XIX und XXV) reagieren nicht.

Die Aminale weisen in der Regel gegenüber den entsprechenden Halbacetalen eine geringe Wirkungssteigerung auf. Ganz allgemein sind jedoch die fungistatischen Eigenschaften der untersuchten Aminale wenig ausgeprägt. Nur in zwei Fällen (XV und XXIII) wird die Aktivität des Formaldehyds erreicht. Angaben zur Stabilität liegen nur über die Succinimid- und Benzamid-Derivate vor²⁾. Ein Zusammenhang zwischen Stabilität und Wirkung ist nicht erkennbar. Die instabilen Aminale des Succinimids unterscheiden sich in ihrer Wirkung nicht wesentlich von den stabilen Aminalen des Benzamids.

Die N,N-Dimethyl-dithiocarbamidsäure-acyl-aminomethylester weisen in allen Fällen eine beachtliche Steigerung der fungistatischen Wirkung gegenüber den entsprechen-

den Halbacetalen und Aminen auf. Dithiocarbamidsäure-acyl-aminomethylester mit Morpholin- bzw. Piperazin-Ringen in der Dithiocarbaminatgruppe zeigen im Vergleich zu ihren Aminen mit Ausnahme von X und XII eine leichte Wirkungsabnahme.

Dieses unterschiedliche Verhalten der Ester steht in Einklang mit der Feststellung, daß der N,N-Dimethyldithiocarbamidsäure unter den Homologen die stärkste fungistatische Wirkung zukommt⁵⁾. Der Vergleich äquimolarer Mengen Dithiocarbamidsäure-acyl-aminomethylester mit ihren entsprechenden Dithiocarbamidsäuren zeigt, daß die Verbindungen VIII, XIV, XVI, XVIII, XX, XXII und XXIV die Aktivität der latenten Säuren erreichen*), während III, X, XII, XXVII und V wirksamer sind. Dieses Ergebnis kann mit einem kombinierten Wirkungsvorgang – Amidomethylierung biologischer Substrate unter Freisetzung aktiver Dithiocarbamidsäure – gedeutet werden. Es ist aber auch möglich, daß Dithiocarbamidsäure-acyl-aminomethylester aufgrund ihrer Lipidlöslichkeit besser durch die Zellmembran permeieren und so zu einer höheren Dithiocarbamidsäure-Konzentration am Wirkort führen.

Im Vergleich zu ihren isosteren Dithiourethanen sind Dithiocarbamidsäure-acyl-aminomethylester nur wenig wirksam (Tab. 7). Diese Wirkungsabnahme steht nicht im Zusammenhang mit der Stabilität der Acyl-aminomethylester unter physiologischen Bedingungen (Tab. 9). Obwohl das Ausmaß der Spaltung im Vergleich zu den Dithiourethanen größer ist, sind die fungistatischen Eigenschaften der Dithiocarbamidsäure-acyl-aminomethylester geringer.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Verband der Chemischen Industrie – Fonds der Chemischen Industrie – danken wir für die Förderung unserer Untersuchungen.

Beschreibung der Versuche

Über die Synthese der Verbindungen I, IV, V, VI, IX, XIII, XV, XVII, XIX, XXV, XXVI und XXVIII, die in der Literatur beschrieben sind, siehe Dissertation, P. Lippert, Universität München 1970.

N-Dimethylaminomethyl-acetamid (II)

17,8 g (0,2 Mol) N-Hydroxymethyl-acetamid werden mit 24,7 g (0,22 Mol) 40 proz. Dimethylaminlösung versetzt und 1 Std. auf dem Wasserbad erhitzt. Das Wasser wird abgezogen und die verbleibende gelbbraunliche Flüssigkeit i. Vak. destilliert, Sdp._{0,1} 78 – 80°. Das farblose Produkt erstarrt beim Anreiben, Schmp. 24 – 26°. Ausbeute: 17,3 g (74,4 % d. Th.).

$C_5H_{12}N_2O$ (116,2)	Ber.: C 51,68	H 10,41	N 24,11
	Gef.: C 50,91	H 10,21	N 23,88

N-Dimethylaminomethyl-succinimid (VII)

22,5 g (0,2 Mol) 40 proz. Dimethylaminlösung, 17,0 g (0,2 Mol) 35 proz. Formaldehydlösung und 19,8 g (0,2 Mol) Succinimid werden zusammengegeben und bis zur Auflösung des Succinimids ge-

*) Zur fungistatischen Wirkung der Dithiocarbamidsäure siehe⁵⁾.

Tabelle 7: Grenzkonzentrationen der Dithiocarbamidsäure-acyl-aminomethylester im Vergleich zu ihren isosteren Dithiourethanen für totale Wachstumschmierung in $\mu\text{g/ml}$ gegen Pilze und Bakterien

		$\text{R}^1 - \text{CO} - \text{R}^2 - \text{CH}_2 - \text{S} - \text{CS} - \text{R}^3$					
Verbindung Nr.		III	XXVII	V			
Teststäme	R^1 :	$-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_3$	$-\text{C}_6\text{H}_5$	$-\text{C}_6\text{H}_5$	$-\text{C}_6\text{H}_5$	$-\text{C}_6\text{H}_5$
	R^2 :	$-\text{NH}$	$-\text{CH}_2$	$-\text{NH}$	$-\text{CH}_2$	$-\text{NH}$	$-\text{CH}_2$
	R^3 :	$-\text{N}(\text{CH}_3)_2$	$-\text{N}(\text{CH}_3)_2$	$-\text{N}(\text{CH}_3)_2$	$-\text{N}(\text{CH}_3)_2$	$-\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	$-\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$
Lösungsmittel:		DMF/MeOH	DMF/MeOH	DMF/MeOH	DMSO/MeOH	DMSO/MeOH	DMSO/MeOH
Microsporium audouinii (HK/1328)		8	<	2	<	2	31
Microsporium distortum George (HK)		8	<	2	<	2	62
Microsporium canis (HK/312)		16	<	2		4	16
Microsporium gypseum (PI)		125	16	16	125	4	16
Microsporium gypseum (HK/CBS Bodin)		125	8	8	62	4	62
Trichophyton rubrum (HK/1604)		62	16	16	125	4	31
Trichophyton schönleini (HK/1124)		62	16	16	62	4	31
Trichophyton mentagrophytes (PI)		500	16	16	62	4	62
Epidermophyton floccosum (PI/5601)		125	<	2	250	2	31
Sporotrichum schenkii (PI)		125	62	62	125	16	125
Candida albicans (E/8379-64)		62	62	62	62	16	125
Nocardia asteroides (E)		125	62	62	62	250	>1000
Streptomyces (E)		250	62	62	125	62	500
Staphylococcus aureus (E/Test)		62	8	8	125	4	>1000
Enterococcus (E/6666-65)		31	8	8	125	8	>1000
Bacillus subtilis (E)		62	16	16	62	4	1000
Proteus providenciae (E)		1000	500	500	>1000	31	>1000

Fortsetzung der Tabelle 7

Verbindung Nr.	R ¹ -CO-R ² -CH ₂ -S-CS-R ³									
	III	XXVII	V							
R ¹ :	-CH ₃	-CH ₃	-C ₆ H ₅	-C ₆ H ₅	-C ₆ H ₅	-C ₆ H ₅	-C ₆ H ₅	-C ₆ H ₅	-C ₆ H ₅	-C ₆ H ₅
R ² :	-NH	-CH ₂	-NH	-CH ₂	-CH ₂	-NH	-CH ₂	-NH	-CH ₂	-CH ₂
R ³ :	-N(CH ₃) ₂	-N(CH ₃) ₂	-N(CH ₃) ₂	-N(CH ₃) ₂	-N(CH ₃) ₂	-N(CH ₃) ₂	-N(CH ₃) ₂	-N(CH ₃) ₂	-N(CH ₃) ₂	-N(CH ₃) ₂
Lösungsmittel:	DMF/MeOH	DMF/MeOH	DMF/MeOH	DMF/MeOH	DMSO/MeOH	DMSO/MeOH	DMSO/MeOH	DMSO/MeOH	DMSO/MeOH	DMSO/MeOH
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (E/7250-65)	>1000	1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
<i>Salmonella typhimurium</i> (E)	1000	250	>1000	>1000	250	>1000	>1000	>1000	>1000	1000
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (E/14310-66)	1000	250	250	250	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	1000
<i>Shigella flexneri</i> (E/733-55 D/O Bus.)	125	31	125	125	62	250	250	250	250	250
<i>Escherichia coli</i> haemol. (E)	500	125	250	250	125	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
Relative fungistatische Wirkung	4,89	29,6	4,09	50,5	0,91	5,62				
Relative bakterio­statische Wirkung	0,38	1,8	0,32	4,1	0,07	0,07				0,07

Tabelle 8: Absorptionsmaxima der Dithiocarbamidsäure-acyl-aminomethylester in Chloroform

	III	VIII	X	XII	XIV	XVI	XVIII	V
Maxima nm (λ)	272,5	277,5	282,5	282,5	272,5	282,0	280,0	278,7
Mittl. mol. Extinktionskoeffizient ^{+) ϵ $\frac{\text{Liter}}{\text{mol. cm}}$ (bei 20°)}	10057	10046	11810	11940	12798	13320	13522	12621
lg ϵ	4.00	4.00	4.07	4.08	4.11	4.12	4.13	4.10

Tabelle 9: Zerfall der Dithiocarbamidsäure-acyl-aminomethylester unter physiologischen Bedingungen (37°, pH 7,4)

	III	VIII	X	XII	XIV	XVI	XVIII	V
Spaltung in % nach 4 Std.	24	23	13	36	15	11	44	11
Spaltung in % nach 12 Std.	29	35	15	57	18	18	58	16
Spaltung in % nach 24 Std.	41	54	25	79	32	26	91	20
Relative fungistatische Wirkung	4,9	1,9	0,9	0,8	1,6	0,4	0,4	0,9

rührt; Das Wasser wird i. Vak. abgezogen und das zurückbleibende farblose Öl i. Vak. destilliert, Sdp._{0,1} 90 – 92°. Das Destillat erstarrt nach 1 Std. Schmp. 39 – 41°. Ausbeute: 19,2 g (61,5 % d. Th.).

$C_7H_{12}N_2O_2$ (156,2) Ber.: C 53,83 H 7,74 N 17,94
Gef.: C 53,35 H 7,40 N 17,84

N-Morpholinomethyl-isonicotinamid (XXI)

45,6 g (0,3 Mol) N-Hydroxymethyl-isonicotinamid werden mit 26,1 g (0,3 Mol) Morpholin versetzt und unter Rühren 1 Std. auf 100 – 110° erhitzt. Das Reaktionswasser wird nach Benzolzugabe i. Vak. abgezogen. Nach dem Erkalten wird das Produkt durch Anreiben kristallin. Farblose Kristalle, Schmp. 120 – 122° (Äthanol/Äther). Ausbeute: 41,0 g (61,7 % d. Th.).

$C_{12}H_{18}N_4O$ (234,3) Ber.: C 59,70 H 6,83 N 18,99
Gef.: C 59,90 H 6,48 N 18,99

N-[4-Methyl-1-piperazinyl]-methyl-isonicotinamid (XXIII)

Aus 30,4 g (0,2 Mol) N-Hydroxymethyl-isonicotinamid und 20,0 g (0,2 Mol) N-Methylpiperazin analog XXI. Farblose Kristalle, Schmp. 114 – 115° (Essigsäureäthylester) Ausbeute: 31,4 g (67,3 % d. Th.).

$C_{12}H_{18}N_4O$ (234,3) Ber.: C 61,51 H 7,74 N 23,91
Gef.: C 61,19 H 7,63 N 23,78

N-[(4-Methyl-1-piperazinyl)-methyl]-succinimid (XI)

19,8 g (0,2 Mol) Succinimid, 17,0 g (0,2 Mol) 35 proz. Formaldehydlösung und 20,0 g (0,2 Mol) N-Methylpiperazin werden unter Kühlung zusammengegeben. Durch Umrühren erstarrt die Flüssigkeit breiartig. Nach 2 – 3tägigem Trocknen im Vakuumexsiccator kristallisiert das Produkt durch. Farblose Kristalle, Schmp. 140 – 142° (Äthanol). Ausbeute: 34,8 g (82,4 % d. Th.)

$C_{10}H_{17}N_3O_2$ (211,3)

Ber.: C 56,85 H 8,11 N 19,89

Gef.: C 57,10 H 7,62 H 19,74

N,N-Dimethyl-dithiocarbamidsäure-[acetamido]-methyl-ester (III)

11,6 g (0,1 Mol) N-Dimethylaminomethyl-acetamid werden in 30 ml Dioxan in der Wärme gelöst und tropfenweise mit 22,8 g (0,3 Mol) CS_2 versetzt. Nach 6 Std. Erhitzen unter Rückfluß wird Dioxan und überschüssiges CS_2 i. Vak. abgezogen. Das zurückbleibende Öl erstarrt nach dem Anreiben und wird am Rückfluß mit Petroläther ausgekocht. Der Rückstand umkristallisiert. Farblose, feine Nadeln, Schmp. 122 – 124° (Äthanol). Ausbeute: 6,8 g (35,4 % d. Th.).

$C_6H_{12}N_2OS_2$ (192,3)

Ber.: N 14,57 S 33,35

Gef.: N 14,29 S 33,37

N,N-Dimethyl-dithiocarbamidsäure-[succinoyl-amino]-methyl-ester (VIII)

Zu einer Suspension von 14,7 g (0,1 Mol) N-Chlormethyl-succinimid in 100 ml trockenem Äther gibt man 18,8 g (0,1 Mol) Na-N,N-Dimethyl-dithiocarbaminat 2,5 H_2O . Die Mischung wird 6 Std. unter Rühren am Rückfluß erhitzt. Nach dem Erkalten wird der Niederschlag mit Benzol heiß ausgezogen und die Benzollösung bis zur einsetzenden Kristallisation eingengt. Farblose Kristalle, Schmp. 129 – 130° (Benzol). Ausbeute: 17,3 g (74,6 % d. Th.).

$C_8H_{12}N_2O_2S_2$ (232,3)

Ber.: N 12,06 S 27,60

Gef.: N 11,95 S 28,10

Morpholin-4-carbodithionsäure-[succinoyl-amino]-methyl-ester (X)

Aus 14,7 g (0,1 Mol) N-Chlormethyl-succinimid und 18,5 g (0,1 Mol) Na-Morpholino-N-carbodithionat analog VIII. Farblose Kristalle, Schmp. 153 – 155° (Benzol). Ausbeute: 17,5 g (63,8 % d. Th.).

$C_{10}H_{14}N_2O_3S_2$ (274,4)

Ber.: N 10,22 S 23,34

Gef.: N 10,69 S 23,50

4-Methyl-piperazin-1-carbodithionsäure-[succinoyl-amino]-methyl-ester (XII)

14,7 g (0,1 Mol) N-Chlormethyl-succinimid und 19,8 g (0,1 Mol) Na-4-Methyl-piperazin-1-carbodithionat werden in einem Gemisch von 100 ml Äther und 50 ml Dioxan suspendiert. Die Mischung wird 5 Std. unter Rühren am Rückfluß erhitzt. Nach Erkalten der Lösung wird das ausgefallene NaCl abfiltriert, das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand umkristallisiert. Farblose Kristalle, Schmp. 113 – 115° (Äthanol). Ausbeute: 16,8 g (58,5 % d. Th.).

$C_{11}H_{17}N_3O_2S_2$ (287,4)

Ber.: N 14,62 S 22,31

Gef.: N 14,46 S 22,50

N,N-Dimethyl-dithiocarbamidsäure-[nicotinoyl-amino]-methyl-ester (XIV)

17,9 g (0,1 Mol) N-Dimethylaminomethyl-nicotinamid werden in 50 ml Dioxan heiß gelöst. Unter Rühren gibt man 22,8 g (0,3 Mol) CS_2 tropfenweise zu. Das Gemisch wird 4 Std. am Rückfluß erhitzt. Nach Erkalten filtriert man den Niederschlag ab, wäscht mit Äther und kristallisiert aus Benzol/Äthanol um. Farblose Kristalle, Schmp. 144 – 146° (Benzol/Äthanol). Ausbeute: 16,9 g (66,4 % d. Th.).

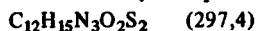


Ber.: N 16,46 S 25,11

Gef.: N 16,86 S 24,95

Morpholin-4-carbodithionsäure-[(nicotinoyl-amino)-methyl]-ester (XVI)

Aus 11,1 g (0,05 Mol) N-Morpholinomethyl-nicotinamid und 11,4 g (0,15 Mol) CS_2 analog XIV. Farblose Kristalle, Schmp. $170 - 173^\circ$ (Chloroform). Ausbeute: 6,3 g (42,4 % d. Th.).

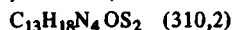


Ber.: N 14,13 S 21,56

Gef.: N 14,46 S 21,54

4-Methyl-piperazin-1-carbodithionsäure-[(nicotinoyl-amino)-methyl]-ester (XVIII)

Aus 11,7 g (0,05 Mol) N-[(4-Methyl-1-piperazinyl)-methyl]-nicotinamid und 11,4 g (0,15 Mol) CS_2 analog XIV. Farblose Kristalle, Schmp. $130 - 132^\circ$ (Chloroform/Äther). Ausbeute: 7,0 g (45,2 % d. Th.).

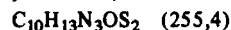


Ber.: N 18,05 S 20,66

Gef.: N 17,90 S 20,61

N,N-Dimethyl-dithiocarbamidsäure-[(isonicotinoyl-amino)-methyl]-ester (XX)

Aus 17,9 g (0,1 Mol) N-Dimethylaminomethyl-isonicotinamid und 22,8 g (0,3 Mol) CS_2 analog XIV. Farblose Kristalle, Schmp. $151 - 153^\circ$ (Benzol/Äthanol). Ausbeute: 16,3 g (63,9 % d. Th.).

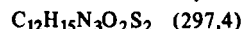


Ber.: N 16,46 S 25,11

Gef.: N 16,68 S 25,18

Morpholin-4-carbodithionsäure-[(isonicotinoyl-amino)-methyl]-ester (XXII)

Aus 11,1 g (0,05 Mol) N-Morpholinomethyl-isonicotinamid und 19,0 g (0,25 Mol) CS_2 analog XIV. Farblose Kristalle, Schmp. $152 - 154^\circ$ (Äthanol/Äther). Ausbeute: 5,4 g (36,5 % d. Th.).



Ber.: N 14,13 S 21,56

Gef.: N 14,35 S 21,91

4-Methyl-piperazin-1-carbodithionsäure-[(isonicotinoyl-amino)-methyl]-ester (XXIV)

Eine Lösung von 11,7 g (0,05 Mol) N-[(4-Methyl-1-piperazinyl)-methyl]-isonicotinamid in 20 ml Dioxan wird unter Rühren in der Hitze mit 19,0 g (0,25 Mol) CS_2 tropfenweise versetzt. Unter Rückfluß wird 6 Std. erhitzt. Aus dem erkalteten Reaktionsgemisch wird das Produkt durch Zugabe von Äther gefällt. Farblose Nadeln, Schmp. $126 - 128^\circ$ (Äthanol). Ausbeute: 6,4 g (41,3 % d. Th.).

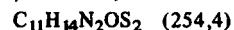


Ber.: N 18,05 S 20,66

Gef.: N 17,94 S 19,99

N,N-Dimethyl-dithiocarbamidsäure-[(benzoylamino)-methyl]-ester (XVII)

Aus 6,2 g (0,037 Mol) N-Chlormethyl-benzamid und 6,9 g (0,045 Mol) Na-N,N-Dimethyl-dithiocarbaminat. $1/2 \text{ H}_2\text{O}$ analog VIII. Farblose Kristalle, Schmp. $119 - 120^\circ$ (Äthanol). Ausbeute: 6,8 g (72,4 % d. Th.).



Ber.: N 11,01 S 25,21

Gef.: N 10,87 S 25,62

Prüfung auf antimikrobielle Wirkung

Methodik der Testung siehe ¹²⁾. Die verwendeten Teststämme sind aus Tab. 7 ersichtlich. Die relative fungistatische bzw. bakteriostatische Wirkung bezogen auf Formaldehyd = 1 berechnet sich aus der Summe der reziproken minimalen Hemmkonzentrationen (Pilze bzw. Bakterien) nach

Relative fungistatische, bzw.
bakteriostatische Wirkung

$$= \frac{\sum_{i=1}^n \frac{1}{c_i}}{\sum_{i=1}^n \frac{1}{a_i}}$$

c_i = minimale Hemmkonzentration der Testsubstanz in $\mu\text{Mol/ml}$

a_i = minimale Hemmkonzentration von Formaldehyd in $\mu\text{Mol/ml}$

n = Zahl der getesteten Keime.

Für die Hemmkonzentration $> 1000 \mu\text{g/ml}$ wurde jeweils die Zahl $2000 \mu\text{g/ml}$ eingesetzt.

Spektrophotometrische Bestimmung der Dithiocarbamidsäure-acyl-aminomethylester

Die untersuchten Verbindungen zeigen im Bereich von 272 – 283 nm ausgeprägte Absorptionsbanden, die mit den molaren Extinktionskoeffizienten in Tab. 8 zusammengefaßt sind. Bei den genannten Wellenlängen sind die Anforderungen des BOUGER-LAMBERT-BEERSCHEN Gesetzes im Extinktionsbereich von 0,3 – 0,9 erfüllt. Zur Bestimmung der Eichgeraden wurden jeweils Stammlösungen aus 0,25 mM Substanz in 50 ml Chloroform bereitet und daraus Verdünnungsreihen hergestellt. Gerät: Beckman DK 2.

Prüfung der Dithiocarbamidsäure-acyl-aminomethylester auf Stabilität

0,25 mM der feinst gepulverten Substanz wurden in 25 ml Phosphatpuffer SÖRENSEN pH 7,4 (10mM/l) suspendiert und bei 37° im Schüttelthermostaten inkubiert. Nach bestimmten Zeiten wurde der jeweilige Ansatz viermal mit je 12,5 ml Chloroform ausgeschüttelt, die Chloroformphasen durch ein Rundfilter in ein Meßkölbchen filtriert und mit Chloroform zu 50 ml ergänzt. Von dieser Lösung ausgehend wurden Verdünnungsreihen hergestellt und sofort vermessen. In der Regel führten wir die Messung in einem Konzentrationsbereich von 0,05 mMol/l Ausgangsverbindung durch. Die Ermittlung der Substanzmenge erfolgte an Hand der Eichkurven und durch Berechnung nach folgender Formel: $c = E / \epsilon \cdot d$.

Erläuterungen zur Methodik

- a) Die Spaltung der Dithiocarbamidsäure-acyl-aminomethylester erfolgte auf Grund ihrer weitgehenden Wasserunlöslichkeit in einem heterogenen System. Dies ist bei der Aussage, die wir über den Zerfall machen können, zu berücksichtigen.
- b) Es wurde experimentell bestätigt, daß die Ausschüttelung der Dithiocarbamidsäure-acyl-aminomethylester in Chloroform quantitativ erfolgt.
- c) Wir überprüften, ob freigesetzte Dithiocarbamidsäure in störenden Mengen in die Chloroformphase geschüttelt wird und somit die Höhe der Maxima verfälscht. Dies ist in Konzentrationsbereichen, bei denen die Messung erfolgt, nicht der Fall.
- d) Durch Zerfall der Dithiocarbamidsäure in wässriger Lösung entsteht CS_2 : Maxima bei 312,5 und 317,5 nm (Chloroform). Eine Beeinflussung durch eventuell ausgeschüttelten CS_2 ist somit ebenfalls ausgeschlossen.