

## КОМПЛЕКСООБРАЗУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ И ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНАЯ АКТИВНОСТЬ АЗОПРОИЗВОДНЫХ П-АМИНОСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

Л. П. КУЛЕВ, Л. И. АРИСТОВ

Ранее нами [1] был получен ряд азопроизводных изомерных аминосалициловых кислот. Представляло несомненный интерес выявить зависимость между комплексообразующей способностью этих соединений и их противотуберкулезной активностью. Реакция комплексообразования полученных соединений с солями тяжелых металлов изучалась колориметрическим методом на фотоколориметре «ФЭК-2». Микробиологические исследования проведены в Томском научно-исследовательском институте вакцин и сывороток Л. А. Егоршиной под руководством члена-корреспондента АМН СССР С. П. Карпова. Исследования проводились методом поверхностной пленки на штамме «Академия».

Комплексообразующая способность веществ, как это следует из приведенных в таблице данных, в первую очередь зависит от особенностей структуры соединений, от характера и взаимного расположения заместителей и от природы металла. Сравнительная скорость реакции комплексообразования азопроизводимых тем выше, чем больше содержится в соединении функциональных групп, принимающих участие в образовании внутримолекулярных солей.

Так, в ряду азопроизводных п-аминосалициловой кислоты с нафталиновым кольцом наиболее реакционноспособным по отношению к меди и железу оказалось соединение № 5, полученное сочетанием с 8-оксихинолином. Близким к нему по активности с этими же металлами является азосоединение, содержащее остаток бета-нафтола (1, табл. 3). Наоборот, аналогичный ему по строению азокраситель с альфа-нафтолом в качестве азосоставляющей (3) несколько уступает в этом отношении как первому, так и второму азосоединению.

Почти с одинаковой скоростью реагируют с солями металлов азокрасители, у которых вместо гидроксильной группы в параположении к азогруппе стоит этокси-группа (4).

Введение электроотрицательных заместителей в молекулу азосоставляющей (ортооксихинолин или бета-нафтол) заметно замедляет скорость реакции комплексообразования (1 и 7; 5 и 6, табл.), хотя и не со всеми металлами.

Противоположное влияние оказывают эти заместители при введении в бензольные кольца азосоставляющих. Так, например, азосоединения (9, 10, 11), имеющие кроме гидроксильной группы нитрогруппу или галоген, реагируют быстрее, чем (8). Незначительное влияние оказывает у фенольных производных п-аминосалициловой кислоты введение акильных радикалов (8 и 14, 15).

Из изученных нами азопроизводных резорцина высокую активность проявил (13), имеющий радикал гексил в бензольном кольце азосоставляющей, в то время как азопроизводное без этого радикала (12) реагировало с солями меди и железа намного медленнее, чем все другие испытанные нами фенольные производные.

Заслуживает внимания тот факт, что наиболее реакционноспособными по отношению к никелю оказались те азопроизводные аминосалициловых кислот, у которых гидроксильная группа стоит в соседнем положении к азогруппе. Эта закономерность наблюдается почти для всех изученных нами соединений, независимо от характера азо-и диазосоставляющей. Согласно данным Маккензи [2], указанное явление объясняется склонностью никеля к образованию внутрикомплексных соединений.

Однако исключением из этого правила является азосоединение с альфа-нафтолом в качестве азосоставляющей (3), которое по скорости комплексообразования с никелем далеко превосходит большинство из изученных нами соединений. Тот факт, что аналогичное ему азопроизводное п-аминосалициловой кислоты (4) с этоксигруппой вместо гидроксильной реагирует с сульфатом никеля гораздо медленнее, указывает на участие в комплексообразовании с этим металлом именно гидроксильной группы в нафталиновом кольце.

Это обстоятельство подтверждается еще и тем, что с другими металлами (медь, железо) оба соединения реагируют почти с одинаковой скоростью (табл. 3, 3, 4).

Возможно, что здесь сказывается влияние рН среды, создающей наиболее благоприятные условия для гидролиза соли никеля, в результате чего наступает реакция с образованием соединения  $A\text{-}O\text{Me}$ , как это установлено было В. И. Кузнецовым [3] при исследовании внутрикомплексных и циклических солей. Этим же, вероятно, объясняется аналогичное поведение в тех же условиях резорцинового производного п-аминосалициловой кислоты (12). Для соответствующего фенольного производного (8) наблюдается пониженная активность с никелем, так как это азосоединение обладает более сильным кислотным характером по сравнению с указанными выше соединениями. Таким образом, природа металла в образовании внутрикомплексных соединений п-аминосалициловой кислоты играет весьма существенную роль и очень заметно сказывается на скорости реакции комплексообразования. Отмеченное нами выше сходство в поведении азосоединений [3 и 4] с солями железа и меди и резкая разница в поведении тех же соединений с сульфатом никеля указывает на избирательное действие этих металлов по отношению к комплексообразующим группам азопроизводного. В образовании комплексных соединений с солями железа и меди преимущественно принимают участие рядом стоящие гидроксил и карбоксильная группа, в то время как с солями никеля главным образом реагируют, надо думать, гидроксильные группы, расположенные в бензольном или нафталиновом кольцах азосоставляющей.

Механизм действия лекарственных веществ, особенно в живом организме, очень сложен, зависит от многих факторов, роль которых еще далеко не изучена. Поэтому едва ли можно с уверенностью сказать, какой из них в этом механизме играет первостепенную роль. Однако при оценке физиологической активности лекарственного препарата его химическая природа, в том числе комплексообразующая способность, несомненно должна быть принята во внимание.

Изученные нами сравнительная комплексообразующая способность соединений и прочность комплексов дают возможность сделать некоторые выводы и о зависимости между этими свойствами и антибактериальной активностью веществ. В подавляющем большинстве случаев антибактериальная активность азопроизводных аминосалициловых кислот в опытах «вне организма» находится в прямой зависимости от скорости комплексообразования и прочности возникающих комплексов, хотя эта зависимость количественно выражена быть не может. В качестве иллюстрации приводим следующие данные о сравнительной комплексообразующей способности и противотуберкулезной активности азопроизводных п-аминосалициловой кислоты с азосоставляющими: 8-оксихинолин(1), гексил-

резорцин (2), альфа-нафтол (3), альфа-этоксинафтол (4), тимол (5), резорцин (6), представленные в табл. 1.

Таблица 1

№№ п. п.	Краситель п-аминосалициловой кислоты с азо-составляющей	Связано меди в %			Активность в разведении
		через 60 м	через 120 м	через 180 м	
1.	-8-оксихинолин	97	98	99	1:200 000
2.	-гексил-резорцин	66	75	86	1:200 000
3.	-альфа-нафтол	60	78	83	1:200 000
4.	-альфа-этоксинафтол	69	71	73	1:200 000
5.	-тимол	40	59	65	1:10 000
6.	-резорцин	20	40	65	1:316

Наиболее активным по отношению к туберкулезным бактериям оказалось азопроизводное оксихинолина, а наименее активным — азопроизводное резорцина, для которых совпадают и соответствующие величины, характеризующие их комплексообразующую способность.

О наличии определенной зависимости между противотуберкулезной активностью и комплексообразующей способностью можно судить и по результатам наших опытов с хорошо изученными в физиологическом отношении лекарственными препаратами «ПАСК», «Тибон» и др.

Указанная зависимость для этих веществ представлена табл. 2.

Таблица 2

№№ п. п.	Соединения	Связано меди в проц			Активность в разведении
		через 60 м	через 120 м.	через 180 м.	
1.	4-аминосалициловая кислота	90	95	98	10 <sup>-575</sup>
2.	3-аминосалициловая кислота	72	77	78	10 <sup>-273</sup>
3.	5-аминосалициловая кислота	76	85	90,5	10 <sup>-321</sup>
4.	«Тибон»	97	98	98	0,6 миллиграмм/мл
5.	Тиосемикарбазон салицилового альдегида	100	100	100	0,06 миллиграмм/мл

Интересно отметить, что из изомерных аминосалициловых кислот наибольшей комплексообразующей способностью обладает п-аминосалициловая кислота (1), которая, как известно, далеко превосходит 3 и 5-аминосалициловые кислоты (2 и 3) в антибактериальном отношении.

Заслуживает также внимания и то обстоятельство, что по комплексообразующей способности тиосемикарбазон салицилового альдегида (4) стоит на первом месте среди указанных в графике веществ. По данным Донович [4], это соединение проявляет высокую антибактериальную активность вне организма, но почти не действует в живом организме. Возможно, что такая резкая разница в антибактериальной активности тиосемикарбазона салицилового альдегида в зависимости от условий опыта и объясняется его склонностью к быстрому образованию комплексных соединений с металлами, имеющимися в самом макроорганизме. По нашим данным это соединение обладает наибольшей комплексообразующей способностью по отношению к тяжелым металлам и образует с ними более прочные комплексы, чем «тибон» и «ПАСК», т. е. соединяясь с металлами, в живом организме оно может сразу же терять свою активность. Отмеченная выше разница в противотуберкулезной активности тиосемикарбазонов наблюдалась и для других веществ многими авторами, которые, однако, не принимали во внимание комплексообразующей способности

Таблица 3.

№ п/п	ФОРМУЛА СОЕДИНЕНИЙ	КОМПЛЕКСООБРАЗУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ			АКТИВНОСТЬ В РАЗВЕДЕНИИ	ПРИМЕЧАНИЕ
		СВЯЗАНО МЕТАЛЛА В% ЧЕРЕЗ ЧАС ОТ НАЧАЛА РЕАКЦИИ, ТЕМП - 100°С.				
		Сu	Fe	Ni		
1		92	85	71	1:40000	В МЕНЬШЕЙ КОНЦЕНТРАЦИИ НЕ ИСПЫТАН
2		76	84	87,5	1:40000 - 1:200000++	
3		61	75	95	1:200000	
4		67	76	33	1:200000	
5		96	100	61	1:200000	
6		76	95	40	1:40000	
7		74	92	63	1:40000 ++	
8		52	93	50	1:40000	ПО ДАННЫМ ХИРТ
9		57	93	50	-	
10		58	86	89	1:40000 - 1:200000++	
11		73	93	40	1:40000 - 1:200000++	
12		20	68	95,5	1:316	ПО ДАННЫМ ХИРТ
13		67	94	-	1:200000	
14		53	92	30	1:40000-	ЗНАК -- ОТСУТСТВИЕ РОСТА
15		54	82	83	1:40000 - 1:200000+1	ЗНАК ++ - РОСТ НА 2/3 ПОВЕРХНОСТИ.

соединений и свойств образованных ими металлосодержащих комплексов. Говоря о роли реакции комплексообразования в механизме противотуберкулезного действия, мы не ограничиваем эту роль действием веществ только на металлы, находящиеся в самом возбудителе болезни. Нам кажется вполне вероятным, что химическая активность противотуберкулезных средств тесно связана со стимулирующим действием их на защитные силы организма, которое также может быть обусловлено образованием нестойких комплексов с металлами, входящими в состав живых тканей.

Не исключена возможность, что именно этим объясняются интересные наблюдения Шебанова Ф. В., Сидельниковой Е. Ф., Розиной Р. И. и Скакуна Н. П. [5, 6, 7] по стимулирующему действию «ПАСК» на печень больных туберкулезом.

Результаты проведенных нами колориметрических и микробиологических исследований сведены в табл. 3.

### Экспериментальная часть

Для сравнительной оценки скорости комплексообразования азокрасителей с тяжелыми металлами мы пользовались следующей методикой: в четыре колбы вносились по 20 мл 0,001М раствора исследуемого вещества в 0,125% растворе едкого натра, прибавлялся 1 мл 0,01М раствора соли меди (или других солей—никеля, железа). Колбы соединялись с обратным холодильником и помещались на кипящую водяную баню. Через 10—12 минут после установления постоянной температуры реакционной массы, первая колба вынималась из бани, быстро охлаждалась холодной водой, содержимое колбы фильтровалось. Фильтрат подкислялся 1 мл 0,5 нормальной серной кислоты. Выпавший осадок азокрасителя отфильтровывался, а оставшийся в растворе металл, не вступивший в реакцию с исследуемым соединением, определялся колориметрическим методом по диметилглиоксиму для никеля и диэтилдитиокарбамату натрия для меди и железа.

По предварительно построенным калибровочным кривым для этих металлов определялся процент содержания связанного азокрасителем металла. Через 60, 120, 180 минут от начала первого анализа проводились аналогичные определения для последующих проб. Данные определений указаны в сводной табл. 3.

### Выводы

1. Проведены опыты по определению сравнительной комплексообразующей способности азопроизводных аминсалициловой кислоты колориметрическим методом. Найдено, что свойства металлосодержащих комплексных соединений зависят от особенности строения азопроизводных, природы металла и рН среды. Скорость реакции комплексообразования изученных азопроизводных в первую очередь зависит от наличия в молекуле активных комплексообразующих групп и их взаимного расположения.

2. Установлено, что между комплексообразующей способностью веществ и их антибактериальной активностью в опытах «вне организма» существует прямая зависимость, которая, однако, не может быть выражена строго количественно. Наиболее активным в антибактериальном отношении из азопроизводных пара-аминсалициловой кислоты оказалось азопроизводное с ортооксихинолином в качестве азосоставляющей, а наименее активным — азокраситель, полученный из той же кислоты и резорцина. Комплексообразующая способность этих азосоединений была наибольшей для первого и наименьшей — для второго.

3. Найдено, что наибольшая скорость реакции комплексообразования соответствует и известным активным противотуберкулезным препаратам — самой п-аминосалициловой кислоте («ПАСК») и тиосемикарбазону п-ацетаминобензальдегину («Тибон»).

4. На основании экспериментальных данных по определению комплексообразующей способности веществ и прочности образованных ими комплексов высказаны соображения о механизме действия противотуберкулезных препаратов, проявляющих различную антибактериальную активность в живом организме и вне его.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Кулев Л. П., Аристов Л. И. Азопроизводные аминсалициловых кислот и их внутрикомплексные соли. Известия Томского политехнического ин-та, т. 102, статья помещена в этом сборнике.
2. N. Maskepzie и др. Химия и химическая технология, 4, 209, 1953.
3. Кузнецов В. И., ЖОХ, 20, 176, 1950.
4. R. Dopowick и др. J. Vac. 59, 667, 1950.
5. Шебанов Ф. В. Проблемы туберкулеза, 5, 22, 1950.
6. Сидельникова Е. Ф. и Розина Р. И. Проблемы туберкулеза, 3, 43, 1952.
7. Скакун Н. П., Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 10, 45, 1952.

## ИСПРАВЛЕНИЯ И ОТМЕЧЕННЫЕ ОПЕЧАТКИ

Стр.:	Строка	Напечатано	Следует читать
7	11 сн.	электроакцепторные	электрондонорные
21	11 сн.	кислые фенолы	кислые нитрофенолы, фенолы
22	15 сн.	сульфодилизин	сульфодимезин
33	22 св.	азопроизводимых	азопроизводных
33	7 сн.	акильных	алкильных
37	3 св.	п-ацетаминобензальдегидину	п-ацетаминобензальдегида
38	23 сн.	сукциноксидизы	сукциноксидазы
39	21 св.	интенсивные	интенсивно
48	16 св.	метаборнокислотного	метаборнокислого
49	12 сн.	анилинуксусная	анилин+уксусная кислота
79	6 сн.	хнояновый	яновый
93	2 сн.	до трех почти	до трех часов почти
103	4 сн.	с формальдегидом:	с формальдегидом,
104	9 сн.	Сульфат	Сульфит
118	11 сн.	ПН	АН
126	15 сн.	20—30	20—23
127	1 св.	углем	угля
127	6 св.	приведенных	проведенных
129	16 сн.	при температурах	при различных температурах
132	12 сн.	разделенный	раздельный
164	4 сн.	Летучие горючие	Летучие на горючую массу
169	9 сн.	давления и максимум»	давления» и максимум
169	10 сн.	исходящую	нисходящую