

Summary

After intravenous injection of a ^{35}S -labelled heparinoid (N-formyl-chitosan-polysulfuric acid ester) into rabbits, a highly purified clearing factor preparation was obtained from the blood plasma. The heparinoid content of this preparation is approximately 40 times higher, weight for weight, than that of the other plasma proteins.

Extensive clinical trials of this compound have substantiated the high activity and low toxicity found in our Laboratories.

G. DE STEVENS, L. H. WERNER,
A. HALAMANDARIS, and S. RICCA, JR.

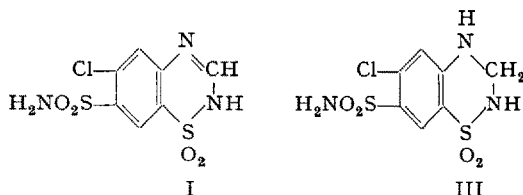
Research Department, CIBA Pharmaceutical Products Inc., Summit, N. J., October 27, 1958.

Zusammenfassung

Die Gewinnung eines neuen, tierexperimentell und klinisch hochwirksamen Diureticums der Formel III (6-Chlor-7-sulfamyl-3,4-dihydro-1,2,4-benzothiadiazin-1,1-dioxyd) wird beschrieben.

Dihydrobenzothiadiazine Dioxides with Potent Diuretic Effect

The chemistry of the heterocyclic system, 1,2,4-benzothiadiazine-1,1-dioxide, has recently received significant attention due to the report of the effective diuretic action of 6-chloro-7-sulfamyl-1,2,4-benzothiadiazine-1,1-dioxide (I) in man.¹ This compound is formed by reaction of 4-amino-6-chloro-m-benzenedisulfonamide (II) with formic acid. We have now condensed II with formaldehyde and have obtained a monomeric crystalline product, although the reaction might have been expected to result in a polymeric product.



The reaction is advantageously carried out in anhydrous diethyleneglycol dimethyl ether containing a catalytic amount of hydrogen chloride and using approximately equimolecular quantities of the reactants. We have designated the new compound as Su-5879². It proved to be 6-chloro-7-sulfamyl-3,4-dihydro-1,2,4-benzothiadiazine-1,1-dioxide (III), m. p. 273–275°.

Anal. Calculated for $\text{C}_7\text{H}_5\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}_2$: C, 28.24; H, 2.71; N, 14.11. Found C, 28.18; H, 3.00; N, 13.96.

The structure of III was confirmed by sodium borohydride reduction of I.

4-Amino-6-chloro-m-benzenedisulfonamide also reacted with other aliphatic, aromatic and heterocyclic aldehydes to afford the corresponding 3-substituted derivatives of III. This reaction was also found to be applicable to N-alkylated 4-amino-m-benzenedisulfonamides.

Su-5879 was tested in experimental animals for its diuretic and natriuretic effects and was found to be ten to twenty times as active as chlorothiazide and to have a low order of toxicity. A significant diuretic response was obtained with dosages as low as 0.04 mg/kg in dogs. The increased renal excretion of water and sodium was accompanied by a very pronounced increase in chloride excretion, suggesting that the compound does not act as a carbonic anhydrase inhibitor. This was confirmed by the fact that it is considerably weaker as a carbonic anhydrase inhibitor than chlorothiazide³.

PRO EXPERIMENTIS

**Zur Kenntnis der «Keller-Reaktion»
und ihre Anwendung
zur spektrophotometrischen Bestimmung von
Indolen**

In der Absicht, einen für Indolkörper möglichst spezifischen, quantitativen *in vitro*-Test auszuarbeiten, wurde die von HOFMANN¹ zitierte und im qualitativen Sinne verwendete «Keller-Reaktion»² zum Ausgangspunkt der vorliegenden spektrophotometrischen Untersuchung. Diese Reaktion wurde von HOFMANN zum Nachweis der Indolstruktur bei Rauwolfia-Alkaloiden¹ und Pilzgiften³ angewandt und wie folgt beschrieben:

0,5 mg Alkaloid in 1,0 ml Eisessig, der 0,035 % Eisen als Eisen-III-chlorid enthält, auflösen und mit 1,0 ml conc. H_2SO_4 unterschichten; Ring in der Berührungszone 1 min beobachten, dann durchschütteln, Färbung unmittelbar nach Mischen und Endfärbung nach einigem Stehen beobachten. Auf diese Weise werden für einzelne indolartige Alkaloide charakteristische Farbtönungen und Farbveränderungen festgestellt.

Unsere eigenen Versuche legten weniger Wert auf die an den Schichtgrenzen zu beobachtenden Ringe als auf die nach Mischung entstehende Endfärbung, das heisst im speziellen auf die Frage, ob diese «Keller-Reaktion» sich zu einem quantitativen Spektrophotometertest eigne und ob sich die einzelnen Indolkörper durch spezifische, eventuell für bestimmte Gruppen charakteristisch voneinander verschiedene Absorptionskurven auszeichnen. Zu diesem Zweck haben wir vorerst die folgende Arbeitsweise eingehalten:

0,5 ml einer meist 0,0002 M indolhaltigen, wässrigen Lösung werden mit 1 ml FeCl_3 -haltigem Eisessig versetzt und mit 2 ml conc. H_2SO_4 unterschichtet, wobei der entstehende Ring beobachtet werden kann. Darauf wird unter Kühlung am Wasserhahn vermischt, sobald die Lösung abgekühlt ist in Messküvetten eingefüllt und, um das Entweichen der meistens gebildeten Bläschen abzuwarten, etwa 10–15 min bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde im Zeiss-Spektrophotometer gemessen zwischen den Wellenlängen 650–330 m μ . Der Blindwert enthält alle Zugaben mit Ausnahme des in Frage stehenden Indolkörpers (an dessen Stelle nur 0,5 ml destilliertes Wasser).

¹ A. HOFMANN, *Helv. chim. Acta* 37, 317 (1954).

² C. C. KELLER, *Schweiz. Wschr. Chem. Pharm.* 34, 65 (1896).

³ A. HOFMANN, R. HEIM, A. BRACK und H. KOBEL, *Exper.* 14, 107 (1958).

¹ F. C. NOVELLO and J. M. SPRAGUE, *J. Amer. chem. Soc.* 79, 2028 (1957). This compound has been assigned the generic name of chlorothiazide.

² Generic name: Hydro-chlorothiazide, trademark 'ESIDREX'.

³ We are indebted to Drs. J. J. CHART, W. BARRETT, A. RENZI, and H. SHEPPARD for the biological data.