



19 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT

12 Patentschrift  
10 DE 100 20 813 C 2

51 Int. Cl.<sup>7</sup>:  
**A 61 K 31/416**  
A 61 K 31/4427  
A 61 K 31/505  
A 61 P 31/04

21 Aktenzeichen: 100 20 813.4-41  
22 Anmeldetag: 20. 4. 2000  
43 Offenlegungstag: 31. 10. 2001  
45 Veröffentlichungstag  
der Patenterteilung: 26. 6. 2003

DE 100 20 813 C 2

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

73 Patentinhaber:  
Robert Koch-Institut, 13353 Berlin, DE

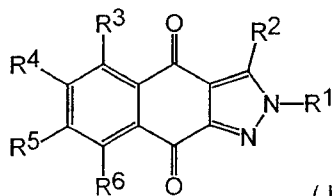
74 Vertreter:  
Wablat, W., Dipl.-Chem. Dr.-Ing. Dr.jur., Pat.-Anw.,  
14129 Berlin

72 Erfinder:  
Kayser, Oliver, Dr., 14165 Berlin, DE; Laatsch,  
Hartmut, Prof. Dr., 37077 Göttingen, DE; Kiderlen,  
Albrecht Ferdinand, Dr., 13467 Berlin, DE

56 Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht  
gezogene Druckschriften:  
DE 38 31 332 A1

54 Verwendung von N2-substituierten Benz[f]indazol-4,9-chinonen als Antiparasitika

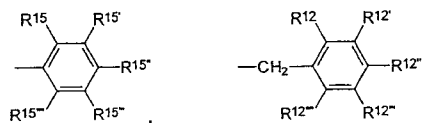
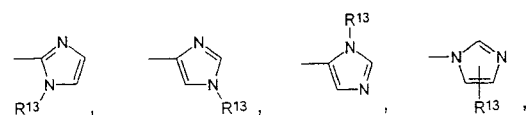
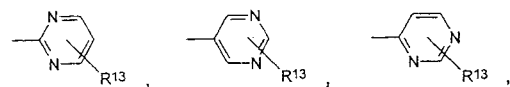
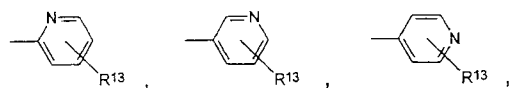
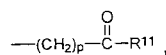
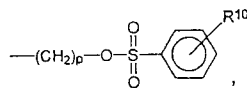
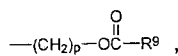
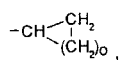
57 Pharmazeutische Zusammensetzungen, gekennzeichnet durch den Gehalt an mindestens einer der Verbindungen der allgemeinen Formel (I)



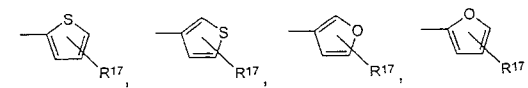
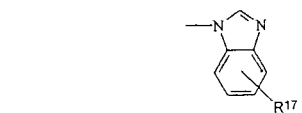
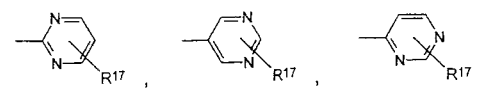
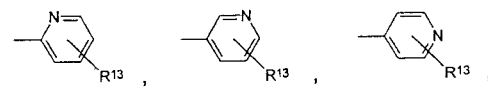
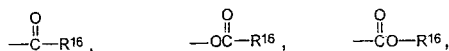
(I)

wobei R<sup>1</sup> ein Wasserstoffatom oder eine Gruppe

-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH=CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>8-m</sub>-H,  
-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C≡C-(CH<sub>2</sub>)<sub>8-m</sub>-H,  
-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-R<sup>7</sup>,



-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>-C≡C-R<sup>12</sup>,  
-CH<sub>2</sub>-C≡C-CH<sub>2</sub>-R<sup>12</sup>,  
-C≡C-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>-R<sup>12</sup>,  
bedeutet und  
R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> und R<sup>6</sup> unabhängig voneinander jeweils ein  
Wasserstoffatom oder einen der Reste  
-R<sup>7</sup>, -NO<sub>2</sub>, -NH<sub>2</sub>, -NHR<sup>8</sup>, -NR<sup>8</sup>R<sup>8'</sup>, -CN, -OH,  
-(CH<sub>2</sub>)<sub>0</sub>-R<sup>14</sup>,  
-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>0</sub>-R<sup>12</sup>,  
-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>0</sub>-R<sup>12</sup>,

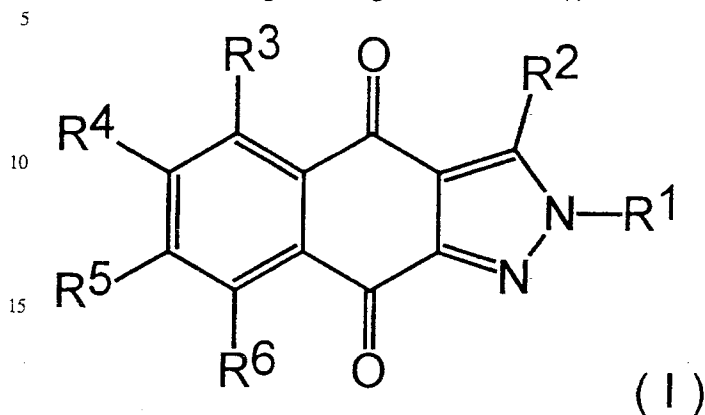


darstellen, ...

DE 100 20 813 C 2

## Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft pharmazeutische Zusammensetzungen, gekennzeichnet durch den Gehalt an mindestens einer der Verbindungen der allgemeinen Formel (I)



20 und deren pharmakologisch verträgliche Salze sowie die Verwendung von Verbindungen der allgemeinen Formel (I) oder pharmakologisch verträgliche Salze zur prophylaktischen Gabe oder therapeutischen Behandlung einer parasitären Infektion verursacht durch *Trypanosoma* spp., *Leishmania* spp., *Plasmodium* spp., *Cryptosporidium parvum*, *Eimeria* spp., *Toxoplasma gondii* oder *Pneumocystis* spp.

25 [0002] Somit betrifft die Erfindung eine Gruppe chemisch definierter Stoffe gleichen Grundgerüsts, welche spezifische antiparasitäre Wirkungen in-vitro und in-vivo (Tier, Mensch) haben. Die Grundgerüste zählen zu den Naphthochinon- und verwandter Anthrachinon- und Phenanthrenchinon-Typen.

[0003] Der humanpharmakologische Gebrauch bisher untersuchter Naphthochinone ist durch die hohe Toxizität stark limitiert, welche eine in-vivo Anwendung am Menschen nahezu unmöglich machte.

30 [0004] Bisher eingesetzte Naphthochinone wurden als Zytostatika experimentell untersucht. Lediglich das Naphthochinon "Atovaquone" (Wellvone®) wurde in der Monotherapie zur Behandlung von *Pneumocystis carinii* (PcP = *Pneumocystis carinii* Pneumonie) Infektionen und in der Kombinationstherapie mit Proguanil zur Behandlung von Plasmodien-Infektionen eingesetzt. Atovaquone zeigt bei der Monotherapie der *Pneumocystis carinii* (PcP) Infektionen bei HIV-Koinfektionen gute Effekte, ist jedoch bei längeren Therapien aufgrund der schnellen Resistenzentwicklung der Erreger nur bedingt einsetzbar. Eine Monotherapie bei Malaria ist aufgrund der schnellen Resistenzentwicklung der Erreger nicht

35 möglich. Als nachteilig zeigt sich ferner die sehr schlechte Bioverfügbarkeit und die hohe Tagesdosis von 3 mal 750 mg pro Tag.

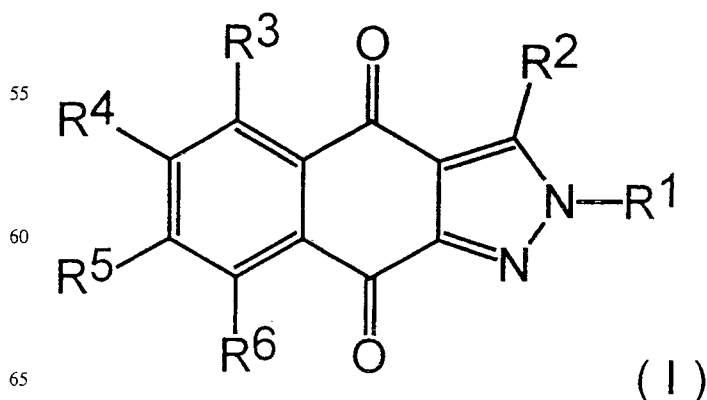
[0005] Sonstige antiprotozoische Verbindungen sind Pentamidin-isethionat, Melarsoprol und Glucantime. In ihrer Gesamtheit weisen sie eine hohe Toxizität bei nur geringem therapeutischen Nutzen auf. Nach heutigem Verständnis und Rechtsauflagen wäre eine Zulassung dieser mehr als 70 Jahre alten Arzneimittel nicht mehr denkbar.

40 [0006] Somit besteht dringender Bedarf, neue Wirkstoffe und Medikamente zur Behandlung oder Prophylaxe von parasitären Infektionen zur Verfügung zu stellen. Vor allem mangelt es an pharmazeutischen Zusammensetzungen zur prophylaktischen Gabe oder therapeutischen Behandlung einer parasitären Infektion verursacht durch *Trypanosoma* spp., *Leishmania* spp., *Plasmodium* spp., *Cryptosporidium parvum*, *Eimeria* spp., *Toxoplasma gondii* oder *Pneumocystis* spp.

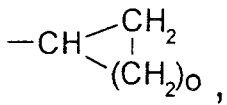
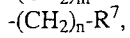
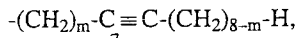
45 [0007] Der vorliegenden Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, Verbindungen zur prophylaktischen Gabe oder therapeutischen Behandlung einer parasitären Infektion verursacht durch *Trypanosoma* spp., *Leishmania* spp., *Plasmodium* spp., *Cryptosporidium parvum*, *Eimeria* spp., *Toxoplasma gondii* oder *Pneumocystis* spp. zur Verfügung zu stellen sowie pharmazeutische Zusammensetzungen zu schaffen, welche mindestens eine der zur prophylaktischen Gabe oder therapeutischen Behandlung einer parasitären Infektion verursacht durch *Trypanosoma* spp., *Leishmania* spp., *Plasmodium* spp., *Cryptosporidium parvum*, *Eimeria* spp., *Toxoplasma gondii* oder *Pneumocystis* spp. verwendeten Verbindungen

50 enthalten.

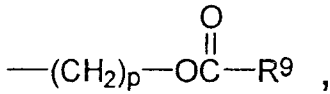
[0008] Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe durch die Verwendung der Verbindungen der allgemeinen Formel (I)



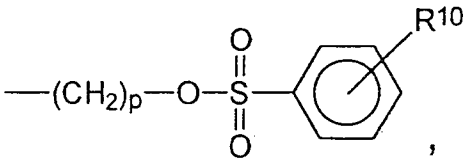
wobei R<sup>1</sup> Wasserstoff oder eine Gruppe  
-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH=CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>8-m</sub>-H,



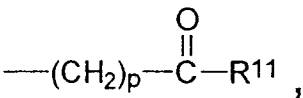
5



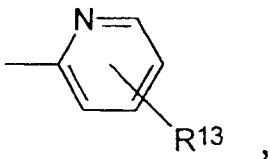
10



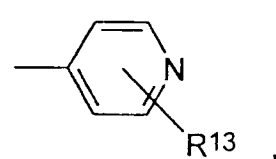
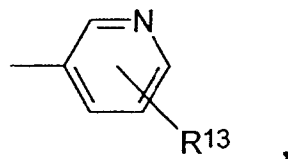
15



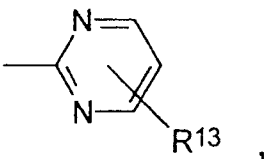
20



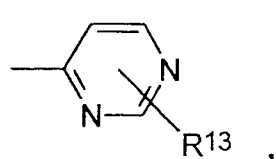
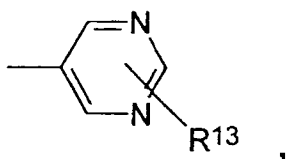
25



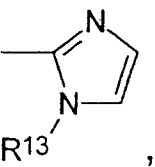
30



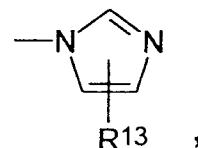
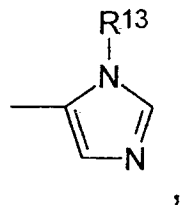
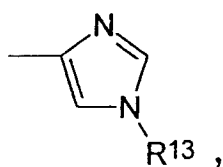
35



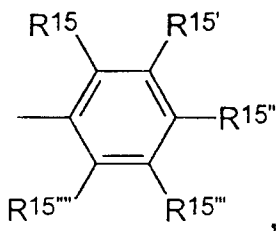
40



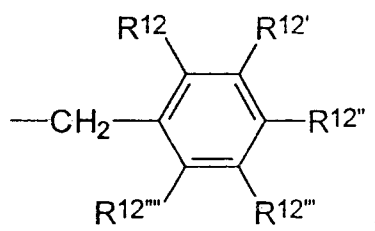
45



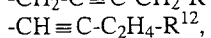
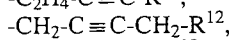
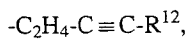
50



55



60

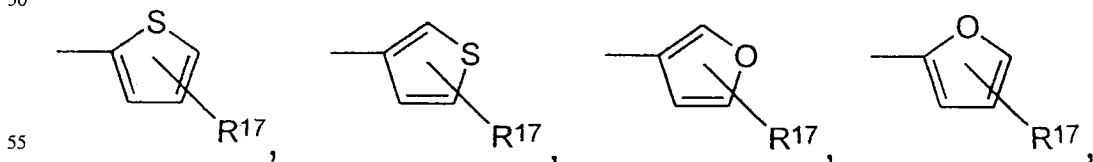
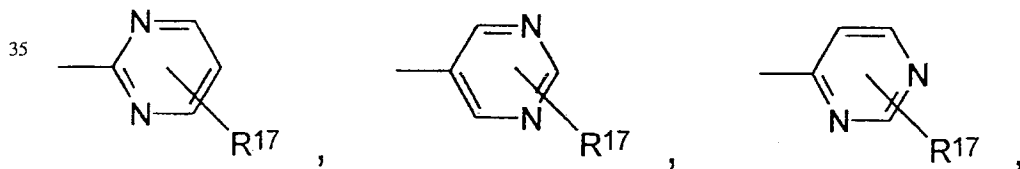
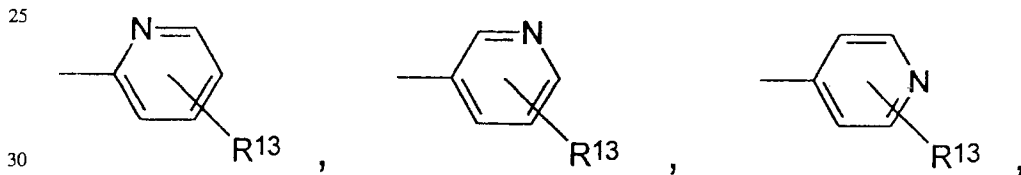
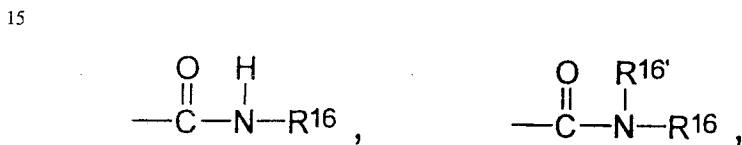
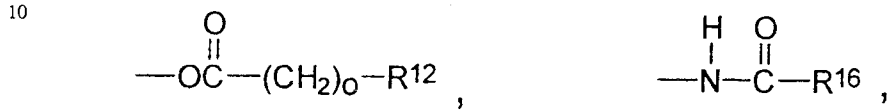
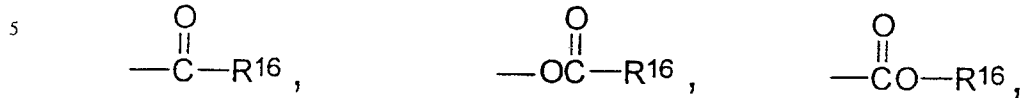


65

bedeutet und

$R^2, R^3, R^4, R^5$  und  $R^6$  unabhängig voneinander Wasserstoff oder die Gruppen  $-R^7, -NO_2, -NH_2, -NHR^8, -NR^8R^8, -CN, -OH,$

$-(\text{CH}_2)_0\text{-R}^{14}$ ,  
 $-\text{O}-(\text{CH}_2)_0\text{-R}^{12}$ ,  
 $-\text{S}-(\text{CH}_2)_0\text{-R}^{12}$ ,



$\text{R}^3$  zusammen mit  $\text{R}^4$  und den beiden Kohlenstoffatomen C-5 und C-6 des Benzolringes einen weiteren kondensierten Benzol- oder Naphthalinring ausbildet, der gegebenenfalls weitere funktionelle Gruppen trägt, wobei es sich bei diesen funktionellen Gruppen um Fluor-, Chlor-, Brom-, Iod-, Nitro-, Cyano-, Amino-, Hydroxy-, Trifluormethylgruppen, Alkylgruppen mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen, Alkoxy- oder Halogenalkoxygruppen mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen oder um Alkylthio- oder Halogenalkylthiogruppen mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen handelt,

$\text{R}^3$  zusammen mit  $\text{R}^4$  und den beiden Kohlenstoffatomen C-5 und C-6 des Benzolringes einen weiteren kondensierten fünf- oder sechsgliedrigen Heterocyclus ausbildet, wobei  $\text{R}^3$  und/oder  $\text{R}^4$  ein Kohlenstoff-, Sauerstoff- oder Stickstoffatom darstellen und dieser weitere Heterocyclus gegebenenfalls durch Fluor-, Chlor-, Brom-, Iod- oder Alkylreste mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen substituiert ist,

$\text{R}^4$  zusammen mit  $\text{R}^5$  und den beiden Kohlenstoffatomen C-6 und C-7 des Benzolringes einen weiteren kondensierten Benzol- oder Naphthalinring ausbildet, der gegebenenfalls weitere funktionelle Gruppen trägt, wobei es sich bei diesen funktionellen Gruppen um Fluor-, Chlor-, Brom-, Iod-, Nitro-, Cyano-, Amino-, Hydroxy-, Trifluormethylgruppen, Al-

kylgruppen mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen, Alkoxy- oder Halogenalkoxygruppen mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen oder um Alkylthio- oder Halogenalkylthiogruppen mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen handelt,

$R^4$  zusammen mit  $R^5$  und den beiden Kohlenstoffatomen C-6 und C-7 des Benzolringes einen weiteren kondensierten fünf- oder sechsgliedrigen Heterocyclus ausbildet, wobei  $R^4$  und  $R^5$  unabhängig voneinander jeweils ein Kohlenstoff-, Sauerstoff- oder Stickstoffatom darstellen und dieser weitere Heterocyclus gegebenenfalls durch Fluor-, Chlor-, Brom-, Iod- oder Alkylreste mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen substituiert ist,

$R^5$  zusammen mit  $R^6$  und den beiden Kohlenstoffatomen C-7 und C-8 des Benzolringes einen weiteren kondensierten Benzol- oder Naphthalinring ausbildet, der gegebenenfalls weitere funktionelle Gruppen trägt, wobei es sich bei diesen funktionellen Gruppen um Fluor-, Chlor-, Brom-, Iod-, Nitro-, Cyano-, Amino-, Hydroxy-, Trifluormethylgruppen, Alkylgruppen mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen, Alkoxy- oder Halogenalkoxygruppen mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen oder um Alkylthio- oder Halogenalkylthiogruppen mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen handelt,

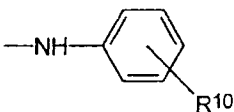
$R^5$  zusammen mit  $R^6$  und den beiden Kohlenstoffatomen C-7 und C-8 des Benzolringes einen weiteren kondensierten fünf oder sechsgliedrigen Heterocyclus ausbildet, wobei  $R^5$  und  $R^6$  unabhängig voneinander jeweils ein Kohlenstoff-, Sauerstoff- oder Stickstoffatom darstellen und dieser weitere Heterocyclus gegebenenfalls durch Fluor-, Chlor-, Brom-, Iod- oder Alkylreste mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen substituiert ist,

$R^7$  für  $-R^{12}$ ,  $-OR^8$  oder  $-SR^8$  steht,

$R^8$  und  $R^8$  unabhängig voneinander eine Alkylgruppe mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen bedeuten,

$R^9$  eine Alkylgruppe mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen oder eine Gruppe der Struktur

$-NH-R^8$ ,



darstellt,

$R^{10}$  für  $-R^{12}$ ,  $-R^8$  oder  $-OR^8$  steht,

$R^{11}$  für  $-R^8$ ,  $-NH_2$ ,  $-NHR^8$ ,  $-NR^8R^8$ ,  $-OH$ ,  $-OR^8$  steht,

$R^{12}$ ,  $-R^{12}$ ,  $-R^{12''}$ ,  $-R^{12'''}$ ,  $-R^{12''''}$  unabhängig voneinander für  $-H$ ,  $-F$ ,  $-Cl$ ,  $-Br$  oder  $-I$  stehen,

$R^{13}$  für  $-R^8$ ,  $-R^{12}$  oder eine Gruppe der folgenden Struktur steht

$-C_2H_4-C \equiv C-R^{12}$ ,  $-CH_2-C \equiv C-CH_2-R^{12}$ ,  $-C \equiv C-C_2H_4-R^{12}$

$R^{14}$  für  $-CH_3$ ,  $-R^7$ ,  $-SH$  steht,

$R^{15}$ ,  $-R^{15}$ ,  $-R^{15''}$ ,  $-R^{15'''}$ ,  $-R^{15''''}$  unabhängig voneinander für

$-R^7$ ,  $-R^8$ ,  $-NO_2$ ,  $-NH_2$ ,  $-NHR^8$ ,  $-NR^8R^8$ ,  $-CN$  oder

$-O-(CH_2)_o-R^{12}$ ,  $-S-(CH_2)_o-R^{12}$ ,  $-(CH_2)_o-R^{12}$  stehen,

$R^{16}$  und  $R^{16}$  unabhängig voneinander  $-H$  oder  $-R^8$  bedeuten,

$R^{17}$  für  $-R^7$ ,  $-CF_3$ ,  $-NO_2$ ,  $-CN$ ,  $-SH$ ,  $-OH$  oder  $-NH_2$  steht,

$m$  für 0 bis 8,

$n$  für 1 bis 10,

$o$  für 1 bis 5 und

$p$  für 0 bis 4 steht,

und deren pharmakologisch verträgliche Salze sowie Dimere oder Trimere der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) oder der pharmazeutischen Zusammensetzungen, welche mindestens eine Verbindung der allgemeinen Formel (I) oder deren pharmakologisch verträgliche Salze oder Dimere oder Trimere der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) enthalten, zur prophylaktischen Gabe oder therapeutischen Behandlung einer parasitären Infektion verursacht durch Trypanosoma spp., Leishmania spp., Plasmodium spp., Cryptosporidium parvum, Eimeria spp., Toxoplasma gondii oder Pneumocystis spp. gelöst.

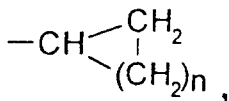
[0009] Bevorzugt für die Verwendung zur prophylaktischen Gabe oder therapeutischen Behandlung einer parasitären Infektion verursacht durch Trypanosoma spp., Leishmania spp., Plasmodium spp., Cryptosporidium parvum, Eimeria spp., Toxoplasma gondii oder Pneumocystis spp. sind die Verbindungen der allgemeinen Formel (I), worin

$R^1$  für Wasserstoff oder eine Gruppe

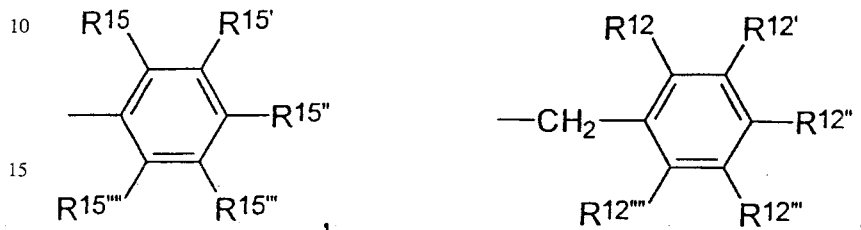
$-(CH_2)_m-CH=CH-(CH_2)_{2-m}-H$ ,

$-(CH_2)_m-C \equiv C-(CH_2)_{2-m}-H$ ,

$-(CH_2)_n-R^7$ ,



5



steht,

R<sup>7</sup> für -R<sup>12</sup>, -OR<sup>8</sup> oder -SR<sup>8</sup> steht,R<sup>8</sup> und R<sup>8'</sup> unabhängig voneinander eine Alkylgruppe mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen bedeuten,R<sup>12</sup>, -R<sup>12'</sup>, -R<sup>12''</sup>, -R<sup>12'''</sup>, -R<sup>12''''</sup> unabhängig voneinander für -H, -F, -Cl, -Br oder -I stehen,R<sup>15</sup>, -R<sup>15'</sup>, -R<sup>15''</sup>, -R<sup>15'''</sup>, -R<sup>15''''</sup> unabhängig voneinander für-R<sup>7</sup>, -R<sup>8</sup>, -NO<sub>2</sub>, -NH<sub>2</sub>, -NHR<sup>8</sup>, -NR<sup>8</sup>R<sup>8'</sup> oder -CN stehen und

m für 0 bis 2 und

n für 1 bis 4 steht.

**[0010]** Insbesondere bevorzugt für die Verwendung zur prophylaktischen Gabe oder therapeutischen Behandlung einer parasitären Infektion verursacht durch *Trypanosoma* spp., *Leishmania* spp., *Plasmodium* spp., *Cryptosporidium parvum*, *Eimeria* spp., *Toxoplasma gondii* oder *Pneumocystis* spp. sind die Verbindungen der allgemeinen Formel (I), worin R<sup>1</sup> für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, n-Propyl, Isopropyl, Butyl, Isobutyl, sec.-Butyl, tert-Butyl, n-Pentyl, tert.-Amyl, n-Hexyl, Pent-3-yl, 1,2-Dimethylpropyl, 1,3-Dimethylbutyl, 1-Ethyl-2-methylpropyl, 1,2,2-Trimethylpropyl, 2-Methylhept-5-yl, Allyl, Methallyl, Crotyl, 2-Ethyl-2-hexenyl, 5-Hexenyl, 2-Methyl-2-butenyl, 2-Methyl-3-butenyl, 1-Buten-3-yl, 2-Methyl-1-buten-4-yl, 2-Methyl-2-buten-4-yl, 3-Methyl-1-buten-3-yl, Propargyl, 1-Butin-3-yl, 2-Butinyl, 2-Chlorethyl, 2-Chlorpropyl, 3-Chlorpropyl, 2-Chlorbut-2-yl, 2-Chlor-2-methylpropyl, 2-Fluorbut-2-yl, 2-Fluor-2-methylpropyl, 1-Fluorprop-2-yl, 1-Chlor-2-methylprop-2-yl, 2,2,2-Trifluorethyl, Hydroxymethyl, 2-Hydroxyethyl, 3-Hydroxypropyl, 1-Hydroxyprop-2-yl, 2-Hydroxybutyl, 3-Hydroxybutyl, 4-Hydroxybutyl, 2-Hydroxy-2-methylpropyl, 2-Methoxyethyl, 2-Ethoxyethyl, 3-Methoxypropyl, 1-Methoxyprop-2-yl, 3-Methoxybutyl, 1-Methoxybut-2-yl, 1-Methoxy-2-methylprop-2-yl, 1-Ethoxy-2-methylprop-2-yl, 2-Methoxybutyl, 4-Methoxybutyl, Cyclopropyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl, 2-Methylmercaptoethyl, 2-Ethylmercaptoethyl, 3-Methylmercaptoethyl, 3-Methylmercaptobutyl, 1-Methylmercaptobut-2-yl, 1-Methylmercapto-2-methylprop-2-yl, 2-Methylmercaptobutyl, Phenyl, 4-Chlorphenyl, 3,4-Dichlorphenyl, o-tert.-Butylphenyl, m-tert.-Butylphenyl, p-tert.-Butylphenyl, o-Methoxyphenyl, m-Methoxyphenyl, p-Methoxyphenyl, o-Methylphenyl, m-Methylphenyl, p-Methylphenyl, 4-Methoxy-3-chlorphenyl, 2-Methyl-4-chlorphenyl, Benzyl, 2,6-Dichlorbenzyl, 2-Chlor-6-fluorbenzyl, 2,6-Difluorbenzyl, o-Chlorbenzyl, m-Chlorbenzyl oder p-Chlorbenzyl steht.

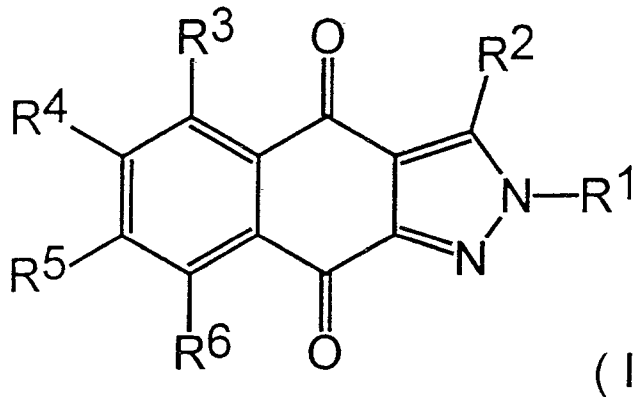
**[0011]** Die Naphthindazol-4,9-chinone wurden durch H. Laatsch synthetisiert und strukturell aufgeklärt (Laatsch, H. Liebigs Ann. Chem. 1985, 251–274). Die Synthese der Naphthindazol-4,9-chinone erfolgt nach dem in dem deutschen Patent DE 38 31 332 beschriebenen Syntheschema. Alle Verbindungen wurden mit Hilfe spektroskopischer Methoden (H/C-NMR, Massenspektroskopie, UV-, IR-Spektroskopie) strukturell charakterisiert. In der oben genannten Publikation wie auch in den nachfolgenden Mitteilungen berichteten der oder die Autoren nicht, daß die beschriebenen Naphthindazol-4,9-chinone antiparasitäre Wirkungen zeigen.

**[0012]** Es ist bekannt, daß Naphthochinone eine Strukturklasse mit biologischer Wirkung bilden. Nachteilig bei den untersuchten Naphthochinonen war ihre hohe Toxizität gegenüber Zellen und Säugetieren. Die hohe Toxizität wurde bei Tierversuchen an Ratten und Mäusen nachgewiesen (Sepúvela-Boza, S., Cassels, B. K. Plant metabolites active against *Trypanosoma cruzi*. *Planta Med* 1996, 62, 98–105). Für die Verbindungen der allgemeinen Formel (I), den Naphthindazol-4,9-chinonen, wurden weder antiparasitäre noch toxikologische Wirkungen beschrieben. Einzig herbizide Wirkungen gegenüber pflanzenpathogenen Pilzen wurden durch H. Laatsch beschrieben (Offenlegungsschrift DE-A 21 07 053).

**[0013]** Es konnte unerwarteterweise gefunden werden, daß die Verbindungen der allgemeinen Formel (I)

60

65



sowie deren pharmakologisch verträgliche Salze oder Dimere oder Trimere, worin  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$  und  $R^6$  die oben angegebene Bedeutung haben, hohe antiparasitäre Wirkung mit sehr geringer Toxizität aufweisen.

[0014] Die hohe antiparasitäre Wirkung sowie die sehr geringe Toxizität konnte im Tier am Beispiel der Maus nachgewiesen werden.

[0015] Die folgende Tabelle listet die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) auf, welche bei den pharmakologischen Untersuchungen eingesetzt wurden.

Nr.	Name	$R_1$	$R_2$	$R_3$	$R_4$	$R_5$	$R_6$
1.	<i>N</i> <sup>2</sup> -Methylbenz[ <i>f</i> ]indazol-4,9-chinon	H	H	H	H	H	H
2.	5-Chloro- <i>N</i> <sup>2</sup> -methylbenz[ <i>f</i> ]indazol-4,9-chinon	H	H	Cl	H	H	H
3.	5-Hydroxy- <i>N</i> <sup>2</sup> -methylbenz[ <i>f</i> ]indazol-4,9-chinon	H	H	OH	H	H	H
4.	5-Chloro-6-methyl-8hydroxy- <i>N</i> <sup>2</sup> -methylbenz[ <i>f</i> ]indazol-4,9-chinon	H	H	Cl	CH <sub>3</sub>	H	OH

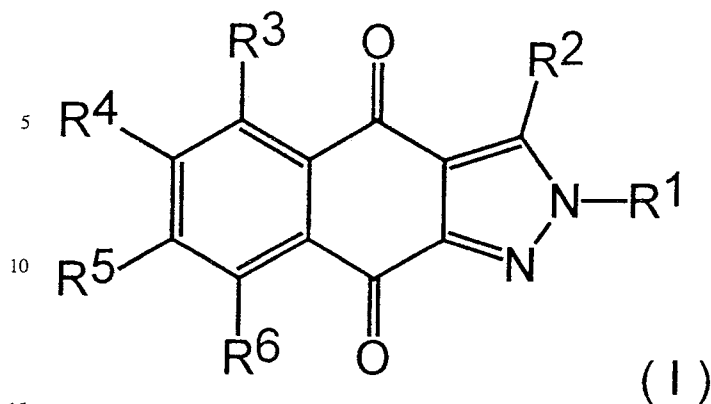
[0016] Die Naphthindazol-4,9-chinone der allgemeinen Formel (I) zeichnen sich durch eine hervorragende Wirksamkeit gegen ein breites Spektrum veterinär- und humanpathogener Parasiten aus, insbesondere gegen Leishmanien und Cryptosporidien. Sie zeigen hohe Verträglichkeit im in-vivo Maus Modell und können in Antiparasitika zum therapeutischen Gebrauch eingesetzt werden.

[0017] Erfindungsgemäß werden die antiparasitären Verbindungen der allgemeinen Formel (I) zur Infektionsprophylaxe und/oder zur Behandlung einer bestehenden Infektion therapeutisch genutzt.

[0018] Die folgende Tabelle listet die mikrobiellen Erreger auf, gegen die die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) eingesetzt werden und verdeutlicht, welche Krankheiten durch diese mikrobiellen Erreger verursacht werden.

Erkrankung	Mikrobieller Erreger
a) Afrikanische Humane Trypanosomiasis	Trypanosoma spp.
b) Südamerikanische Trypanosomiasis	Trypanosoma spp.
c) Viszerale Leishmaniose	Leishmania spp.
d) Kutane und Mukokutane Leishmaniose	Leishmania spp.
e) Canine Leishmaniose	Leishmania spp.
f) Malaria	Plasmodium spp.
g) Babesiose	Babesia spp.
h) Neosporidose	Neospora caninum
i) Sarcocystose	Sarcocystis spp.
j) Cryptosporidiose	Cryptosporidium spp.
k) Coccidiose	Eimeria spp., Isospora spp.
l) Humane Toxoplasmose	Toxoplasma gondii
m) Feline Toxoplasmose	Toxoplasma spp.
n) Pneumocystose	Pneumocystis carinii

[0019] Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ferner die Bereitstellung von pharmazeutischen Zusammensetzungen, welche mindestens eine der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) enthalten,



worin  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$  und  $R^6$  die oben angegebenen Bedeutungen haben.

[0020] Die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) können selbst oder in Form eines pharmakologisch verträglichen Salzes verabreicht werden. Geeignete Beispiele dieser Salze der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) umschließen Säureadditionssalze mit organischen oder anorganischen Säuren. Als Säuren, welche ein Säureadditionssalz der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) bilden, können die folgenden genannt werden:

Schwefelsäure, Sulfonsäure, Phosphorsäure, Salpetersäure, Perchlorsäure, Bromwasserstoffsäure, Chlorwasserstoffsäure, Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Bernsteinsäure, Oxalsäure, Glucolsäure, Milchsäure, Apfelsäure, Weinsäure, Fumarsäure, Zitronensäure, Ascorbinsäure, Maleinsäure, Hydroxymaleinsäure, Brenztraubensäure, Phenyllessigsäure, Benzoesäure, p-Aminobenzoesäure, p-Hydroxybenzoesäure, Salicylsäure, p-Aminosalicylsäure, Ambonsäure, Methansulfonsäure, Ethansulfonsäure, Hydroxyethansulfonsäure, Ethylensulfonsäure, Toluolsulfonsäure, Naphthylsulfonsäure, Sulfanilsäure, Camphersulfonsäure, Chinasäure, o-Methylmandelsäure, Hydrogenbenzolsulfonsäure, Methionin, Tryptophan, Lysin, Arginin, Pikrinsäure, Adipinsäure oder d-o-Tolylweinsäure.

[0021] Die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) sowie deren pharmakologisch verträgliche Salze können alleine appliziert oder in bekannter Weise durch Verstrecken mindestens einer der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) mit Lösungsmitteln, Trägerstoffen und/oder Tierfutter, gegebenenfalls unter Verwendung von Emulgiermitteln und/oder Dispergiermitteln, in die üblichen Formulierungen überführt werden. Die pharmazeutischen Zusammensetzungen können in Form von Lösungen, Suspensionen, Dispersionen, Emulsionen, Cremes, Salben, Pasten, Pulver, Granulate, Tabletten, Zäpfchen, Kapseln oder Dragees verwendet werden.

[0022] Die Anwendung richtet sich nach dem zu therapierenden Parasiten und soll die Abtötung oder zumindest eine Vermehrungs- oder Wachstumsbeschränkung des Parasiten bewirken.

[0023] Beispielsweise erhält man entsprechende Formulierungen durch Mischen mindestens einer Verbindung der allgemeinen Formel (I) mit Lösungsmitteln, Trägerstoffen und/oder Tierfutter, gegebenenfalls unter Verwendung von Emulgiermitteln und/oder Dispergiermitteln, wobei im Falle von Wasser als Verdünnungsmittel auch andere organische Lösungsmittel verwendet werden können.

[0024] Als Lösungsmittel für die erfindungsgemäßen Formulierungen dienen Aromaten, chlorierte Aromaten, Paraffine, Alkohole, Wasser, Ketone, Amine, Ethanolamin, Dimethylformamid und/oder Dimethylsulfoxid. Als Trägerstoffe werden natürliche Gesteinsmehle, wie beispielsweise Kaolin, Tonerden, Talkum, Kreide oder synthetische Gesteinsmehle, wie hochdisperse Kieselsäure oder Silikate eingesetzt. Als Emulgiermittel finden nichtionogene und ionogene Emulgatoren, wie Polyoxyethylen-Fettalkohol-Ether, Alkylsulfonate oder Arylsulfonate Verwendung. Als Dispergiermittel kommen Lignin, Sulfitablaugen, Methylcellulose und als Kapselgrundstoffe für Tabletten Ethylcellulose, Stärke, Lactose, Erdalkali-Fettsäuren oder Magnesiumstearat in Frage.

[0025] Die erfindungsgemäßen antiparasitären pharmazeutischen Zusammensetzungen enthalten mindestens eine der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) in einer Menge zwischen 0,1 und 99 Gew.-%.

[0026] Bevorzugt enthalten die erfindungsgemäßen antiparasitären pharmazeutischen Zusammensetzungen mindestens eine der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) in einer Menge zwischen 50 und 99 Gew.-%.

[0027] Von den erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzungen werden dem Patienten je nach Krankheitsbild und seiner physischen Statur eine Tagesdosis zwischen 0,5 und 1500 mg bezogen auf die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) verabreicht.

[0028] Die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) werden angewendet, indem sie systemisch oder lokal dem Organismus appliziert werden. Nach Forth, W. Henschler, D., Rummel, W., Starke, R. (1996) Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, Spektrum Verlag, wird unter systemischer Applikation die orale, kutane, nasale, parenterale, buccale oder anale Gabe und unter kutaner Applikation das Auftragen auf die Haut und/oder die Schleimhäute ohne systemische Wirkungen zu erzielen verstanden.

[0029] Von besonderem Interesse sind erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzungen, bei denen die Verarbeitung der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) für die systemische und lokale Applikation zu partikulären Arzneimittelformen erfolgt.

[0030] Neben den üblichen Formulierungen ist gesondert die Verarbeitung zu Nanosuspensionen zu nennen, welche die systemische und lokale Applikation der Wirkstoffe optimiert.

[0031] Bei Nanosuspensionen, Solid Liquid Nanoparticles (SLN) oder Liposomen mit einem mittleren Partikeldurchmesser von 0,1 bis 3  $\mu\text{m}$  handelt es sich um pharmazeutische Zusammensetzungen, welche als partikuläre Arzneimittelformen bezeichnet werden.

[0032] Die erfindungsgemäßen pharmazeutische Zusammensetzungen werden zur therapeutischen Behandlung oder prophylaktischen Gabe bei parasitären Infektionen eingesetzt werden.



[0033] Dabei handelt es sich um parasitäre Infektionen, welche durch die opportunistischen Erreger *Trypanosoma* spp., *Leishmania* spp., *Plasmodium* spp., *Cryptosporidium parvum*, *Eimeria* spp., *Toxoplasma gondii* oder *Pneumocystis* spp. ausgelöst werden.

[0034] Die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzungen oder die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) können des weiteren zur Infektionsprophylaxe von Blut und Blutprodukten eingesetzt werden.

[0035] Besondere Bedeutung haben die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) sowie deren erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzungen zur Bekämpfung der gastrointestinalen Infektion HIV-immunsupprimierter Patienten. Zur Zeit existiert kein effektives Arzneimittel für diesen Indikationsbereich. Ferner ist der Einsatz in veterinärmedizinischer Hinsicht hervorzuheben, da bei der Behandlung der Coccidiose in der Geflügelzucht und der Trypanosomiasis bei Zuchtrindern ein hoher Bedarf an wirksamen und nicht-toxischen Arzneimitteln besteht.

#### Synthese der N<sup>2</sup>-substituierten Naphthindazol-4,9-chinone

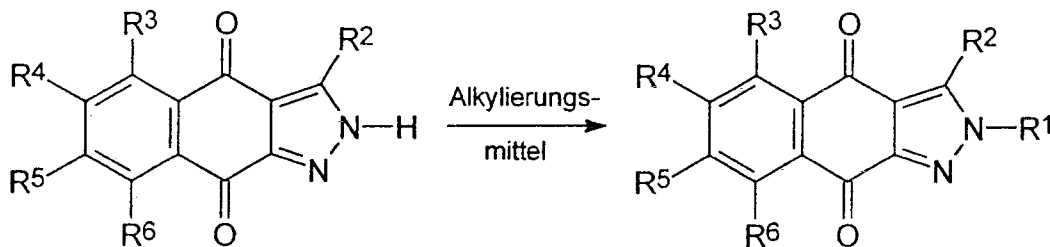
[0036] Die Synthese der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) erfolgt nach den von H. Laatsch (H. Laatsch. *Angew. Chem.* 1985, 251–274) oder von R. Ott und E. Pinter (*Monatshefte der Chemie* 1992, 123, 713–729) beschriebenen Syntheschemata. Die synthetisierten Verbindungen wurden ebenfalls von H. Laatsch strukturell aufgeklärt. Die Strukturaufklärung erfolgte mit Hilfe spektroskopischer Methoden (H/C-NMR, Massenspektroskopie, UV-, IR-Spektroskopie). In den oben genannten Publikation wie auch in nachfolgenden Mitteilungen berichten die Autoren nicht, daß die beschriebenen Naphthindazol-4,9-chinone antiparasitäre Wirkungen aufweisen.

[0037] Man erhält grundsätzlich N<sup>2</sup>-substituierte Naphthindazol-4,9-chinone der allgemeinen Formel (I), indem man entsprechende Chinone mit überschüssigem Diazoalkan umsetzt, wobei neben den N<sup>1</sup>-substituierten Alkylderivaten in signifikanter Ausbeute auch die N<sup>2</sup>-substituierten Alkylderivate entstehen.

[0038] In besserer Ausbeute entstehen die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) auf den folgenden zwei Wegen:

1. Umsetzung der nicht alkylierten Naphthindazol-4,9-chinone mit Alkylierungsmitteln:

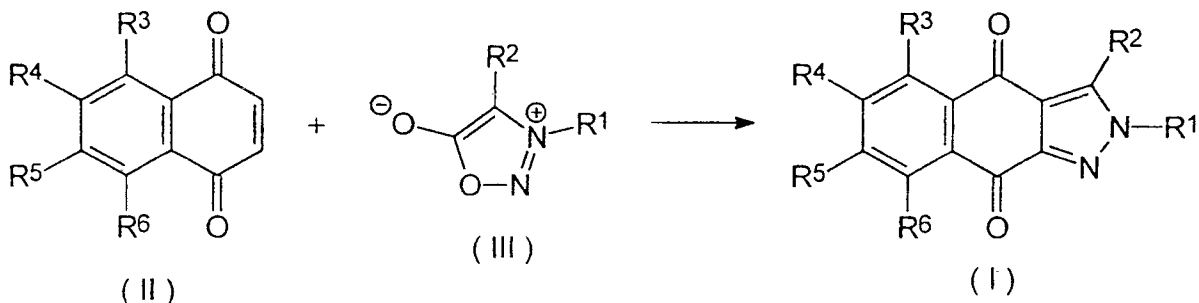
In signifikanter Ausbeute lassen sich nicht alkylierte Naphthindazol-4,9-chinone durch Umsetzung mit Alkylierungsmitteln, wie beispielsweise Dimethylsulfat, alkylieren, wobei N<sup>1</sup>-substituierte Naphthindazol-4,9-chinone und N<sup>2</sup>-substituierte Naphthindazol-4,9-chinone in einem Mengenverhältnis von 2 : 1 bis 1 : 1 entstehen. Das Mengenverhältnis von N<sup>1</sup>-alkylierten zu N<sup>2</sup>-alkylierten Naphthindazol-4,9-chinonen wird stark durch die Wahl des Alkylierungsmittels beeinflusst.



Anstelle der Verwendung von Alkylierungsmitteln ist auch der Einsatz von Acylierungsmitteln, wie Säureanhydride oder Säurehalogenide möglich (R. Ott und E. Pinter in *Monatshefte der Chemie*, 125 (1994) 945–954):.

2. Umsetzung von Chinonen mit Sydnonen:

Andererseits können die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) durch Umsetzung der entsprechend substituierten Chinone (II) mit Sydnonen (III) gemäß dem von H. Brockmann und T. Reschke beschriebenen Syntheschema hergestellt werden (*Tetrahedron Letters* 1965, 50, 4593). Die Sydnone sind einfach zugänglich und in hohen Ausbeuten zugänglich.



[0039] Die Substituenten R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> und R<sup>6</sup> haben die oben angegebene Bedeutungen.

[0040] Die folgenden Beispiele 1 bis 6 beschreiben die Untersuchung der leishmaniziden und trypanoziden Wirkung, der anti-Malaria-Wirkung, der Cryptosporidiziden-Wirkung sowie der zytotoxischen Wirkung in-vitro und in-vivo.

[0041] Beispiel 7 beschreibt die Bereitstellung von Nanosuspensionen zur Verbesserung der in-vivo Bioverfügbarkeit der Verbindungen der allgemeinen Formel (I).

[0042] Beispiel 8 behandelt die Verbesserung der in-vivo Bioverfügbarkeit durch Inkorporation der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) in Solid Lipid Nanoparticles (SLN).

## Untersuchungen der leishmaniziden Wirkung

## EXTRAZELLULÄRE ZYTOTOXIZITÄT GEGEN LEISHMANIA spec.

[0043] In ihrem Vector (Schmetterlingsmücken; Phlebotomidae) und in Zellkulturmedien leben Leishmania Parasiten in ihrer promastigoten (langgestreckt-gegeißelten) Form. Lebende Zellen metabolisieren den gelben Farbstoff MTT [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid] zu blauen Formazankristallen, welche colorimetrisch quantifiziert werden. Im Vergleich zu unbehandelten Proben (Kontrollen) deuten geringere MTT-Umsätze auf direkt wirksame antiparasitäre Effekte hin.

[0044] Dieser Test erlaubt ein Screening von Substanzen. Da jedoch im Säugetier Leishmania Parasiten nach der Infektion fast ausschließlich intrazellulär und in ihrer amastigoten Form vorliegen, ist seine Aussagekraft geringer als ein intrazellulärer Zytotoxizitätstest (s. dort).

## Durchführung

1. Promastigote Leishmania (*L. donovani*, *L. major*, *L. enriettii*) werden à  $1 \times 10^4/100 \mu\text{l}$  Medium in 96-Loch Mikrotiterplatten eingesät.
2. Test- und Referenzsubstanzen werden in Verdünnungsserien zugegeben.
3. Die Parasiten werden 96 h bei 25°C inkubiert.
4. Während der letzten 6 h wird MTT-Lösung zugegeben.
5. Gebildetes Formazan wird in Natrium (Sodium)-Dodecylsulfat (SDS) gelöst und im automatischen ELISA-Gerät durch Extinktionsmessung bei 570 nm quantifiziert.
6. Leishmanizide Effekte werden als  $EC_{50}$  berechnet (Wirkstoffkonzentration bei 50% verringertem MTT Umsatz im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle).

## INTRAZELLULÄRE ZYTOTOXIZITÄT GEGEN LEISHMANIA spec.

[0045] Leishmania Parasiten werden von ihren obligatorischen Wirtszellen (Makrophagen, Monozyten) durch Phagozytose aufgenommen. Einigen gelingt die Etablierung in den parasitophoren Vakuolen unter Umwandlung in die physiologisch adaptierte amastigote Form, welche sich intrazellulär vermehrt und mit dem Krankheitsgeschehen ursächlich in Verbindung steht. Anti-Leishmania Mittel müssen gleichfalls in die parasitophore Vakuole gelangen und unter den dort herrschenden Bedingungen möglichst spezifisch gegen amastigote Leishmania Parasiten wirken.

[0046] Bereits mit Leishmanien parasitierte Makrophagen werden Wirkstoffen und Referenzsubstanzen ausgesetzt. Nach 96 Stunden werden die Wirtszellen aufgelöst. Überlebende Leishmanien wandeln sich in Promastigote zurück und vermehren sich. Lebende Zellen metabolisieren den gelben Farbstoff MTT [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid] zu blauen Formazankristallen, welche colorimetrisch quantifiziert werden. Im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen deuten geringere MTT-Umsätze auf intrazellulär wirksame antiparasitäre Effekte.

## Durchführung

1. Murine Knochenmarkkultur-Makrophagen ( $M\Phi$ ) werden mit promastigoten Leishmania (*L. donovani*, *L. major*, *L. enriettii*) inkubiert.
2. Nach 1 h werden extrazelluläre Leishmania durch Zentrifugation entfernt, die parasitierten  $M\Phi$  in Mikrotiterplatten eingesät und bei 37°C inkubiert.
3. Nach 24 h werden Test- und Referenzsubstanzen in Verdünnungsserien zugegeben.
4. Nach 96 h werden  $M\Phi$  selektiv mittels SDS lysiert.
5. Das Lysat wird 72 h in Leishmania Wachstumsmedium bei 25°C inkubiert.
6. Den letzten 6 h wird MTT-Lösung zugegeben.
7. Gebildetes Formazan wird in SDS gelöst und im automatischen ELISA-Gerät durch Extinktionsmessung bei 570 nm quantifiziert.
8. Leishmanizide Effekte werden als  $EC_{50}$  berechnet (Wirkstoffkonzentration bei 50% verringertem MTT Umsatz im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle).

## Ergebnisse

Tab. 1

Leishmanizide Wirkung beispielhafter Naphthindazol-4,9-chinone gegen unterschiedliche Leishmania-Spezies, Angabe der EC<sub>50</sub> in µg/ml 5

Nr.	Protozoen EC <sub>50</sub> (µg/ml)					
	<i>L. donovani</i>	<i>L. major</i>	<i>L. infantum</i>	<i>L. enriettii</i>	<i>L. donovani</i> intrazellulär	<i>L. donovani</i> Maus*
1	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0	2,36	n.d.
2	0,61	1,56	2,62	1,15	4,73	6,38
3	0,59	0,39	0,62	0,25	1,26	n.d.
4	>25,0	5,07	>25,0	14,87	>25,0	n.d.

\*ED<sub>50</sub> in µg/kg KG

n.d.: nicht bestimmt (not determined)

## Beispiel 2

## Untersuchungen der trypanoziden Wirkung

[0047] Die Bestimmung der trypanoziden Wirksamkeit erfolgt nach WHO Empfehlungen, die durch Croft und Kaminsky (Croft, S. L., Kaminsky, R. (1997a), Standardization of Drug Screening, Mitteilung zu COST ACTION 815 Acrival, Louvain) beschrieben wurden. 25

## Durchführung

In-vitro Bestimmung der Wirkung gegen *Trypanosoma b. brucei*

	<i>Trypanosoma b. brucei</i> spp.
Standard-Parasiten-Linien	<i>Trypanosoma b. brucei</i> STIB 920 (Klon von STIB 348) <i>Trypanosoma b. brucei</i> STIB 900 (Klon von STIB 754)
Referenzen	Melarsoprol (Mel B®), Suramin (Germanin®)
Kulturbedingungen	Baltz-MEM mit 10% Foetalen Kälberserum Inkubation: 37°C, 5% CO <sub>2</sub>
Probenvorbereitung	Wirkstoffe werden bei bekanntem Molekulargewicht zu einer einheitlichen Stammlösung von 20 mg/ml in 100% DMSO, in Ausnahmefällen in 96%igem Ethanol, gelöst. Die Stammlösung wird bei -20°C für maximal 2 Wochen aufgehoben. Jeder Ansatz wird frisch von der Stammlösung hergestellt.

- Die Bestimmung der Wirkung erfolgt im in-vitro Testmodell mit 2 unterschiedlichen *Trypanosoma*-Stämmen. Die Stoffe wurden wie oben angegeben gelöst.
- Der Test basiert auf dem von Brun und Lun (Brun R, Lun (1994), Vet. Parasitol. 52, 37-46) beschriebenen LILI-Test (Low Inoculum Long Incubation Test).
- Ausgehend von 30 mg/ml werden Testsubstanzen in einer 96-Mikrotiterplatte (250 µl) 1 : 2 linear in Medium titriert.
- T. brucei* werden ( $4 \times 10^3$ /ml) werden 50 µl Balz Medium/Loch zugegeben die Platten 72 h bei 37°C inkubiert.
- Für die letzten 5 h wird MTT-Lösung zugegeben. Bestimmung des relativen Parasitenwachstums erfolgt nach visueller Kontrolle des MTT-Umsatzes durch überlebende Trypanosomen. 65

# DE 100 20 813 C 2

## In-vitro Bestimmung der Wirkung gegen *Trypanosoma cruzi*

[0048] Die Bestimmung der trypanoziden Wirksamkeit erfolgt nach WHO Empfehlungen, die durch Croft und Kaminsky, 1997, (Croft, S. L., Kaminsky, R. (1997a), Standardization of Drug Screening, Mitteilung zu COST ACTION 815 Acrival, Louvain) beschrieben wurden.

### Durchführung

	<i>Trypanosoma cruzi</i>
Standard-Parasiten-Linien	<i>Trypanosoma cruzi</i> MHOM/BR/00/Y (Y Strain) <i>Trypanosoma cruzi</i> MHOM/BR/00/Tulahuen <i>Trypanosoma cruzi</i> MHOM/BR/00/Columbiana
Referenzen	Benznidazol (Radanil), Gentianaviolett
Kulturbedingungen	D-MEME mit 10% Foetalem Kälberserum <i>Inkubation:</i> - Amastigot: 37°C, 5% CO <sub>2</sub> - Amastigot: 4°C, Normalluft
Probenvorbereitung	Wirkstoffe werden bei bekannten Molekulargewicht zu einer einheitlichen Stammlösung von 20 mg/ml in 100% DMSO, in Ausnahmefällen in 96%igem Ethanol gelöst. Die Stammlösung wird bei -20°C für maximal 2 Wochen aufgehoben. Jeder Ansatz wird frisch von der Stammlösung hergestellt.

1. Als Wirtszellen werden aus BALB7c Mäusen nach Induktion mit 2% Stärkelösung, i.p. 24 h vor Lavage, Peritonealmakrophagen gewonnen.
2. Die Infektion erfolgt durch Trypomastigote, gewonnen aus dem Overlay infizierter WI-38-, Vero-Zellen oder L6-Myoblasten. Das Infektionsverhältnis Wirt: Parasit beträgt 1 : 5.
3. Die infizierten Zellen in einer 24er Mikrotiterplatte werden einer Wirkstoffkonzentration von 30 µmol ausgesetzt, die in einer dreifachen Verdünnungsreihe dilutiert werden.
4. Die Inkubation erfolgt 3-6 Tage.
5. Die Bestimmung trypanozider Effekte erfolgt visuelle mit Hilfe eines Inversmikroskops.

### Ergebnisse

Tab. 2

Trypanozide Wirkung beispielhafter Naphthindazol-4,9-chinone gegen *Trypanosoma b. brucei*, Angabe der EC<sub>50</sub> in µg/ml

Nr.	Protozoen EC <sub>50</sub> (µg/ml)	
	<i>T. brucei brucei</i>	<i>T. cruzii</i>
1	23,00	> 30
2	0,56	10 - 30
3	0,54	10 - 30
4	23,00	> 30

### Beispiel 3

#### Untersuchungen zur anti-Malaria-Wirkung

[0049] Frisch übertragene Plasmodium spec. durchlaufen zuerst ein kurzes intra-hepatozytäres Stadium und anschließend fortlaufende intra-erythrozytäre Zyklen. Der erythrozytäre Zyklus humanpathogener *P. falciparum* läßt sich in-vitro

vollständig nachvollziehen.

[0050] Die Entwicklungsstadien innerhalb der Erythrozyten können anhand gefärbter, mikroskopischer Präparate verfolgt und quantifiziert werden. Der Anteil parasitierter Erythrozyten im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle läßt auf die Inhibition der intrazellulären Vermehrung schließen, während die relativen Anteile der einzelnen Entwicklungsstadien erste Rückschlüsse auf die Wirkungsweise einer Substanzen erlauben.

5

#### Durchführung

1. 7 Tage alte *P. falciparum* Blutkulturen werden zu frischem Spenderblut geben und in Mikrotiterplatten eingesät.
2. Zugabe unterschiedlichen Konzentrationen von Test- und Referenzsubstanzen.
3. Inkubation 24 h und 48 h bei 37°C.
4. Zu beiden Zeiten. Herstellung von mikroskopischen Präparaten/Probe; Färbung nach Giemsa.
5. Auszählung von 4 Gesichtsfeldern/Präparat.
6. Auswertung nach:
  - % parasitierter Erythrozyten
  - Anteil Ringstadium, Trophozoite, Schizonten

10

15

#### Ergebnisse

Tab. 3

20

Antiplasmodiale Wirkung beispielhafter Naphthindazol-4,9-chinone gegen *Plasmodium falciparum*, Angabe der EC<sub>50</sub> in µg/ml

Nr.	<i>Plasmodium falciparum</i> EC <sub>50</sub> (µg/ml)
2	6,56

25

#### Beispiel 4

30

Untersuchung zur Hemmung der Cryptosporidiose

In-vitro Aktivität gegen *Cryptosporidium parvum*

35

[0051] *Cryptosporidium parvum* (C. parvum) Stämme KSU-1 und Iowa wurden durch Dr. M. V. Nesterenko (Kansas State University) zur Verfügung gestellt. Oocysten wurden mit CsCl-Lösung oder durch Zentrifugation im Sucrosegradienten aufgereinigt, zur Sterilisation 5 min in Chlorox®-Lösung eingelegt und anschließend mit sterilem Wasser gewaschen. Für in-vivo Excystation wurden aufgereinigte Oocysten bei 37°C für 1 Stunde in PBS-Puffer mit 0,25% Trypsin und 0,75% Taurodeoxycholate inkubiert. Freie Sporozoitien wurden durch Zentrifugation im Percoll®-Gradienten isoliert. Das Verfahren lehnt sich an die Vorschrift von Nesterenko, MV, Upton, SJ (1996) J. Microbiol. Meth., 25: 87–89 an. Die Untersuchung der anti-Cryptosporidien-Wirkung erfolgt nach den Vorschriften von Woods, KM, Nesterenko, MV (1995) FEMS Microbiol. Lett., 128: 89–94. Die Verbindungen der allgemeinen Formel (I), die Naphthindazol-4,9-chinone, wurden wie folgt getestet:

40

45

#### Durchführung

1. Oocysten werden à 3,0 × 10<sup>4</sup>/100 µl Medium in 96-Loch Mikrotiterplatten gegeben, in denen 4,0 × 10<sup>8</sup> HCT-8 Zellen (ATCC CCI 244) eingesät wurden.
2. Platten werden 90 min bei 37°C inkubiert und 2 × gewaschen.
3. Neues Nährmedium und Test- wie Referenzsubstanzen werden in Verdünnungsserien zugegeben.
4. Die Parasiten werden 48 h bei 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, 95% Luftfeuchtigkeit inkubiert.
5. Detektion erfolgt durch ELISA Messung mit Ratten-anti-Cryptosporidien-Antiserum.
6. Nach Zugabe von 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin wird die optische Dichte bei 630 nm im automatischen ELISA-Gerät durch quantifiziert.
7. Anti-Cryptosporidium-Effekte werden als EC<sub>50</sub> berechnet.

50

55

In-vivo Aktivität gegen *Cryptosporidium parvum*

[0052] *C. parvum* ist ein weltweit verbreiteter und bedeutender Erreger von Durchfällen bei Kälbern und schwersten Durchfallerkrankungen bei immunkompromittierten Menschen. CD4<sup>+</sup> T Zell-defekte (TCR-α-defiziente) Mäuse vermögen den Erreger spontan nicht zu eliminieren.

60

[0053] Mindestens eine der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) wird oral verabreicht. Sie müssen den Bedingungen und die Dauer der Magen-Passage widerstehen und am Darmepithel ihre Wirksamkeit entfalten. Gezählt werden *C. parvum* Sporozoite auf einer definierten Fläche Dünndarmepithels. Angegeben wird die Reduktion der Besiedlung (in %) verglichen mit unbehandelten Kontrolltieren.

65

## Durchführung

1. *C. parvum*-sensitive TCR- $\alpha$ -defiziente Mäuse werden oral mit *C. parvum* Oocysten infiziert.
2. Test- und Referenzsubstanzen werden oral verabreicht.
3. Tiere werden getötet; das Dünndarmepithel herauspräpariert.
4. *C. parvum* Sporozoite werden gezählt.

## Ergebnisse

Tab. 4

Wirkung beispielhafter Naphthindazol-4,9-chinone gegen *Cryptosporidium parvum*, Angabe der EC<sub>50</sub> in  $\mu\text{g/ml}$

Nr.	<i>Cryptosporidium parvum</i> IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )	<i>Cryptosporidium parvum</i> Infectivity Score
1	50	n.d.
2	14,4	0,2
3	45,4	n.d.
4	>100,0	n.d.

n.d.: nicht bestimmt (not determined)

## Beispiel 5

Untersuchungen zur zytotoxischen Wirkung in-vitro und in-vivo

## In-vitro Untersuchungen

[0054] Gesucht werden Wirkstoffe mit möglichst hoher Toxizität für einzelne – oder Gruppen von – Krankheitserregern und gleichzeitig geringer Toxizität für Zellen des Wirtsorganismus.

[0055] Lebende Zellen metabolisieren den gelben Farbstoff MTT [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid] zu blauen Formazankristallen, welche colorimetrisch quantifiziert werden. Im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen geringere MTT-Umsätze deutet auf zytotoxische Effekte.

[0056] Untersucht wurden:

Maus: Knochenmarkkultur-Makrophagen

Maus: Monozytenlinie RAW

Mensch: Melanomlinie SK-Mel

Mensch: Linie Hela

## Durchführung

1. Zellen werden zu  $1 \times 10^5/100 \mu\text{l}$  Medium/Loch in 96-Loch Mikrotiterplatten eingesät und 1 h bei 37°C inkubiert.
2. Test- und Referenzsubstanzen werden als Verdünnungsreihen in 100  $\mu\text{l}$ /Loch zugegeben.
3. Inkubationszeit 48 h oder 72 h, davon die letzten 6 h in Gegenwart von MTT-Lösung.
4. Gebildetes Formazan wird mittels SDS gelöst und in einem automatischen ELISA-Gerät durch Bestimmung der relativen Extinktion bei 570 nm quantifiziert.
5. Zytotoxische Effekte werden als EC<sub>50</sub> berechnet (Wirkstoffkonzentration bei 50% verringertem MTT Umsatz im Vergleich zur unbehandelten Probe).

## In-vivo Untersuchungen

[0057] Parallel zu den Untersuchungen zur Wirksamkeit von Testsubstanzen in-vivo gegen *Cryptosporidium parvum* (R. Waters) oder *L. donovani* (S. Croft) wurden jeweils nicht infizierte Tiere auf gleichem Wege (oral bzw. intravenös) behandelt, um einen ersten Eindruck von möglichen Nebenwirkungen der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) am Gesamtorganismus zu bekommen.

## Durchführung

1. Mäuse bekommen oral Test- oder Referenzsubstanzen verabreicht.
2. Tiere werden beobachtet hinsichtlich:
  - Mortalität
  - Haltung
  - Verhalten
  - äußerer Erscheinung (Zustand des Fells; Nahrungsannahme)

## Ergebnisse

Tab. 5

In-vitro Zytotoxizitätsbestimmung von Naphthindazol-4,9-chinone, EC<sub>50</sub> = µg/ml

Nr.	Zelllinie EC <sub>50</sub> (µg/ml)					
	<i>BMM</i>	<i>SK-Mel</i>	<i>RAW</i>	<i>Hela</i>	Maus 1	Maus 2
1	5,21	5,86	20,96	44,81	n.d.	n.d.
2	>25,0	28,10	100,60	215,00	134,00	164,02
3	>25,0	28,10	100,60	215,00	n.d.	n.d.
4	4,32	4,86	17,38	37,15	n.d.	n.d.

n.d.: nicht bestimmt (not determined)

Maus 1: siehe *in-vivo* Testung gegen *Cryptosporidium parvum*Maus 2: siehe *in-vivo* Testung gegen *Leishmania donovani*

## Beispiel 6

Untersuchungen zur *in-vivo* Aktivität gegen *Leishmania donovani*

[0058] *Leishmania donovani* sind obligat intrazelluläre Parasiten des Monozyten-Makrophagen-systems. Sie verursachen viszeralisierende Infektionen unter Beteiligung sämtlicher Organe einschließlich des Knochenmarks. In der Regel handelt es sich um eine Zoonose, wobei unter anderem Nagetiere als Reservoir dienen. Die Infektion der Maus bietet somit ein verbreitetes Infektionsmodell mit ähnlicher Symptomatik wie beim Menschen (Viszeralisierung des Erregers, Hepatosplenomegalie, u. a. m.) mit genetisch determinierter, d. h. Mausstammabhängiger Tendenz zur Selbstheilung oder Chronizität.

## Durchführung

1. *Leishmania donovani* Stamm MHOM/ET/67/L82 (HU3 oder LV9) oder *Leishmania donovani* Stamm LRC-1233 (WHO Reference Centre Jerusalem) Maus Stamm BALB/c, weiblich, 18–20 g
2. Therapie Standards: Natrium Stibogluconat (Pentostamã, Glexo-Wellcome), Meglumín Antimonat (Glucantimeã, Rhone-Poulenc Rover)
3. Test Substanzen werden in der Regel in 100% DMSO oder Ethanol aufgenommen (Stocks á 10 mM hergestellt). Vor Anwendung werden jeweils frische Verdünnungsreihen dieser Stocks (90 µM) in Kulturmedium oder PBS hergestellt.
4. Mäuse werden entweder mit metazyklischen Promastigoten (aus *in-vitro* Kulturen) intraperitoneal (i.p.) oder Amastigoten (aus infizierten Hamstern) intravenös (i.v.) á 1 × 10<sup>7</sup> Parasiten/Maus infiziert.
5. Behandlung mit Testsubstanzen oder Therapie Standards beginnt 7–10 d p.i. mit einer Gabe pro Tag über die nächsten 4–5 Tage.
6. Zu unterschiedlichen Zeitpunkten werden die Tiere getötet, Milz und Leber gewogen und von jedem Organ Tupfpräparate angefertigt, welche in Methanol (100%) fixiert und nach Giemsa (10%, 45 min) gefärbt werden.
7. Gezählt wird die Anzahl Amastigoten pro Leberzellen und die Gesamtzahl Parasiten/Organ berechnet nach der Formel:

$$\text{Anzahl Amastigoten/500 Zellen} \times \text{Organgewicht [mg]} \times 200.000 \text{ (Konstante)}$$

## Ergebnisse

[0059] Die entsprechenden Versuchsergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

## Beispiel 7

Verbesserung der *in-vivo* Bioverfügbarkeit durch Überführung in Nanosuspensionen

[0060] Indem Nanosuspensionen auf die spontane Bereitschaft der oben beschriebenen Zellen zur Aufnahme von Fremdkörpern zielen, stellen Nanosuspensionen als partikuläre Darreichungsform ein effektives "drug-targeting" gegen Erreger dar, welche innerhalb von Phagozyten (Makrophagen) persistieren. So können selektiv hohe Wirkstoffkonzentrationen um den Erreger erzielt und die Belastung des übrigen Organismus minimiert werden. Ferner zeigen sie den großen Vorteil, durch Teilchenzerkleinerung und Oberflächenvergrößerung die geringe Löslichkeit der Verbindungen der allgemeinen Formel (I), der Naphthindazol-4,9-chinone, zu verbessern.

## Durchführung

[0061] Die Herstellung von Nanosuspensionen der Verbindungen der allgemeinen Formel (I), erfolgt mit Hilfe eines Hochdruckhomogenisators LAB 40 unter Druck zwischen 200 bis maximal 1500 bar und Verwendung unterschiedlicher Zyklenzahlen (i. d. R. 4–8 Zyklen) [MÜLLER und PETERS., 1997]. Der mittlere Teilchendurchmesser liegt dabei im Bereich von circa 50 bis 999 nm. Die Sterilisation erfolgt durch Autoklavierung. Alternativ kann auch eine aseptische Herstellung unter Laminar-Air-Flow (LAF) erfolgen. Die Partikelgröße wird mit Hilfe der Photonkorrelations-Spektroskopie PCS (Malvern Zetasizer), einem Laserdiffraktometer LD und einem Coulter Counter mit 30 µm Kapillare (Coulter Electronics) bestimmt. Angegeben wird die Partikelgröße zur Charakterisierung der Nanosuspension durch ihre Durchmesser (D50%, D90% und D99%). Zur Bestimmung der Sättigungskonzentration im Überstand erfolgt die Abtrennung in einer Hochgeschwindigkeitszentrifuge und danach die Vermessung der Verbindung der allgemeinen Formel (I), des Naphthindazol-4,9-chinons, mit Hilfe der UV-Spektroskopie.

[0062] Zur Einstellung einer möglichst hohen physikalischen Lagerstabilität (Abwesenheit von Partikelaggregation) ist es günstig, die Partikel möglichst hoch gleichsinnig aufzuladen (hohes Zetapotential). Die Aufladung wird durch Auswahl optimierter, geladener Tenside vorgenommen, die erzielte Ladung mittels Elektrophoresemessungen bestimmt (Einsatz von Laserdoppleranemometrie – LDA). Die geringe Löslichkeit in biologischen Medien der Verbindungen der allgemeinen Formel (I), der Naphthindazol-4,9-chinone, erweist sich als Vorteil für die systemische Applikation als Nanosuspension. Die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) werden durch Hochdruckhomogenisation in eine Nanosuspension überführt und somit intravenös applizierbar gemacht. Durch Überführung schwer wasserlöslicher Verbindungen der allgemeinen Formel (I) in Nanosuspensionen kann eine ausreichende Bioverfügbarkeit und optimierte Abgabe der Verbindung der allgemeinen Formel (I) in infizierte Makrophagen im Tiermodell erzielt werden. Die Prüfung auf physikalische Stabilität, Freisetzung der Verbindung der allgemeinen Formel (I) und Überprüfung der Sättigungslöslichkeit erfolgt durch wiederholte Partikelgrößenbestimmung und UV-spektroskopische Untersuchungen (ggf. HPLC) in einem definierten Zeitintervall.

## Ergebnisse

Tab. 6

Verbesserung der in-vivo Wirkung von Substanz 22 durch Formulierung als Nanosuspension

Formulierung	Infektivitätsrate	Infektivitätsrate
	Ileum	Käkum
2, in DMSO gelöst	0,6 (± 0,2)	1,0 (± 0,2)
2, als Nanosuspension	0,2 (± 0,2)	0,2 (± 0,2)

## Beispiel 8

Verbesserung der in-vivo Bioverfügbarkeit durch Formulierung als Solid Lipid Nanoparticles (SLN)

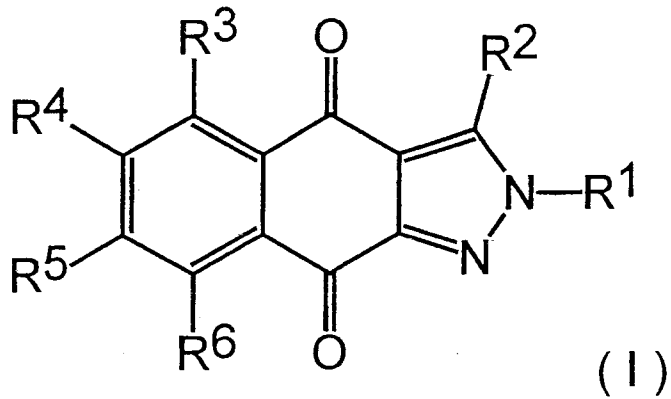
[0063] Die Verbindung der allgemeinen Formel (I) wird in einer Fettgrundlage gelöst oder suspendiert, welche nach Erkalten mit Hilfe der Hochdruckhomogenisation, wie unter Beispiel 7 beschrieben, zu Partikeln mit einer durchschnittlichen Größe von 100–900 nm homogenisiert wird. Von Vorteil gegenüber der reinen Nanosuspensionen ist, daß definierte Partikel erzeugt werden, die beispielsweise höhere Zellaffinität aufweisen, die Toxizität von Wirkstoffen reduzieren, eine Wirkstofffreisetzung nach definierter Kinetik erlauben und für gastrointestinales wie zelluläres Targeting geeignet sind.

## Durchführung

[0064] Die Herstellung der Naphthochinon-SLN erfolgt durch die Kalt-Homogenisationstechnik: Die Fettgrundlage (zum Beispiel Compritol ATO 888, Poloxamer 188) wird geschmolzen, die Verbindung der allgemeinen Formel (I), das Naphthindazol-4,9-chinone, in die Schmelze gegeben und kalt gerührt. Die erstarrte Schmelze, welche die Verbindung der allgemeinen Formel (I) gelöst oder suspendiert enthält, wird mit Zusatz von zum Beispiel Tween 80 und Span mit einem Ultra-Thurax zerkleinert. Diese Lösung oder Prä suspension wird anschließend mit einem LAB-40 Homogenisator direkt homogenisiert, um Partikel im Bereich 100–900 nm zu erhalten. Diese Partikel werden Solid Lipid Nanoparticle (SLN) genannt. Die Partikelgröße wird mit Hilfe der Photonkorrelations-Spektroskopie PCS (Malvern Zetasizer), einem Laserdiffraktometer LD und einem Coulter Counter mit 30 µm Kapillare (Coulter Electronics) bestimmt. Angegeben wird die Partikelgröße zur Charakterisierung der Nanosuspension durch ihre Durchmesser (D50%, D90% und D99%). Zur Bestimmung der Sättigungskonzentration im Überstand erfolgt die Abtrennung in einer Hochgeschwindigkeitszentrifuge und die Vermessung der Verbindung der allgemeinen Formel (I), des Naphthindazol-4,9-chinons, mit Hilfe der UV-Spektroskopie.

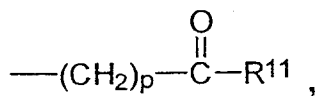
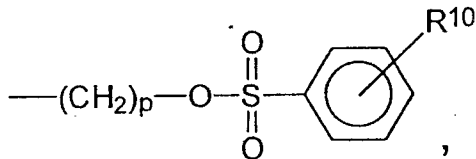
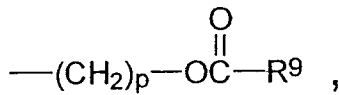
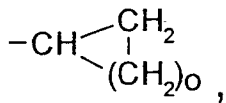


1. Pharmazeutische Zusammensetzungen, **gekennzeichnet durch** den Gehalt an mindestens einer der Verbindungen der allgemeinen Formel (I)

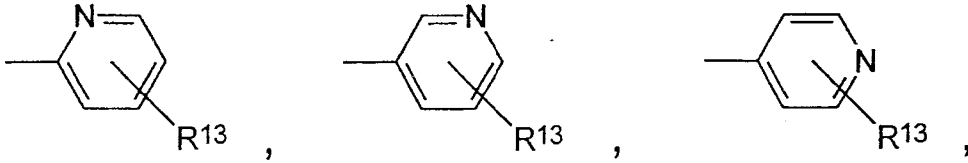


wobei R<sup>1</sup> ein Wasserstoffatom oder eine Gruppe

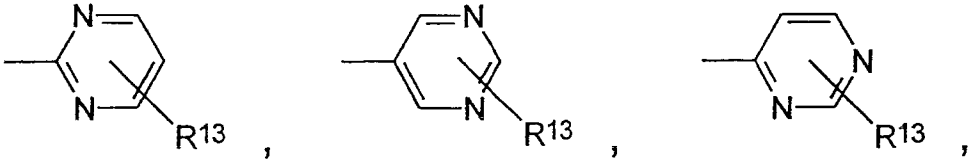
-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH=CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>8-m</sub>-H,  
 -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C≡C-(CH<sub>2</sub>)<sub>8-m</sub>-H,  
 -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-R<sup>7</sup>,



5

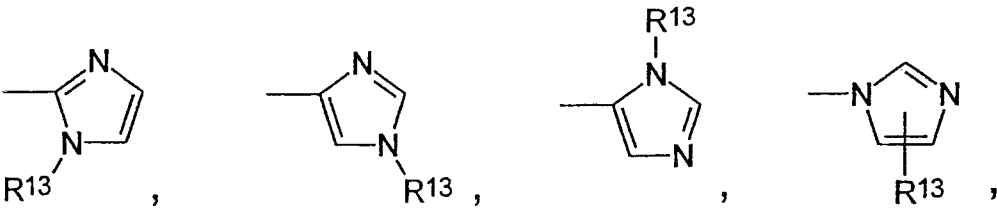


10



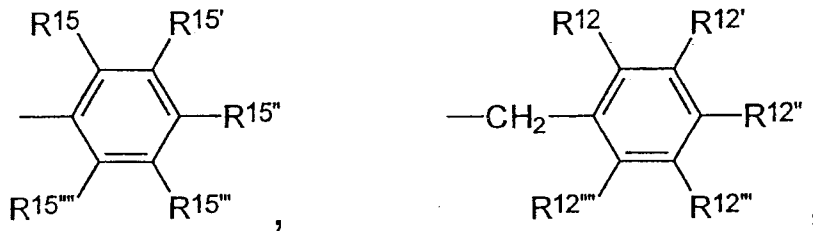
15

20

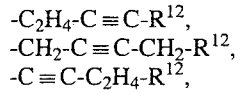


25

30



35



bedeutet und

$R^2, R^3, R^4, R^5$  und  $R^6$  unabhängig voneinander jeweils ein Wasserstoffatom oder einen der Reste

40

$-R^7, -NO_2, -NH_2, -NHR^8, -NR^8R^8, -CN, -OH,$

$-(CH_2)_O-R^{14},$

$-O-(CH_2)_O-R^{12},$

$-S-(CH_2)_O-R^{12},$

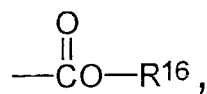
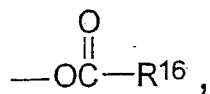
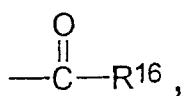
45

50

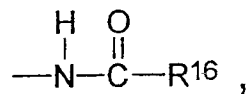
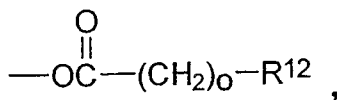
55

60

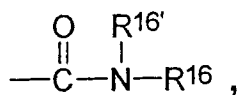
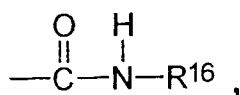
65



5

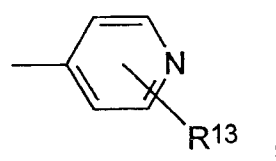
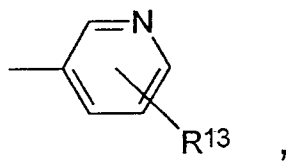
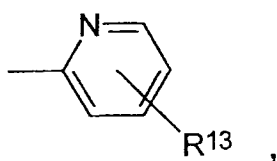


10

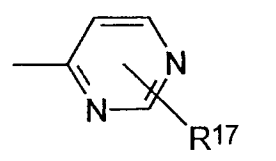
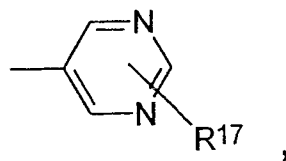
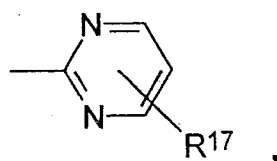


15

20

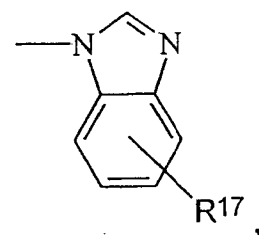


25



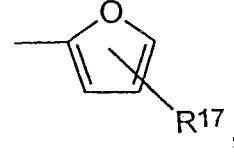
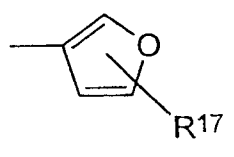
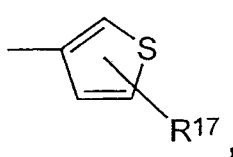
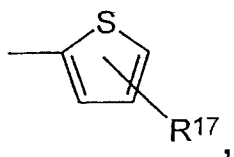
30

35



40

45



50

darstellen,

$\text{R}^3$  zusammen mit  $\text{R}^4$  und den beiden Kohlenstoffatomen C-5 und C-6 des Benzolringes einen weiteren kondensierten Benzol- oder Naphthalinring ausbildet, der gegebenenfalls weitere funktionelle Gruppen trägt, wobei es sich bei diesen funktionellen Gruppen um Fluor-, Chlor-, Brom-, Iod-, Nitro-, Cyano-, Amino-, Hydroxy-, Trifluormethylgruppen, Alkylgruppen mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen, Alkoxy- oder Halogenalkoxygruppen mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen oder um Alkylthio- oder Halogenalkylthiogruppen mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen handelt,

55

$\text{R}^3$  zusammen mit  $\text{R}^4$  und den beiden Kohlenstoffatomen C-5 und C-6 des Benzolringes einen weiteren kondensierten fünf- oder sechsgliedrigen Heterocyclus ausbildet, wobei  $\text{R}^3$  und  $\text{R}^4$  unabhängig voneinander jeweils ein Kohlenstoff-, Sauerstoff- oder Stickstoffatom darstellen und dieser weitere Heterocyclus gegebenenfalls durch Fluor-, Chlor-, Brom-, Iod- oder Alkylreste mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen substituiert ist,

60

$\text{R}^4$  zusammen mit  $\text{R}^5$  und den beiden Kohlenstoffatomen C-6 und C-7 des Benzolringes einen weiteren kondensierten Benzol- oder Naphthalinring ausbildet, der gegebenenfalls weitere funktionelle Gruppen trägt, wobei es sich bei diesen funktionellen Gruppen um Fluor-, Chlor-, Brom-, Iod-, Nitro-, Cyano-, Amino-, Hydroxy-, Trifluormethylgruppen, Alkylgruppen mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen, Alkoxy- oder Halogenalkoxygruppen mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen oder um Alkylthio- oder Halogenalkylthiogruppen mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen handelt,

65

$R^4$  zusammen mit  $R^5$  und den beiden Kohlenstoffatomen C-6 und C-7 des Benzolringes einen weiteren kondensierten fünf- oder sechsgliedrigen Heterocyclus ausbildet, wobei  $R^4$  und  $R^5$  unabhängig voneinander jeweils ein Kohlenstoff-, Sauerstoff- oder Stickstoffatom darstellen und dieser weitere Heterocyclus gegebenenfalls durch Fluor-, Chlor-, Brom-, Iod- oder Alkylreste mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen substituiert ist,

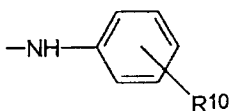
$R^5$  zusammen mit  $R^6$  und den beiden Kohlenstoffatomen C-7 und C-8 des Benzolringes einen weiteren kondensierten Benzol- oder Naphthalinring ausbildet, der gegebenenfalls weitere funktionelle Gruppen trägt, wobei es sich bei diesen funktionellen Gruppen um Fluor-, Chlor-, Brom-, Iod-, Nitro-, Cyano-, Amino-, Hydroxy-, Trifluormethylgruppen, Alkylgruppen mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen, Alkoxy- oder Halogenalkoxygruppen mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen oder um Alkylthio- oder Halogenalkylthiogruppen mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen handelt,

$R^5$  zusammen mit  $R^6$  und den beiden Kohlenstoffatomen C-7 und C-8 des Benzolringes einen weiteren kondensierten fünf- oder sechsgliedrigen Heterocyclus bildet, wobei  $R^5$  und  $R^6$  unabhängig voneinander jeweils ein Kohlenstoff-, Sauerstoff- oder Stickstoffatom darstellen und dieser weitere Heterocyclus gegebenenfalls durch Fluor-, Chlor-, Brom-, Iod- oder Alkylreste mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen substituiert ist,

$R^7$  für  $-R^{12}$ ,  $-OR^8$  oder  $-SR^8$  steht,

$R^8$  und  $R^8$  unabhängig voneinander eine Alkylgruppe mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen bedeuten,

$R^9$  eine Alkylgruppe mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen oder eine Gruppe der Struktur  $-NH-R^8$ ,



darstellt,

$R^{10}$  für  $-R^{12}$ ,  $-R^8$  oder  $-OR^8$  steht,

$R^{11}$  für  $-R^8$ ,  $-NH_2$ ,  $-NHR^8$ ,  $-NR^8R^8$ ,  $-OH$ ,  $-OR^8$ , steht,

$R^{12}$ ,  $-R^{12}$ ,  $-R^{12''}$ ,  $-R^{12'''}$ ,  $-R^{12''''}$  unabhängig voneinander für  $-H$ ,  $-F$ ,  $-Cl$ ,  $-Br$  oder  $-I$  stehen,

$R^{13}$  für  $-R^8$ ,  $-R^{12}$  oder eine Gruppe der folgenden Struktur steht

$-C_2H_4-C \equiv C-R^{12}$ ,  $-CH_2-C \equiv C-CH_2-R^{12}$ ,  $-C \equiv C-C_2H_4-R^{12}$

$R^{14}$  für  $-CH_3$ ,  $-R^7$   $-SH$  steht,

$R^{15}$ ,  $-R^{15}$ ,  $-R^{15''}$ ,  $-R^{15'''}$ ,  $-R^{15''''}$  unabhängig voneinander für

$-R^7$ ,  $-R^8$ ,  $-NO_2$ ,  $-NH_2$ ,  $-NHR^8$ ,  $-NR^8R^8$ ,  $-CN$  oder

$-O-(CH_2)_o-R^{12}$ ,  $-S-(CH_2)_o-R^{12}$ ,  $-(CH_2)_o-R^{12}$

stehen,

$R^{16}$  und  $R^{16}$  unabhängig voneinander  $-H$  oder  $-R$  bedeuten,

$R^{17}$  für  $-R^7$ ,  $-CF_3$ ,  $-NO_2$ ,  $-CN$ ,  $-SH$ ,  $-OH$  oder  $-NH_2$  steht,

$m$  für 0 bis 8,

$n$  für 1 bis 10,

$o$  für 1 bis 5 und

$p$  für 0 bis 4 steht,

sowie deren pharmakologisch verträgliche Salze und deren Dimere und Trimere.

2. Verwendung der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) gemäß Anspruch 1 zur prophylaktischen Gabe oder therapeutischen Behandlung einer parasitären Infektion verursacht durch *Trypanosoma* spp., *Leishmania* spp., *Plasmodium* spp., *Cryptosporidium parvum*, *Eimeria* spp., *Toxoplasma gondii* oder *Pneumocystis* spp..

3. Verwendung der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß  $R^1$

für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, n-Propyl, Isopropyl, Butyl, Isobutyl, sec.-Butyl, tert.-Butyl, n-Pentyl, tert.-Amyl, n-Hexyl, Pent-3-yl, 1,2-Dimethylpropyl, 1,3-Dimethylbutyl, 1-Ethyl-2-methylpropyl, 1,2,2-Trimethylpropyl, 2-Methylhept-5-yl, Allyl, Methallyl, Crotyl, 2-Ethyl-2-hexenyl, 5-Hexenyl, 2-Methyl-2-butenyl, 2-Methyl-3-butenyl, 1-Buten-3-yl, 2-Methyl-1-buten-4-yl, 2-Methyl-2-buten-4-yl, 3-Methyl-1-buten-3-yl, Propargyl, 1-Butin-3-yl, 2-Butinyl, 2-Chlorethyl, 2-Chlorpropyl, 3-Chlorpropyl, 2-Chlorbut-2-yl, 2-Chlor-2-methylpropyl, 2-Fluorbut-2-yl, 2-Fluor-2-methylpropyl, 1-Fluorprop-2-yl, 1-Chlor-2-methylprop-2-yl, 2,2,2-Trifluoethyl, Hydroxymethyl, 2-Hydroxyethyl, 3-Hydroxypropyl, 1-Hydroxyprop-2-yl, 2-Hydroxybutyl, 3-Hydroxybutyl, 4-Hydroxybutyl, 2-Hydroxy-2-methylpropyl, 2-Methoxyethyl, 2-Ethoxyethyl, 3-Methoxypropyl, 1-Methoxyprop-2-yl, 3-Methoxybutyl, 1-Methoxybut-2-yl, 1-Methoxy-2-methylprop-2-yl, 1-Ethoxy-2-methylprop-2-yl, 2-Methoxybutyl, 4-Methoxybutyl, Cyclopropyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl, 2-Methylmercaptoethyl, 2-Ethylmercaptoethyl, 3-Methylmercaptoethyl, 3-Methylmercaptobutyl, 1-Methylmercaptobut-2-yl, 1-Methylmercapto-2-methylprop-2-yl, 2-Methylmercaptobutyl, Phenyl, 4-Chlorphenyl, 3,4-Dichlorphenyl, o-tert.-Butylphenyl, m-tert.-Butylphenyl, p-tert.-Butylphenyl, o-Methoxyphenyl, m-Methoxyphenyl, p-Methoxyphenyl, o-Methylphenyl, m-Methylphenyl, p-Methylphenyl, 4-Methoxy-3-chlorphenyl, 2-Methyl-4-chlorphenyl, Benzyl, 2,6-Dichlorbenzyl, 2-Chlor-6-fluorbenzyl, 2,6-Difluorbenzyl, o-Chlorbenzyl, m-Chlorbenzyl oder p-Chlorbenzyl steht.