

Name des Patent:

Anwendung von Naphthindazol-4,9-chinone als Antiparasitika

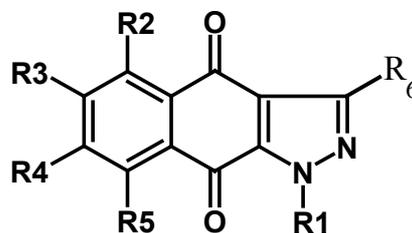
5

Zusammenfassung:

Die vorliegende Patentierung beschreibt die Anwendung von Naphthindazol-4,9-chinone als hochpotente Wirkstoffe zur Behandlung von veterinär- und humanpathogenen parasitären Infektionskrankheiten.

10

Die vorliegende Erfindung betrifft antiparasitäre Verbindungen mit dem Naphthindazolchinon-Grundgerüst der allgemeinen Formel:



15

unbedingt an C-3 (= hier R6) einen Substituenten vorsehen!

R6 kann Alkyl, Carboxyl und Derivate, Ar usw. sein

(Formel I)

in der

R1 Wasserstoff C₁-C₁₀-Alkyl, C₂-C₁₀-Alkenyl, C₂-C₁₀-Alkynyl, C₁-C₁₀-Halogenalkyl, C₁-C₁₀-Hydroxyalkyl, C₂-C₁₄-Alkoxyalkyl, C₂-C₁₄-Alkylthioalkyl, C₃-C₇-Cycloalkyl, C₁-C₄-Alkylcarboxyloxy- C₁-C₄-Alkyl, C₁-C₄-Alkylaminocarbonyloxy- C₁-C₄-alkyl, gegebenenfalls durch Halogen, C₁-C₄-Alkyl oder C₁-C₄-Alkoxy im Phenylrest substituiertes Phenylaminocarbonyloxy-C₁-C₄-alkyl, gegebenenfalls durch Halogen, C₁-C₄-Alkyl oder C₁-C₄-Alkoxy im Phenylrest substituiertes Phenylsulfonyloxy- C₁-C₄-Alkyl, C₁-C₄-Alkoxy-carbonyl- C₁-C₄-alkyl, Hydroxycarbonyl- C₁-C₄-alkyl, Aminocarbonyl- C₁-C₄-alkyl, C₁-C₄-Alkylamino-carbonyl- C₁-C₄-alkyl Di-(C₁-C₄-Alkyl)-aminocarbonyl- C₁-C₄-alkyl, Halogen- C₁-C₄-alkynyl, gegebenenfalls durch Halogen oder C₁-C₄-Alkyl substituierter Heteroarylrest (Pyrimidinyl, Pyridinyl, Imidazolyl), einen gegebenenfalls durch Halogen, Nitro, Amino, C₁-C₄-Alkylamino, Di- C₁-C₄-alkylamino, Cyano, C₁-C₄-Alkyl, C₁-C₄-Alkoxy, C₁-C₄-Halogenalkoxy, C₁-C₄-Halogenalkyl, C₁-C₄-Alkylthio oder C₁-C₄-Halogenalkylthio-substituierten Phenylrest oder einen gegebenenfalls durch Halogen substituierten Benzylrest und

R2, R3, R4 und **R5** unabhängig voneinander Wasserstoff, Halogen, Nitro, Cyano, Hydroxy, Amino, C₁-C₄-Alkylamino, Di-C₁-C₄-alkylamino, C₁-C₆-Alkyl, C₁-C₅-Halogenalkyl, C₁-C₅-Alkoxy, C₁-C₅-Halogenalkoxy, C₁-C₅-Alkylthio, C₁-C₅-Halogenalkylthio, durch C₂-C₁₀-Alkoxyalkyl, Carboxyl, C₂-C₆-Alkoxy-carbonyl, C₂-C₆-Alkanyloxy, C₂-C₆-Halogenalkanoyloxy,

35

C₁-C₄-Alkylcarbonylamino, C₁-C₄-Alkylaminocarbonyl, Di-(C₁-C₄-Alkyl)-aminocarbonyl, oder einen gegebenenfalls durch Halogen, Trifluormethyl, Nitro, Cyano, Amino C₁-C₅-Halogenalkylthio, C₁-C₄-Alkoxy oder C₁-C₄-Alkylthio substituierten Phenyl- oder Heteroarylrest, bedeuten und außerdem

- 5 **R2 und R3, R3 und R4** oder R4 und R5 gemeinsam mit den beiden Kohlenstoffatomen des Phenylringes, an die sie gebunden sind, einen heterocyclischen Ring oder einen gegebenenfalls durch Halogen, Nitro, Cyano, Amino, Hydroxy, Trifluormethyl, C₁-C₅-Alkyl, C₁-C₅-Alkoxy, C₁-C₅-Halogenalkylthio, C₁-C₅-Halogenalkoxy oder C₁-C₅-Alkylthio substituierten Benzol- oder Naphthalinring bilden, gute parasitäre Eigenschaften besitzen und
 10 gegenüber Säugerzellen selektiv wirksam sind. In Formel Ia haben die Reste **R1, R2, R3, R4** und **R5** die folgenden Bedeutungen:

R1: Wasserstoff, C₁-C₁₀-Alkyl, vorzugsweise C₁-C₄-Alkyl, C₂-C₁₀-Alkenyl, vorzugsweise C₂-C₄-Alkenyl, C₂-C₁₀-Alkinyl, vorzugsweise C₂-C₄-Alkinyl, C₁-C₁₀-Hydroxyalkyl, vorzugsweise C₁-C₄-Hydroxyalkyl, C₂-C₁₄-Alkoxyalkyl vorzugsweise C₂-C₅-Alkoxyalkyl, C₂-C₄-Alkylthioalkyl,
 15 vorzugsweise C₂-C₅-Alkylthioalkyl, C₃-C₇-Cycloalkyl, vorzugsweise C₃-C₆-Cycloalkyl, C₁-C₄-Alkylcarbonyloxy- C₁-C₄-alkyl, C₁-C₄-Alkylaminocarbonyloxy- C₁-C₄-alkyl, gegebenenfalls durch Halogen, C₁-C₄-Alkyl oder C₁-C₄-Alkoxy im Phenylrest substituiertes Phenylaminocarbonyloxy- C₁-C₄-alkyl, gegebenenfalls durch Halogen, C₁-C₄-Alkyl oder C₁-C₄-Alkoxy im Phenylrest substituiertes Phenylsulfonyloxy- C₁-C₄-Alkyl, C₁-C₄-Alkoxy- C₁-C₄-alkyl, Hydroxycarbonyl- C₁-C₄-alkyl, Aminocarbonyl- C₁-C₄-alkyl, C₁-C₄-Alkylaminocarbonyl- C₁-C₄-alkyl (Di-(C₁-C₄-Alkyl)-aminocarbonyl- C₁-C₄-alkyl, Halogen- C₁-C₄-alkyl, gegebenenfalls durch Halogen oder C₁-C₄-Alkyl substituierter Heteroarylrest (Pyrimidinyl, Pyridinyl, Imidazolinyll), einen gegebenenfalls einfach oder mehrfach durch Halogen, Hydroxy, Nitro, Amino, C₁-C₄-Alkylamino, Di-C₁-C₄-alkylamino Cyano C₁-C₄-Alkyl, C₁-C₄-Halogenalkyl, C₁-C₄-Alkoxy, C₁-C₄-Halogenalkoxy, C₁-C₄-Alkylthio oder C₁-C₄-Halogenalkylthio substituierten Phenylrest, einen gegebenenfalls durch Halogen im Phenylteil einfach oder mehrfach substituierten Benzylrest, beispielsweise Methyl, Ethyl, n-Propyl, Isopropyl, n-Butyl, Isobutyl, sec.-Butyl, tert-Butyl, n-Pentyl, tert.-Amyl, n-Hexyl, Pentyl-3, 1,2-Dimethyl-n-propyl 1,3-Dimethyl-n-butyl, 1-Ethyl-2-methyl-n-propyl, 1,2,2-Trimethyl-n-propyl, 1,2-Dimethyl-4-hexyl, Allyl, Methallyl Crotyl, 2-Ethyl-hex-2-enyl, Hex-5-enyl, 2-Methyl-but-2-enyl, 2-Methyl-but-3-enyl, But-1-en-3-yl, 2-Methyl-but-1-en-4-yl, 2-Methyl-but-2-en-4-yl, 3-Methyl-but-1-en-3-yl, Propargyl, But-1-in-3-yl, But-2-inyl, 2-Chlorethyl 2-Chlor-n-propyl, 3-Chlor-n-propyl, 2-Chlor-sec.-butyl, 2-Chlor-iso-butyl 2-Fluor-sec.-butyl, 2-Fluor-isobutyl 2-Fluor-isopropyl, Chlor-tert.-butyl, 2,2,2-Trifluorethyl, Hydroxymethyl, 2-Hydroxyethyl, 3-Hydroxy-n-propyl, 2-Hydroxy-iso-propyl, 2-Hydroxy-n-butyl, 3-Hydroxy-n-butyl, 4-Hydroxy-n-butyl, 2-Hydroxy-iso-butyl, 2-Methoxyethyl, 2-Ethoxyethyl, 3-Methoxy-n-propyl, 2-Methoxy-iso-propyl, 3-Methoxy-n-butyl, 1-Methoxy-sec.-butyl, Methoxy-tert.-butyl,

Ethoxy-tert.-butyl, 2-Methoxy-n-butyl, 4-Methoxy-n-butyl, Cyclopropyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl, 2-Methylmercapto-ethyl, 2-Ethylmercapto-ethyl, 3-Methylmercapto-n-propyl, 3-Methylmercapto-n-butyl, 1-Methylmercapto-sec.-butyl, Methylmercapto-tert.-butyl, 2-Methylmercapto-n-butyl oder für einen gegebenenfalls durch Halogen, Alkyl oder Alkoxy mit

5 1 bis 4 Kohlenstoffatomen substituierten Phenylrest oder für einen gegebenenfalls durch Halogen am Phenylring substituierten Benzylrest, wie Phenyl, 4-Chlorphenyl, 3,4-Dichlorphenyl, o-, m-, p-tert.-Butylphenyl, o-, m-, p-Methoxyphenyl, o-, m-, p-Methylphenyl, 4-Methoxy-3-chlorphenyl, 2-Methyl-4-chlorphenyl, Benzyl, 2,6-Dichlorbenzyl, 2-Chlor-6-fluorbenzyl, 2,6-Difluor-benzyl, o-, m-, p-Chlorbenzyl.

10 **R2, R3, R4, R5:** Wasserstoff, Halogen, wie Fluor, Chlor, Brom, Jod, Nitro, Cyano, Hydroxy, Amino, C₁-C₄-Alkylamino oder Di-C₁-C₄-alkylamino, C₁-C₆-Alkyl, vorzugsweise C₁-C₄-Alkyl, C₁-C₅-Halogenalkyl, vorzugsweise C₁-C₃-Halogenalkyl, C₁-C₅-Alkoxy, vorzugsweise C₁-C₃-Alkoxy, C₁-C₅-Halogenalkoxy, vorzugsweise C₁-C₃-Halogenalkoxy, C₁-C₅-Alkylthio, vorzugsweise C₁-C₃-Alkylthio, C₁-C₅-Halogenalkylthio, vorzugsweise C₁-C₃-Halogenalkylthio,

15 C₂-C₁₀-Alkoxyalkyl, vorzugsweise C₂-C₈-Alkoxyalkyl, Carbonyl, C₂-C₆-Alkoxy-carbonyl, vorzugsweise C₂-C₄-Alkoxy-carbonyl, C₂-C₅-Alkanoyloxy, vorzugsweise C₂-C₄-Alkanoyloxy, C₃-C₆-Halogenalkanoyloxy, vorzugsweise C₃-C₄-Halogenalkanoyloxy, C₁-C₄-Alkylcarbonylamino, C₁-C₄-Alkylaminocarbonyl, Di-(C₁-C₄-Alkyl)-aminocarbonyl, einen gegebenenfalls durch Halogen, vorzugsweise Chlor oder Fluor, Trifluormethyl, Nitro, Cyano,

20 Amino, C₁-C₄-Alkoxy oder C₁-C₄-Alkylthio substituierten Phenyl- oder Heteroarylrest, vorzugsweise Pyridyl, Pyrimidyl, Thienyl, Furyl oder Benzimidazolyl, z. B. Methylamino, Dimethylamino, Ethylamino, Diethylamino, Isopropylamino, Diisopropylamino, Methylethylamino, n-, iso-, tert.-Butylamino, Methyl, Ethyl, n-Propyl, Isopropyl, n-Butyl, Isobutyl, sec.-Butyl, tert.-Butyl, n-Pentyl, tert: Amyl, n-Hexyl, Pentyl-3, 1,2-Dimethyl-n-propyl,

25 1,3-Dimethyl-n-butyl, 1-Ethyl-2-methyl-n-propyl, 1,2,2-Trimethyl-n-propyl, 1,2-Dimethyl-n-hexyl, Allyl, Methallyl, Crotyl, 2-Ethyl-hex-2-enyl, Hex-5-enyl, 2-Methyl-but-2-enyl, 2-Methyl-but-3-enyl, But-1-en-3-yl, 2-Methyl-but-1-en-4-yl, 2-Methyl-but-2-en-4-yl, 3-Methyl-but-1-en-3-yl, Propargyl, But-1-in-3-yl, But-2-inyl, Fluormethyl, Chlormethyl, Trifluormethyl, Difluormethyl, Trichlormethyl, Dichlormethyl, 2-Chlorethyl 2-Chlor-n-propyl 3-Chlor-n-propyl,

30 2-Chlor-isopropyl, Pentafluorethyl, 2,2,2-Trifluorethyl, 2-Fluor-isopropyl, 3-Fluor-n-propyl, 2-Fluorethyl, Methoxy, Ethoxy, n-, iso-Propoxy, n-, iso-, tert.-Butoxy, Pentoxy, Difluormethoxy, Trifluormethoxy, Trichlormethoxy, Methylthio, Ethylthio, n-, iso-Propyl-thio, n-, iso-, tert.-Butylthio, Difluormethylthio, Trifluormethylthio, Methoxymethyl, Ethoxymethyl, 2-Methoxy-ethyl, 3-Methoxy-n-propyl, 2-Methoxy-isopropyl, 2-Ethoxyethyl, 3-Ethoxy-n-propyl, 2-Ethoxy-isopropyl, Methoxycarbonyl, Ethoxycarbonyl, n-, iso-Propoxycarbonyl, n-, iso-, tert:

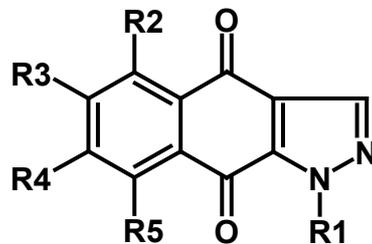
35 Butoxycarbonyl, 2-Methoxy-ethoxycarbonyl, 30 Ethoxy-methoxycarbonyl, 2-Ethoxy-ethoxycarbonyl, Phenyl, o-, m-, p-Fluorphenyl, o-, m-, p-Chlorphenyl, 2,4-Difluorphenyl, 2,4-

p-Trifluormethylphenyl, 2-, 3- und 4-Nitrophenyl, 2-, 3- und 4-Cyanophenyl, 2-, 3- und 4-Aminophenyl, 2-, 3- und 4-Methoxyphenyl, 2-, 4-Dimethoxyphenyl, 2,4,5-Trimethoxyphenyl, 2-, 3- und 4-Thiomethylphenyl, Heteroaryl wie Pyrid-2-yl, Pyrid-3-yl, Pyrid-4-yl, Thien-2-yl, Thien-3-yl, Fur-2-yl, Fur-3-yl, Benzimidazol-2-yl, 3-Chlor-pyrid-6-yl, 2-Methyl-fur-5-yl, 2-Methyl-thien-5-yl und 4,6-Dimethyl-pyrimid-2-yl, Acetyl, Propionyl, Butyryl, Isobutyryl, Valeryl, Isovaleryl, Pivalyl, Chloracetyl, Dichloracetyl, Trichloracetyl, Fluoracetyl, Difluoracetyl, Trifluoracetyl, 3,3,3-Trifluorpropionyl, Pentafluorpropionyl, 2-Chlorpropionyl, 2,2-Dichlor-propionyl, 2-Fluor-propionyl, 2,2-Difluorpropionyl.

R3 und **R4** können außerdem gemeinsam mit den beiden Kohlenstoffatomen des Phenylrings, an die sie gebunden sind, einen gegebenenfalls durch Fluor, Chlor, Brom, Nitro, Cyano, Amino, Hydroxy, Trifluormethyl, C₁-C₅-Alkyl, vorzugsweise C₁-C₃-Alkyl, C₁-C₅-Alkoxy, C₁-C₅-Halogenalkylthio, C₁-C₅-Halogenalkoxy oder C₁-C₅-Alkylthio, vorzugsweise C₂-C₃-Alkylthio, substituierten Benzol- oder Naphthalinring bilden.

Beispiele für heterocyclische Ringe, die über **R3** und **R4** gemeinsam mit den beiden C-Atomen des Phenylringes gebunden sind, sind 1,4-Dioxan, 1,3-Dioxolan, Pyrazol, Indol, Thiophen, Triazol und Piperazin. Beispiele für die entsprechenden substituierten Ringe sind 2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan, 1-Methylpyrazol, 1-Methyl-indol, as(??) N,N'-Dimethylpiperazin, 2,2-Diphenyl-1,3-dioxolan, 2-Oxo-1,3-dioxolan.

Die Naphthindazol-4,9-chinone der Formel



(Formel Ia)

in der

R1 C₂-C₁₀-Alkyl, C₂-C₁₀-Alkenyl, C₂-C₁₀-Alkynyl, C₂-C₁₀-Halogenalkyl, C₁-C₁₀-Hydroxyalkyl, C₂-C₁₄Alkoxyalkyl, C₂-C₁₄-Alkylthioalkyl, C₃-C₇-Cycloalkyl, C₁-C₄-Alkylearbonsäureoxy- C₁-C₄-alkyl, C₁-C₄-Alkylaminocarbonyloxy- C₁-C₄-alkyl, gegebenenfalls durch Halogen, C₁-C₄-Alkyl oder C₁-C₄-Alkoxy im Phenylrest substituiertes Phenylaminocarbonyloxy-C₁-C₄-alkyl, gegebenenfalls durch Halogen, C₁-C₄-Alkyl oder C₁-C₄-Alkoxy im Phenylrest substituiertes Phenylsulfonyloxy- C₁-C₄-alkyl, C₁-C₄-Alkoxy-carbonyl-C₁-C₄-alkyl, Hydroxycarbonyl-C₁-C₄-alkyl, Aminocarbonyl-C₁-C₄-alkyl, C₁-C₄-Alkylaminocarbonyl-C₁-C₄-alkyl, Di-(C₁-C₄-Alkyl)-aminocarbonyl-C₁-C₄-alkyl, Halogen-C₃-C₄-alkyl, gegebenenfalls durch Halogen oder C₁-C₄-Alkyl substituierter Heteroarylrest (Pyrimidinyl, Pyridinyl, Imidazoliny), einen gegeb-

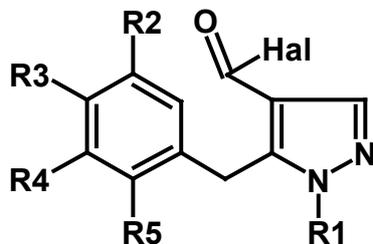
nenfalls durch Halogen, Hydroxy, Nitro, Amino, C₁-C₄-Alkylamino, Di-C₁-C₄-alkylamino, Cyano, C₁-C₄-Alkyl, C₁-C₄-Alkoxy, C₁-C₄-Halogenalkoxy, C₁-C₄-Halogenalkyl, C₁-C₄-Alkylthio oder C₁-C₄-Halogenalkylthio substituierten Phenylrest oder einen gegebenenfalls durch Halogen substituierten Benzylrest und

- 5 **R2, R3, R4** und **R5** unabhängig voneinander Wasserstoff, Halogen, Nitro, Cyano, Hydroxy, Amino, C₁-C₄-Alkylamino, Di- C₁-C₄-alkylamino, C₁-C₆-Alkyl, C₁-C₅-Halogenalkyl, C₁-C₅-Alkoxy, C₁-C₄-Halogenalkoxy, C₁-C₅-Alkylthio, C₁-C₅-Halogenalkylthio, durch C₂-C₁₀-Alkoxyalkyl, Carboxyl, C₂-C₆-Alkoxy-carbonyl, C₂-C₆-Alkanoyloxy, C₂-C₆-Halogenalkanoyloxy, C₁-C₄-Alkylcarbonylamino, C₁-C₄-Alkylaminocarbonyl, Di-(C₁-C₄-Alkyl)-aminocarbonyl, oder einen
10 gegebenenfalls durch Halogen, Trifluormethyl, Nitro, Cyano, Amino, C₁-C₄-Alkoxy oder C₁-C₄-Alkylthio substituierten Phenyl- oder Heteroarylrest bedeuten und außerdem

- R3** und **R4** gemeinsam mit den beiden Kohlenstoffatomen des Phenylringes, an die sie gebunden sind, einen heterocyclischen Ring oder einen gegebenenfalls durch Halogen, Nitro, Cyano, Amino, Hydroxy, Trifluormethyl, C₁-C₄-Alkyl, C₁-C₄-Alkoxy, C₁-C₄-
15 Halogenalkylthio, C₁-C₄-Halogenalkoxy oder C₁-C₄-Alkylthio substituierten Benzol- oder Naphthalinring bilden, sind neu.

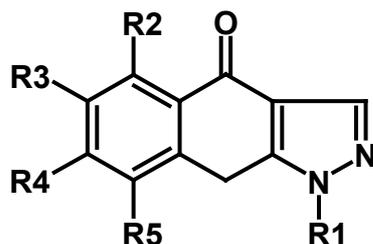
Die Reste **R1** bis **R5** in Formel I können dieselben Bedeutungen haben wie die entsprechenden Reste in Formel Ia, ausgenommen Wasserstoff und Methyl im Falle von R1.

- Man erhält die Naphthindazol-4,9-chinone der Formel I, indem man die 5-Arylmethylpyrazol-
20 4-yl-carbonsäurehalogenide der Formel II



(Formel II)

- 25 in der **R1, R2, R3, R4** und **R5** die oben angegebenen Bedeutungen haben und Hal für Halogen steht, in einem inerten Lösungsvermittler in Gegenwart eines Friedel-Crafts-Katalysators zur Reaktion bringt, und die so erhaltenen Verbindungen der Formel III



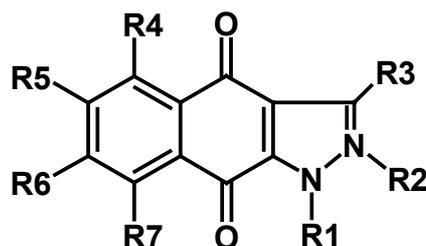
(Formel III)

in der **R1**, **R2**, **R3**, **R4** und **R5** die oben angegebenen Bedeutungen haben, in Gegenwart eines Verdünnungsmittels mit Oxidationsmitteln in die Naphthindazol-4,9-chinone der Formel I überführt.

Naphthindazol-4,9-chinone wurden synthetisiert und strukturell aufgeklärt durch Laatsch, H. wie berichtet in Liebigs Ann. Chem. (1985) 251-274. Die Synthese der erfindungsgemäßen Stoffe erfolgt nach dem im Patent DE 38 31 332 beschriebenen Syntheschema. Alle Verbindungen wurden mit Hilfe spektroskopischer Methoden (H/C-NMR, Massenspektroskopie, UV, IR-Spektroskopie) strukturell charakterisiert. In dieser wie nachfolgenden Mitteilungen bericheten der oder die Autoren nicht, daß die hier angegebenen Naphthindazol-4,9-chinone antiparasitäre Wirkungen zeigen.

Es ist allgemein anerkannt, daß Naphthochinone eine Strukturklasse mit biologischer Wirkung bilden (Hudson AT, Dickins M, Ginger CD, Gutteridge WE, Holdich T, Hutchinson DBA, Pudney M, Randall AW, Latter VS (1991) 566C80: a potent broad spectrum anti-infective agent with activity against malaria and opportunistic infections in AIDS patients. *Drugs Exp Clin Res* 17:427-435). Nachteilig bei untersuchten Naphthochinonen war in der Vergangenheit ihre hohe Toxizität gegenüber Zellen und Säugetieren (Bsp. Mäusen/ Ratte (Sepúvela-Boza, S, Cassels, BK (1996) Plant metabolites active against *Trypanosoma cruzi*. *Planta Med* 62: 98-105). Für die vorliegenden Naphthindazol-4,9-chinone wurden weder antiparasitäre noch toxikologische (besser toxische?) Wirkung beschrieben werden. Einzig herbizide Wirkung gegenüber pflanzenpathogene Pilze wurden durch Laatsch, H. beschrieben (Offenlegungsschrift DE-A 21 07 053).

Es konnte unerwarteterweise für die vorliegenden Naphthindazol-4,9-chinone eine hohe antiparasitäre Wirkung mit sehr geringer Toxizität im Tier (Maus) nachgewiesen werden. Gemäß der eingereichten Patenterfindung (reicht „Erfindung“?) können antiparasitäre Wirkungen für Naphthochinone nach der allgemeinen Grundstruktur in Formel Ib beschrieben werden:



(Formel Ib)

hier muß R2 gelöscht werden, dies wäre in Salz! Für die isomeren N2-Alkylderivate muß explizit eine zweite Formel gezeichnet werden, da ja auch die Doppelbindungen anders liegen. Dies Struktur sollte ebenfalls mit dem Patent abgedeckt werden.

5 -chinon statt -quinone!

No	Name	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
1.	Benz[f]indazol-4,9-quinone	H	H	H	H	H	H	H
2.	5,8-Dihydroxy-benz[f]indazol-4,9-quinone	H	H	H	OH	H	H	OH
3.	3-Methyl-5,8-dihydroxy-benz[f]indazol-4,9-quinone	H	H	CH ₃	OH	H	H	OH
4.	N ¹ -Methylbenz[f]indazol-4,9-quinone	CH ₃	H	H	H	H	H	H
5.	5-Chloro-N ¹ -methylbenz[f]indazol-4,9-quinone	CH ₃	H	H	Cl	H	H	H
6.	5-Bromo-N ¹ -methylbenz[f]indazol-4,9-quinone	CH ₃	H	H	Br	H	H	H
7.	5-Hydroxy-N ¹ -methylbenz[f]indazol-4,9-quinone	CH ₃	H	H	OH	H	H	H
8.	5-Methyl-N ¹ -methylbenz[f]indazol-4,9-quinone	CH ₃	H	H	CH ₃	H	H	H
9.	6-Methyl-N ¹ -methylbenz[f]indazol-4,9-quinone	CH ₃	H	H	H	CH ₃	H	H
10.	7-Methyl-N ¹ -methylbenz[f]indazol-4,9-quinone	CH ₃	H	H	H	H	CH ₃	H
11.	5-Methoxy-N ¹ -methylbenz[f]indazol-4,9-quinone	CH ₃	H	H	OCH ₃	H	H	H
12.	5-Acetoxy-N ¹ -methylbenz[f]indazol-4,9-quinone	CH ₃	H	H	OCOCH ₃	H	H	H
13.	8-Acetoxy-N ¹ -methylbenz[f]indazol-4,9-quinone	CH ₃	H	H	H	H	H	OCOCH ₃
14.	7-Methyl-5-hydroxy-N ¹ -methylbenz[f]indazol-4,9-quinone	CH ₃	H	H	OH	H	CH ₃	H
15.	7-Methyl-5-methoxy-N ¹ -methylbenz[f]indazol-4,9-quinone	CH ₃	H	H	OCH ₃	H	CH ₃	H
16.	5-Hydroxy-8-chloro-N ¹ -methylbenz[f]indazol-4,9-quinone	CH ₃	H	H	OH	H	H	Cl
17.	6-Ethylketonyl-7-methyl-N ¹ -methylbenz[f]indazol-4,9-quinone	CH ₃	H	H	H	COCH ₃	CH ₃	H
18.	5,8-Dihydroxy-N ¹ -ethylbenz[f]indazol-4,9-quinone	CH ₂ CH ₃	H	H	OH	H	H	OH
19.	3-Benzoyl-6,7-dimethyl-5,8-diacetoxy-N ¹ -ethylbenz[f]indazol-4,9-quinone	CH ₂ CH ₃	H	Bz	OCOCH ₃	CH ₃	CH ₃	OCOCH ₃
20.	10-Acetoxy-1-methylnaphth[b,f]indazol-4,11-quinone	-	-	-	-	-	-	-
21.	N ² -Methylbenz[f]indazol-4,9-quinone	H	CH ₃	H	H	H	H	H
22.	5-Chloro-N ² -methylbenz[f]indazol-4,9-quinone	H	CH ₃	H	Cl	H	H	H
23.	5-Hydroxy-N ² -methylbenz[f]indazol-4,9-quinone	H	CH ₃	H	OH	H	H	H
24.	5-Chloro-6-methyl-8hydroxy-N ² -methylbenz[f]indazol-4,9-quinone	H	CH ₃	H	Cl	CH ₃	H	OH

Die Naphthindazol-4,9-chinone zeichnen sich durch eine hervorragende Wirksamkeit gegen ein breites Spektrum veterinär- und humanpathogener Parasiten aus, insbesondere Leishmanien und Cryptosporidien. Sie zeigen hohe Verträglichkeit im in vivo Maus Modell und können in Antiparasitika zum therapeutischen Gebrauch eingesetzt werden. Besondere Bedeutung haben sie zur Bekämpfung der gastrointestinalen Infektion HIV/immunsupprimierter Patienten, da es zur Zeit kein effektives Arzneimittel in der Therapie gibt. 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 untoxischen Arzneimitteln besteht.

10

Aktueller Kenntnisstand, Beschreibung

Die Erfindung betrifft eine Gruppe chemisch definierter Stoffe gleichen Grundgerüsts des Naphthochinon-Typs (sollen wirklich nur Naphthochinone abgedeckt werden? Was ist mit den analogen Anthrachinonen, Phenanthrenchinonen usw.?), welche spezifische antiparasitäre Wirkungen in vitro und in vivo (Tier, Mensch) haben.

Die antiparasitäre Wirkung einiger Naphtochinone ist bekannt, allerdings war der humanpharmakologische Gebrauch durch die hohe Toxizität stark limitiert und eine in vivo Anwendung am Menschen nahezu unmöglich machten.

Bisher eingesetzte Naphthochinone wurden als Zytostatika experimentell untersucht, lediglich das Naphthochinone „Atovaquone“ (Wellvone®) wurde in der Monotherapie zur Behandlung von *Pneumocystis carinii* (PC) Infektion und in der Kombinationstherapie mit Proguanil zur Behandlung von Plasmodien-Infektionen eingesetzt. Atovaquone zeigt bei der Monotherapie der PC-Infektionen bei HIV-Koinfektionen gute Effekte, eine Monotherapie bei Malaria ist auf Grund der schnellen Resistenzentwicklung nicht sinnvoll. Als nachteilig zeigt sich ferner die sehr schlechte Bioverfügbarkeit und die hohe Tagesdosis von 750 mg/ Tag.

Sonstige antiprotozoische Verbindungen sind: Pentamidin-isethionat (iso?), Melarsoprol, Glucantime. In ihrer Gesamtheit zeichnen sie sich durch eine hohe Toxizität gegenüber ihrem therapeutischen Nutzen aus. („auszeichnen“ klingt so positiv; vielleicht so?: 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.

35

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können zur Infektionsprophylaxe und oder zur Behandlung einer bestehenden Infektion therapeutisch genutzt werden.

	Erkrankung	Mikrobieller Erreger
5	a) Afrikanische Human Trypanosomiasis	Trypanosoma spp.
	b) Südamerikanische Trypanosomiasis	Trypanosoma spp.
	c) Viszerale Leishmaniasis	Leishmania spp.
	d) Kutane und Mucokutane Leishmaniasis	Leishmania spp.
	e) Canine Leishmaniasis	Leishmania spp.
10	f) Malaria	Plasmodium spp.
	g) Coccidiose	
	h) Babesia	
	i) Neospora	
	j) Sarcocystis	
15	k) Cryptosporidiose	
	l) Eimeria	Eimeria
	m) Humane Toxoplasmose	Toxoplasma gondii
	n) Feline Toxoplasmose	Toxoplasma spp.
	o) Pneumocystis	Pneumocystis carinii
20		

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

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in die üblichen Formulierungen übergeführt werden wie Lösungen, Suspensionen, Emulsionen, Cremes und Salben, Pasten, Pulver, Granulate, Tabletten, Kapseln. Die Anwendung richtet sich nach dem zu therapierenden Parasiten und soll die Abtötung des Parasiten bewirken. Neben den üblichen Formulierungen ist gesondert die Verarbeitung zu Nanosuspensionen zu nennen, die die systemische und lokale Applikation der Wirkstoffe optimiert. Die Formulierungen werden in bekannter Weise hergestellt, z. B. durch Verstrecken des Wirkstoffes mit Lösungsmitteln, Trägerstoffen und/oder Tierfutter, gewünschtenfalls unter Verwendung von Emulgiermitteln und Dispergiermitteln, wobei im Falle von Wasser als Verdünnungsmittel auch andere organische Lösungsmittel verwendet werden können. Als Hilfsstoffe kommen in Betracht: Lösungsmittel wie Aromaten, chlorierte Aromaten, Paraffine, Alkohole, Ketone, Amine (z.B. Ethanolamin, Dimethylformamid), Dimethylsulfoxid und Wasser; Trägerstoffe wie natürliche

Gesteinsmehle (z. B. Kaolin, Tonerden, Talkum, Kreide) oder synthetische Gesteinsmehle (z. B. Hochdisperse Kieselsäure, Silikate), Emulgiermittel wie nichtionogene und ionogene Emulgatoren (z.B. Polyoxyethylen-Fettalkohol-Ether, Alkylsulfonate, Arylsulfonate), Dispergiermittel wie Lignin, Sulfitablaugen, Methylcellulose und Tablettengrundstoffe wie Ethylcellulose, Lactose Stärke und Erdalkali-Fettsäuren (z. B. Magnesiumstearat).

Die Antiparasitika enthalten im Allgemeinen zwischen 0,1 und 99, vorzugsweise zwischen 50 und 99 Gew% Wirkstoff.

10

Beispiel 1 **Untersuchungen der leishmaniziden Wirkung**

15

EXTRAZELLULÄRE ZYTOTOXIZITÄT GEGEN *LEISHMANIA spec.*

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

20

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 eine intrazellulärer Zytotoxizitätstest

25

Durchführung

1. Promastigote *Leishmania* (*L. donovani*, *L. major*, *L. enriettii*) werden à 1×10^4 / 100 μ 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 SDS (erklären, was das ist?) gelöst und im automatischen ELISA-Gerät durch Extinktionsmessung bei 570 nm quantifiziert.

30

6. Leishmanizide Effekte werden als **EC₅₀** berechnet (Wirkstoffkonzentration bei 50 % verringertem MTT Umsatz im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle).

5

INTRAZELLULÄRE ZYTOTOXIZITÄT GEGEN *LEISHMANIA spec.*

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 wirksam sein.

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-diphenyl-tetrazolium-bromid] zu blauen Formazankristallen, welche colorimetrisch quantifiziert werden. Im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen geringere MTT-Umsätze deutet auf intrazellulär wirksame antiparasitäre Effekte.

Durchführung

1. Murine Knochenmarkkultur-Makrophagen (MΦ) werden mit promastigoten *Leishmania* (*L. donovani*, *L. major*, *L. enriettii*) inkubiert
2. Nach 1 h werden extrazelluläre *Leishmania* durch Zentrifugation entfernt, die parasitierten MΦ in Mikrotiterplatten eingesät und inkubiert (37 °C)
3. Nach 24 h werden Test- und Referenzsubstanzen in Verdünnungsserien zugegeben
4. Nach 96 h werden MΦ selektiv mittels SDS lysiert
5. Das Lysat wird 72 h in *Leishmania* Wachstumsmedium inkubiert (25 °C)
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 **EC₅₀** berechnet (Wirkstoffkonzentration bei 50 % verringertem MTT Umsatz im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle).

Ergebnisse

Tab. 1: Trypanozide Wirkung beispielhafter Naphthindazol-4,9-chinone gegen unterschiedliche *Leishmania*-Spezies, Angabe der EC₅₀ in µg/ml

5

No	Code	Protozoon EC ₅₀ (ug/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*
	924	0,27	0,12	0,29	<0,09	2,48	n.d.
	960	0,68	>25,0	1,1	0,9	3,34	n.d.
	948	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0	2,21	n.d.
	950	0,39	0,45	0,64	<0,09	0,63	n.d.
	937	0,66	0,69	0,71	5,41	1,88	n.d.
	938	>25,0	>25,0	0,92	0,78	1,977	n.d.
	953	0,14	0,19	0,36	2,61	4,63	n.d.
	436	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0	0,65	n.d.
	939	0,61	1,56	2,62	1,15	4,73	6,38
	964	0,59	0,39	0,62	0,25	1,26	n.d.
	943	<0,09	3,08	8,24	0,55	0,481	n.d.
	963	1,04	1,09	0,26	0,68	10,88	n.d.
	916	>25,0	>25,0	13,39	>25,0	1,56	n.d.
	927	1,31	0,209	0,25	0,09	5,07	n.d.
	921	0,92	0,861	0,29	0,9	4,41	n.d.
	4082	0,71	0,95	0,31	0,08	<0,09	n.d.
	962	2,87	1,5	1,45	<0,09	2,42	n.d.
	941	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0	2,36	n.d.
	387	>25,0	>25,0	12,5	>25,0	<0,09	n.d.
	947	1,56	>25,0	0,27	0,9	3,12	n.d.
	4035	12,5	2,702	2,96	0,12	<0,09	n.d.
	949	0,16	0,21	0,14	<0,09	0,86	n.d.
	954	4,13	8,13	4,97	0,552	4,87	n.d.
	930	>25,0	>25,0	11,6	8,54	0,39	n.d.
	922	>25,0	5,07	>25,0	14,87	>25,0	n.d.
	961	>25,0	9,07	8,83	18,54	1,56	n.d.
	951	>25,0	4,51	1,04	1,56	4,73	n.d.
	799	>25,0	>25,0	>25,0	6,15	9,87	n.d.

*ED₅₀ in µg/kg KG

Beispiel 2

Untersuchungen der trypanoziden Wirkung

- 5 Die Bestimmung der trypanosomaziden 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.

Durchführung

10

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 <i>Inkubation: 37°C, 5% CO₂</i>
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.

- 15 1. Die Bestimmung der Wirkung erfolgt im *in vitro* Testmodell mit 2 unterschiedlichen *Trypanosoma*-Stämmen. Die Stoffe wurden wie oben angegeben gelöst
2. 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)
3. Ausgehend von 30 mg/ ml werden Testsubstanzen in einer 96-Mikrotiterplatte (250 µl) 1:
2 linear in Medium titriert.
- 20 4. *T. brucei* werden (4×10^3 / ml) werden 50 µl Balz Medium/ Loch zugegeben die Platten 72 h bei 37 °C inkubiert.
5. Für die letzten 5 h wird MTT-Lösung zugegeben. Bestimmung des relativen Parasitenwachstums erfolgt nach visueller Kontrolle des MTT-Umsatzes durch
überlebende Trypanosomen.
- 25

In vitro Bestimmung der Wirkung gegen *Trypanosoma cruzi*

Die Bestimmung der trypanosomaziden 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 ₂ - 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
- 10 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
- 15 5. Die Bestimmung trypanozider Effekte erfolgt visuelle mit Hilfe eines Inversmikroskops.

Ergebnisse

5 Tab. 2: Trypanozide Wirkung beispielhafter Naphthindazol-4,9-chinone gegen *Trypanosoma b. brucei*, Angabe der EC₅₀ in µg/ml

No	Code	Protozoon EC ₅₀ (ug/ml)	
		<i>T. brucei brucei</i>	<i>T. cruzii</i>
	924	0,25	> 30
	960	0,63	> 30
	948	23,00	> 30
	950	0,36	> 10
	937	0,61	> 30
	904	0,63	> 30
	362	2,50	> 30
	938	23,00	> 30
	953	0,13	> 30
	939	0,56	> 10
	964	0,54	> 10
	943	0,08	> 30
	958	1,45	> 30
	963	0,96	> 10
	916	23,00	> 30
	927	1,21	> 10
	921	0,85	> 3
	4082	0,65	> 30
	962	2,64	> 30
	941	23,00	> 30
	387	23,00	> 30
	947	1,44	> 30
	949	0,15	> 30
	954	3,80	> 30
	930	23,00	> 30
	922	23,00	> 30
	961	23,00	> 30
	951	>25,0	> 30
	799	>25,0	> 10

Beispiel 3

Untersuchungen zur anti-Malaria-Wirkung

5 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.

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
10 intrazellulären Vermehrung schließen, während die relativen Anteile der einzelnen Entwicklungsstadien erste Rückschlüsse auf die Wirkungsweise einzelner(?) Substanzen erlauben.

Durchführung

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

25

No	Code	<i>Plasmodium falciparum</i> EC ₅₀ (ug/ml)
	924	3,95
	960	5,86
	948	9,93
	950	8,59
	937	10,89
	904	12,58
	938	8,46
	939	6,56

Beispiel 4 Untersuchung zur Hemmung der Cryptosporidien-Wirkung

In vitro Aktivität gegen *Cryptosporidium parvum*

5 Cryptosporidien 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 mit Sucrosegradienten aufgereinigt, zur Sterilisation 5 min in Chlorox®-Lösung eingeslegt und anschließend mit sterilem Wasser gewaschen. Für in vivo Excystation (Exposition?) wurden aufgereinigte Oocysten bei 37°C für 1 Stunde in PBS-
10 Puffer mit 0,25% Trypsin und 0,75% Taurodeoxycholate inkubiert. Freie Sporozoiten 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 Naphthindazol-4,9-
15 chinone wurden wie folgt getestet:

Durchführung

1. Oocysten werden à $3,0 \times 10^4$ / 100 µl Medium in 96-Loch Mikrotiterplatten gegeben, in denen $4,0 \times 10^8$ HCT-8 Zellen (ATCC CCI 244) eingesät wurden.
2. Platten werden 90 min bei 37°C inkubiert und 2x gewaschen
- 20 3. Neues Nährmedium und Test- wie Referenzsubstanzen werden in Verdünnungsserien zugegeben
4. Die Parasiten werden 48 h bei 37 °C, 5% CO₂, 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
25 automatischen ELISA-Gerät durch quantifiziert.
7. Anti-Cryptosporidium-Effekte werden als **EC₅₀** berechnet .

In vivo Aktivität gegen *Cryptosporidium parvum*

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

Wirkstoffe werden 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.

Durchführung

- 5 1. TCR- α -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

10

No	Code	<i>Cryptosporidium parvum</i> IC ₅₀ (ug/ml)	<i>Cryptosporidium parvum</i> Infectivity Score
	924	13,97	n.d.
	950	40,6	n.d.
	937	17,6	n.d.
	362	>100	n.d.
	938	21,8	n.d.
	953	11,3	n.d.
	436	100	n.d.
	939	14,4	0,2
	964	45,4	n.d.
	943	>100,0	n.d.
	963	>100,0	n.d.
	916	<12,5	n.d.
	927	100	n.d.
	941	50	n.d.
	387	50	n.d.
	947	>100,0	n.d.
	4035	77,92	n.d.
	949	>100,0	n.d.
	954	31,21	n.d.
	930	<12,5	n.d.
	922	>100,0	n.d.
	951	50	n.d.
	799	>100	n.d.

Beispiel 5

Untersuchungen zur zytotoxischen Wirkung *in vitro* und *in vivo*

In vitro Untersuchungen

- 5 Gesucht werden Wirkstoffe mit möglichst hoher Toxizität für einzelne - oder Gruppen von - Krankheitserregern und gleichzeitig geringer Toxizität für Zellen des Wirtsorganismus.

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

Untersucht wurden:

	Maus	Knochenmarkkultur-Makrophagen
	Maus	Monozytenlinie RAW
	Mensch	Melanomlinie SK-Mel
15	Mensch	Linie Hela

Durchführung

1. Zellen werden zu 1×10^5 / 100 μ l Medium/ Loch in 96-Loch Mikrotiterplatten eingesät und 1 h bei 37 °C inkubiert.
- 20 2. Test- und Referenzsubstanzen werden als Verdünnungsreihen in 100 μ 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
- 25 5. Zytotoxische Effekte werden als EC₅₀ berechnet (Wirkstoffkonzentration bei 50 % verringertem MTT Umsatz im Vergleich zur unbehandelten Probe)

In vivo Untersuchungen

Parallel zu den Untersuchungen zur Wirksamkeit von Testsubstanzen *in vivo* gegen
30 *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 am Gesamtorganismus zu bekommen.

Durchführung

1. Mäuse bekommen oral Test- oder Referenzsubstanzen verabreicht
 2. Tiere werden beobachtet hinsichtlich
 - Mortalität
 - äußerer Erscheinung (Zustand des Fells; Nahrungsannahme)
- 5
- Haltung
 - Verhalten

Ergebnisse

10

Tab. 5: In vitro Zytotoxizitätsbestimmung von Naphthindazol-4,9-chinone, EC₅₀ = µg/ml

No	Code	Zelllinie EC ₅₀ (ug/ml)				Maus 1	Maus 2
		<i>BMM</i>	<i>SK-Mel</i>	<i>RAW</i>	<i>Hela</i>		
	924	0,69	0,78	2,78	5,93	n.d.	n.d.
	960	3,12	3,51	12,55	26,83	n.d.	n.d.
	948	1,39	1,56	5,59	11,95	n.d.	n.d.
	950	0,43	0,48	1,73	3,70	n.d.	n.d.
	937	1,05	1,18	4,23	9,03	n.d.	n.d.
	904	1,24	1,39	4,99	10,66	n.d.	n.d.
	362	8,24	9,26	33,16	70,86	n.d.	n.d.
	938	>25,0	28,10	100,60	215,00	n.d.	n.d.
	953	0,09	0,10	0,36	0,77	n.d.	n.d.
	436	>25,0	28,10	100,60	215,00	n.d.	n.d.
	939	>25,0	28,10	100,60	215,00	134,00	164,02
	964	>25,0	28,10	100,60	215,00	n.d.	n.d.
	943	>25,0	28,10	100,60	215,00	n.d.	n.d.
	958	1,24	1,39	4,99	10,66	n.d.	n.d.
	963	0,16	0,18	0,64	1,38	n.d.	n.d.
	916	1,33	1,49	5,35	11,44	n.d.	n.d.
	927	1,56	1,75	6,28	13,42	n.d.	n.d.
	921	5,75	6,46	23,14	49,45	n.d.	n.d.
	962	5,83	5,98	21,41	45,75	n.d.	n.d.
	941	5,21	5,86	20,96	44,81	n.d.	n.d.
	387	0,55	0,62	2,21	4,73	n.d.	n.d.
	947	3,76	4,23	15,13	32,34	n.d.	n.d.
	4035	1,72	1,93	6,92	14,79	n.d.	n.d.
	949	1,082	1,22	4,35	9,31	n.d.	n.d.
	954	>25,0	28,10	100,60	215,00	n.d.	n.d.
	930	0,87	0,98	3,50	7,48	n.d.	n.d.
	922	4,32	4,86	17,38	37,15	n.d.	n.d.
	961	>25,0	28,10	100,60	215,00	n.d.	n.d.
	951	0,78	0,18	0,64	1,38	n.d.	n.d.
	799	>25,0	1,49	5,35	11,44	n.d.	n.d.

Maus 1: siehe in vivo Testung gegen *Cryptosporidium parvum*

Maus 2: siehe in vivo Testung gegen *Leishmania donovani*

15

Beispiel 6 Verbesserung der in vivo Bioverfügbarkeit durch Überführung in Nanosuspensionen

5

Indem sie auf die spontane Bereitschaft dieser 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 zu patentierenden Naphthindazol-4,9-chinone zu verbessern.

10

Durchführung

15

20

25

30

35

Die Herstellung von Nanosuspensionen aktiver Naphthochinone 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 200 bis 1000 nm. Sterilisation erfolgt durch Autoklavierung bzw. alternativ durch 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 durch Abtrennung in einer Hochgeschwindigkeitszentrifuge und Vermessen des Wirkstoffes mit Hilfe der UV-Spektroskopie.

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 Naphthindazol-4,9-chinone erweist sich als Vorteil für die systemische Applikation als Nanosuspension. Die Stoffe werden durch Hochdruckhomogenisation in eine Nanosuspension überführt und somit intravenös applizierbar gemacht werden. Durch Überführung schwer wasserlöslicher Wirkstoffe in eine Nanosuspension kann eine ausreichende Bioverfügbarkeit und optimierte Wirkstoffabgabe in infizierte Makrophagen im Tiermodell erzielt werden. Die Prüfung auf physikalische Stabilität, Freisetzung des Wirkstoffes und Überprüfung der Sättigungslöslichkeit erfolgt durch wiederholte

Partikelgrößenbestimmung und UV-spektroskopische Untersuchungen (ggf. HPLC) in einem definierten Zeitintervall.

Beispiel 7

Verbesserung der in vivo Bioverfügbarkeit durch Inkorporation in Solid Lipid Nanoparticles (SLN)

- 5 Der Wirkstoff wird in eine Fettgrundlage gelöst oder suspendiert, welche nach Erkalten mit Hilfe der Hochdruckhomogenisation, wie unter B12 beschrieben, zu Partikeln mit einer durchschnittlichen Größe von 400 – 800 nm homogenisiert wird. Von Vorteil gegenüber der reinen Nanosuspensionen ist, daß definierte Partikel erzeugt werden, die bsp.(?) höhere Zellaffinität aufweisen, die Toxizität von Wirkstoffen reduzieren und eine Wirkstofffreisetzung nach definierter Kinetik erlauben.

Durchführung

- Die Herstellung der Naphthochinon-SLN erfolgt durch die Kalt-Homogenisationstechnik: Die Fettgrundlage (Compritrol ATO 888, Poloxamer 188) wird geschmolzen, der Wirkstoff in die Schmelze gegeben und kalt gerührt. Die erstarrte Schmelze mit Wirkstoff, die den Wirkstoff suspendiert enthält, wird mit Zusatz von Tween 80 und Span mit einem Ultra-Thurax zerkleinert. Diese Prä-Suspension wird anschließend mit einem LAB-40 Homogenisator direkt homogenisiert, um Partikel im Bereich 400 – 800 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 durch Abtrennung in einer Hochgeschwindigkeitszentrifuge und Vermessen des Wirkstoffes mit Hilfe der UV-Spektroskopie.

25

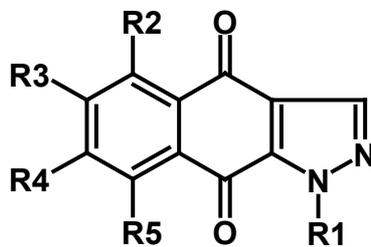
Patentansprüche

1. Arzneimittel mit einem Anteil an einem der Naphthindazol-4,9-chinone -Derivate
2. Jedwede therapeutische Behandlung oder prophylaktische Gabe einer parasitären Infektion verursacht durch *Trypanosoma* spp., *Leishmania* spp., *Plasmodium* spp., *Cryptosporidium parvum*, *Eimeria* spp., *Toxoplasma gondii*, *Pneumocystis carinii*

a) durch die Gabe eines Stoffes der aufgeführten Naphthindazol-4,9-chinone

b) durch die Gabe eines Stoffes der Grundstruktur

auch hier R an C-3 und ggf. isomere N2-Alkylderivate zeichnen, s. Anfang



a) in der

R1 Wasserstoff C₁-C₁₀-Alkyl, C₂-C₁₀-Alkenyl, C₂-C₁₀-Alkynyl, C₁-C₁₀-Halogenalkyl, C₁-C₁₀-Hydroxyalkyl, C₂-C₁₄-Alkoxyalkyl, C₂-C₁₄-Alkylthioalkyl, C₃-C₇-Cycloalkyl, C₁-C₄-Alkylcarboxyloxy- C₁-C₄-Alkyl, C₁-C₄-Alkylaminocarboxyloxy- C₁-C₄-alkyl, gegebenenfalls durch Halogen, C₁-C₄-Alkyl oder C₁-C₄-Alkoxy im Phenylrest substituiertes Phenylaminocarboxyloxy-C₁-C₄-alkyl, gegebenenfalls durch Halogen,

C₁-C₄-Alkyl oder C₁-C₄-Alkoxy im Phenylrest substituiertes Phenylsulfonyloxy- C₁-C₄-Alkyl, C₁-C₄-Alkoxy-carbonyl- C₁-C₄-alkyl, Hydroxycarbonyl- C₁-C₄-alkyl, Aminocarboxyl- C₁-C₄-alkyl, C₁-C₄-Alkylaminocarboxyl- C₁-C₄-alkyl Di-(C₁-C₄-Alkyl)-aminocarboxyl- C₁-C₄-alkyl, Halogen- C₁-C₄-alkinyl (, gegebenenfalls durch Halogen oder C₁-C₄-Alkyl substituierter Heteroarylrest (Pyrimidinyl, Pyridinyl, Imidazolyl), einen gegebenenfalls durch Halogen, Nitro, Amino, C₁-C₄-Alkylamino, Di- C₁-C₄-alkylamino, Cyano, C₁-C₄-Alkyl,

C₁-C₄-Alkoxy, C₁-C₄-Halogenalkoxy, C₁-C₄-Halogenalkyl, C₁-C₄-Alkylthio oder C₁-C₄-Halogenalkylthio-substituierten Phenylrest oder einen gegebenenfalls durch Halogen substituierten Benzylrest und

R2, R3, R4 und R5 unabhängig voneinander Wasserstoff, Halogen, Nitro, Cyano, Hydroxy, Amino, C₁-C₄-Alkylamino Di- C₁-C₄-alkylamino, C₁-C₆-Alkyl, C₁-C₅-Halogenalkyl, C₁-C₅-Alkoxy, C₁-C₅-Halogenalkoxy, C₁-C₅-Alkylthio, C₁-C₅-Halogenalkylthio, durch C₂-C₁₀-Alkoxyalkyl, Carboxyl, C₂-C₆-Alkoxy-carbonyl,

C₂-C₆-Alkanyloxy, C₂-C₆-Halogenalkanoyloxy, C₁-C₄-Alkylcarbonylamino, C₁-C₄-Alkylaminocarbonyl, Di-(C₁-C₄-Alkyl)-aminocarbonyl, oder einen gegebenenfalls durch Halogen, Trifluormethyl, Nitro, Cyano, Amino C₁-C₅-Halogenalkylthio, C₁-C₄-Alkoxy oder C₁-C₄-Alkylthio substituierten Phenyl- oder Heteroarylrest, bedeuten und außerdem

5 R3 und R4 gemeinsam mit den beiden Kohlenstoffatomen des Phenylringes, an die sie gebunden sind, einen heterocyclischen Ring oder einen gegebenenfalls durch Halogen, Nitro, Cyano, Amino, Hydroxy, Trifluormethyl, C₁-C₅-Alkyl, C₁-C₅-Alkoxy, C₁-C₅-Halogenalkylthio, C₁-C₅-Halogenalkoxy oder C₁-C₅-Alkylthio substituierten Benzol- oder Naphthalinring bilden, gute parasitäre Eigenschaften besitzen und gegenüber Säugerzellen
10 selektiv wirksam sind. In Formel Ia haben die Reste R1, R2, R3, R4 und R5 die folgenden Bedeutungen:

R1: Wasserstoff, C₁-C₁₀-Alkyl, vorzugsweise C₁-C₄-Alkyl, C₂-C₁₀-Alkenyl, vorzugsweise C₂-C₄-Alkenyl, C₂-C₁₀-Alkinyl, vorzugsweise C₂-C₄-Alkinyl, C₁-C₁₀-Hydroxyalkyl, vorzugsweise C₁-C₄-Hydroxyalkyl, C₂-C₁₄-Alkoxyalkyl vorzugsweise C₂-C₅-Alkoxyalkyl, C₂-C₄-Alkylthioalkyl,
15 vorzugsweise C₂-C₅-Alkylthioalkyl, C₃-C₇-Cycloalkyl, vorzugsweise C₃-C₆-Cycloalkyl, C₁-C₄-Alkylcarbonyloxy- C₁-C₄-alkyl, C₁-C₄-Alkylaminocarbonyloxy- C₁-C₄-alkyl, gegebenenfalls durch Halogen, C₁-C₄-Alkyl oder C₁-C₄-Alkoxy im Phenylrest substituiertes Phenylaminocarbonyloxy- C₁-C₄-alkyl, gegebenenfalls durch Halogen, C₁-C₄-Alkyl oder C₁-C₄-Alkoxy im Phenylrest substituiertes Phenylsulfonyloxy- C₁-C₄-Alkyl, C₁-C₄-Alkoxy- C₁-C₄-alkyl, Hydroxycarbonyl- C₁-C₄-alkyl, Aminocarbonyl- C₁-C₄-alkyl, C₁-C₄-Alkylamino-
20 carbonyl- C₁-C₄-alkyl(Di-(C₁-C₄-Alkyl)-aminocarbonyl- C₁-C₄-alkyl, Halogen- C₁-C₄-alkyl, gegebenenfalls durch Halogen oder C₁-C₄-Alkyl substituiertes Heteroarylrest (Pyrimidinyl, Pyridinyl, Imidazoliny), einen gegebenenfalls einfach oder mehrfach durch Halogen, Hydroxy, Nitro, Amino, C₁-C₄-Alkylamino, Di C₁-C₄-alkylamino Cyano C₁-C₄-Alkyl, C₁-C₄-
25 Halogenalkyl, C₁-C₄-Alkoxy, C₁-C₄-Halogenalkoxy, C₁-C₄-Alkylthio oder C₁-C₄-Halogenalkylthio substituierten Phenylrest, einen gegebenenfalls durch Halogen im Phenylteil einfach oder mehrfach substituierten Benzylrest, beispielsweise
Methyl, Ethyl, n-Propyl, Isopropyl, n-Butyl, Isobutyl, sec.-Butyl, tert-Butyl, n-Pentyl, tert.-Amyl, n-Hexyl, Pentyl-3, 1,2-Dimethyl-n-propyl 1,3-Dimethyl-n-butyl, 1-Ethyl-2-methyl-n-propyl,
30 1,2,2-Trimethyl-n-propyl, 1,2-Dimethyl-4-hexyl Allyl, Methallyl Crotyl, 2-Ethyl(-hex-2-enyl, Hex-5-enyl, 2-Methyl-but-2-enyl, 2-Methyl-but-3-enyl, But-1-en-3-yl, 2-Methyl-but-1-en-4-yl, 2-Methyl-but-2-en-4-yl, 3-Methyl-but-1-en-3-yl, Propargyl, But-1-in-3-yl, But-2-inyl, 2-Chlorethyl 2-Chlor-n-propyl, 3-Chlor-n-propyl, 2-Chlor-sec.-butyl, 2-Chlor-iso-butyl 2-Fluor-sec.-butyl, 2-Fluor-isobutyl 2-Fluor-isopropyl, Chlor-tert.-butyl, 2,2,2-Trifluorethyl,
35 65 Hydroxymethyl, 2-Hydroxyethyl, 3-Hydroxy-n-propyl, 2-Hydroxy-iso-propyl, 2-Hydroxy-n-butyl, 3-Hydroxy-n-butyl, 4-Hydroxy-n-butyl, 2-Hydroxy-iso-butyl, 2-Methoxyethyl, 2-Ethoxyethyl, 3-Methoxy-n-propyl, 2-Methoxy-iso-propyl, 3-Methoxy-n-butyl, 1-Methoxy-sec.-

butyl, Methoxy-tert.-butyl, Ethoxy-tert.-butyl, 2-Methoxy-n-butyl, 4-Methoxy-n-butyl, Cyclopropyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl, 2-Methylmercapto-ethyl, 2-Ethylmercapto-ethyl, 3-Methylmercapto-n-propyl, 3-Methylmercapto-n-butyl, 1-Methylmercapto-sec.-butyl, Methylmercapto-tert.-butyl, 2-Methylmercapto-n-butyl oder für einen gegebenenfalls durch

5 Halogen, Alkyl oder Alkoxy mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen substituierten Phenylrest oder für einen gegebenenfalls durch Halogen am Phenylring substituierten Benzylrest, wie Phenyl, 4-Chlorphenyl, 3,4-Dichlorphenyl, o-, m-, p-tert.-Butylphenyl, o-, m-, p-Methoxyphenyl, o-, m-, p-Methylphenyl, 4-Methoxy-3-chlorphenyl, 2-Methyl-4-chlorphenyl, Benzyl, 2,6-Dichlorbenzyl, 2-Chlor-6-fluorbenzyl, 2,6-Difluor-benzyl, o-, m-, p-Chlorbenzyl.

10 R2, R3, R4, R5: Wasserstoff, Halogen, wie Fluor, Chlor, Brom, Jod, Nitro, Cyano, Hydroxy, Amino, C₁-C₄-Alkylamino oder Di- C₁-C₄-alkylamino, C₁-C₆-Alkyl, vorzugsweise C₁-C₄-Alkyl, C₁-C₅-Halogenalkyl, vorzugsweise C₁-C₃-Halogenalkyl, C₁-C₅-Alkoxy, vorzugsweise C₁-C₃-Alkoxy, C₁-C₅-Halogenalkoxy, vorzugsweise C₁-C₃-Halogenalkoxy, C₁-C₅-Alkylthio, vorzugsweise C₁-C₃-Alkylthio, C₁-C₅-Halogenalkylthio, vorzugsweise C₁-C₃-Halogenalkylthio,

15 C₂-C₁₀-Alkoxyalkyl, vorzugsweise C₂-C₈-Alkoxyalkyl, Carbonyl, C₂-C₆-Alkoxy-carbonyl, vorzugsweise C₂-C₄-Alkoxy-carbonyl, C₂-C₅-Alkanoyloxy, vorzugsweise C₂-C₄-Alkanoyloxy, C₃-C₆-Halogenalkanoyloxy, vorzugsweise C₃-C₄-Halogenalkanoyloxy, C₁-C₄-Alkylcarbonylamino, C₁-C₄-Alkylaminocarbonyl, Di-(C₁-C₄-Alkyl)-aminocarbonyl, einen gegebenenfalls durch Halogen, vorzugsweise Chlor oder Fluor, Trifluormethyl, Nitro, Cyano,

20 Amino, C₁-C₄-Alkoxy oder C₁-C₄-Alkylthio substituierten Phenyl- oder Heteroarylrest, vorzugsweise Pyridyl, Pyrimidyl, Thienyl, Furyl oder Benzimidazolyl, z. B. Methylamino, Dimethylamino, Ethylamino, Diethylamino, Isopropylamino, Diisopropylamino, Methylethylamino, n-, iso-, tert.-Butylamino, Methyl, Ethyl, n-Propyl, Isopropyl, n-Butyl, Isobutyl, sec.-Butyl, tert.-Butyl, n-Pentyl, tert: Amyl, n-Hexyl, Pentyl-3, 1,2-Dimethyl-n-propyl,

25 1,3-Dimethyl-n-butyl, 1-Ethyl-2-methyl-n-propyl, 1,2,2-Trimethyl-n-propyl, 1,2-Dimethyl-n-hexyl, Allyl, Methallyl, Crotyl, 2-Ethyl-hex-2-enyl, Hex-5-enyl, 2-Methyl-but-2-enyl, 2-Methyl-but-3-enyl, But-1-en-3-yl, 2-Methyl-but-1-en-4-yl, 2-Methyl-but-2-en-4-yl, 3-Methyl-but-1-en-3-yl, Propargyl, But-1-in-3-yl, But-2-inyl, Fluormethyl, Chlormethyl, Trifluormethyl, Difluormethyl, Trichlormethyl, Dichlormethyl, 2-Chlorethyl 2-Chlor-n-propyl 3-Chlor-n-propyl,

30 2-Chlor-isopropyl, Pentafluorethyl, 2,2,2-Trifluorethyl, 2-Fluor-isopropyl, 3-Fluor-n-propyl, 2-Fluorethyl, Methoxy, Ethoxy, n-, iso-Propoxy, n-, iso-, tert.-Butoxy, Pentoxy, Difluormethoxy, Trifluormethoxy, Trichlormethoxy, Methylthio, Ethylthio, n-, iso-Propyl-thio, n-, iso-, tert.-Butylthio, Difluormethylthio, Trifluormethylthio, Methoxymethyl, Ethoxymethyl, 2-Methoxy-ethyl, 3-Methoxy-n-propyl, 2-Methoxy-isopropyl, 2-Ethoxyethyl, 3-Ethoxy-n-propyl, 2-Ethoxy-

35 isopropyl, Methoxycarbonyl, Ethoxycarbonyl, n-, iso-Propoxycarbonyl, n-, iso-, tert: Butoxycarbonyl, 2-Methoxy-ethoxycarbonyl, 30 Ethoxy-methoxycarbonyl, 2-Ethoxy-ethoxycarbonyl, Phenyl, o-, m-, p-

- Fluorphenyl, o-, m-, p-Chlorphenyl, 2,4-Difluorphenyl, 2,4-p-Trifluormethylphenyl, 2-, 3- und 4-Nitrophenyl, 2-, 3- und 4-Cyanophenyl, 2-, 3- und 4-Aminophenyl, 2-, 3- und 4-Methoxyphenyl, 2-, 4-Dimethoxyphenyl, 2,4,5-Trimethoxyphenyl, 2-, 3- und 4-Thiomethylphenyl, Heteroaryl wie Pyrid-2-yl, Pyrid-3-yl, Pyrid-4-yl, Thien-2-yl, Thien-3-yl, 5 Fur-2-yl, Fur-3-yl, Benzimidazol-2-yl, 3-Chlor-pyrid-6-yl, 2-Methyl-fur-5-yl, 2-Methyl-thien-5-yl und 4,6-Dimethyl-pyrimid-2-yl, Acetyl, Propionyl, Butyryl, Isobutyryl, Valeryl, Isovaleryl, Pivalyl, Chloracetyl, Dichloracetyl, Trichloracetyl, Fluoracetyl, Difluoracetyl, Trifluoracetyl, 3,3,3-Trifluorpropionyl, Pentafluorpropionyl, 2-Chlorpropionyl, 2,2-Dichlor-propionyl, 2-Fluorpropionyl, 2,2-Difluorpropionyl.
- 10 R3 und R4 können außerdem gemeinsam mit den beiden Kohlenstoffatomen des Phenylrings, an die sie gebunden sind, einen gegebenenfalls durch Fluor, Chlor, Brom, Nitro, Cyano, Amino, Hydroxy, Trifluormethyl, C₁-C₅-Alkyl, vorzugsweise C₁-C₃-Alkyl, C₁-C₅-Alkoxy, C₁-C₅-Halogenalkylthio, C₁-C₅-Halogenalkoxy oder C₁-C₅-Alkylthio, vorzugsweise C₂-C₃-Alkylthio, substituierten Benzol- oder Naphthalinring bilden.
- 15 Heterocyclische Ringe, bei denen die R3 und R4 gemeinsam mit den beiden C-Atomen des Phenylringes, gebunden sind, wie 1,4-Dioxan, 1,3-Dioxolan, Pyrazol, Indol, Thiophen, Triazol und Piperazin. Substituierte Ringe des 2,2-Dimethyl-1,3-dioxalan, 1-Methylpyrazol, 1-Methylindol, als N,N'-Dimethylpiperazin 2,2-Diphenyl-1,3-dioxolan, 2-Oxo-1,3-dioxolan Typ.
- 20 b) Dimere und Trimere der Monomeren der Grundstruktur wie in der Grundstruktur wiedergegeben sind, wobei R1, R2, R3, R4, R5 die oben angegebenen Bedeutungen haben.
- c) In der Seitenketten entweder direkt oder über NH, NHR, O, S, SO oder SO₂ angefügt sind.
- 25 d) In der Derivate als Alkali- oder Erdalkali-Salze vorliegen
3. Arzneimittel nach Ansprüchen 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß sie alleine appliziert werden, oder in die üblichen Formulierungen übergeführt werden wie Lösungen, Suspensionen, Emulsionen, Cremes und Salben, Pasten, Pulver, Granulate, Tabletten, 30 Kapseln und Suspensionen. Die Formulierungen werden in bekannter Weise hergestellt, z.B. durch Verstrecken des Wirkstoffes mit Lösungsmitteln, Trägerstoffen und/oder Tierfutter, gewünschtenfalls unter Verwendung von Emulgiermitteln und Dispergiermitteln, wobei im Falle von Wasser als Verdünnungsmittel auch andere organische Lösungsmittel verwendet werden können. Als Hilfsstoffe kommen in Betracht: 35 Lösungsmittel wie Aromaten, chlorierte Aromaten, Paraffine, Alkohole, , Ketone, Amine (z.B. Ethanolamin, Dimethylformamid, Dimethylsulfoxid, Wasser; Trägerstoffe wie natürliche Gesteinsmehle (z.B. Kaolin, Tonerden, Talkum, Kreide) oder synthetische

Gesteinsmehle (z. B. Hochdisperse Kieselsäure, Silikate), Emulgiermittel wie nichtionogene und ionogene Emulgatoren (z.B. Polyoxyethylen-Fettalkohol-Ether, Alkylsulfonate, Arylsulfonate), Dispergiermittel wie Lignin, Sulfitablaugen, Methylcellulose und Tabletten- Kapselgrundstoffe wie Ethylcellulose, Stärke, Lactose, Erdalkali-Fettsäuren (z.B. Magnesiumstearat). Die Antiparasitika enthalten im Allgemeinen zwischen 0,1 und 99, vorzugsweise zwischen 50 und 99 Gew% Wirkstoff. Die Tagesdosis kann betragen zwischen 0,5 und 1500 mg, abhängig vom Krankheitsbild und der physischen Statur des Patienten.

5
10 4. Arzneimittel nach Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß eine Verarbeitung des Wirkstoffes zu partikulären Arzneiformen erfolgt, die die systemische und lokale Applikation der Wirkstoffe optimiert. Unter partikuläre Arzneiformen und Arzneimittel werden Nanosuspensionen, Liposomen mit einem mittleren Durchmesser von 0,1 bis 3 µm gefaßt, unabhängig von der Art und dem Weg der Herstellung.

15
5. Arzneimittel nach Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß eine therapeutische Behandlung oder prophylaktische Gabe bei parasitären Infektionen erfolgen, die allgemein als opportuniste Erreger bekannt sind und eine Sekundärinfektionen erzeugen. Beispiele für Erreger sind Trypanosoma spp., Leishmania spp., Plasmodium spp.,
20 Cryptosporidium parvum, Eimeria spp., Toxoplasma gondii, Pneumocystis carinii bei HIV- und oder Tuberkulose-Patienten.

6. Wirkstoffe und ihre Formulierungen nach Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß sie zur Infektionsprophylaxe von Blut und Blutprodukten eingesetzt werden.

25