CH 631 958 A5

(19) SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

(51) Int. Cl.³: C 07 C 49/825
C 07 C 49/84
C 07 C 149/32
C 07 C 69/017

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

ETH-BIBLIOTHEK ZÜRICH

(12) PATENTSCHRIFT A5

(11) 631 958

(21) Gesuchsnummer: 3411/81

(62) Teilgesuch von: 4513/77

(22) Anmeldungsdatum: 12.04.1977

(30) Priorität(en): 14.04.1976 DE 2616479

(24) Patent erteilt: 15.09.1982

(45) Patentschrift veröffentlicht: 15.09.1982

(73) Inhaber:
Dr. Karl Thomae Gesellschaft mit beschränkter Haftung, Biberach/Riss (DE)

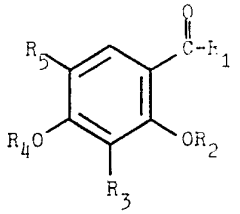
(72) Erfinder:
Dr. Rolf Brickl, Biberach 1 (DE)
Dr. Hans Eberhardt, Biberach 1 (DE)
Dr. Karl-Richard Appel, Biberach 1 (DE)
Dr. Uwe Lechner, Ummendorf (DE)
Dr. Walter Merk, Biberach 1 (DE)

(74) Vertreter:
Brühwiler & Co., Zürich

(54) Verfahren zur Herstellung neuer substituierter Fluoracylresorcine.

(57) Neue substituierte Fluoracylresorcine der Formel I werden durch Umsetzung von in 3- und/oder 5-Stellung unsubstituierter Perfluoracylresorcine mit ungesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffen und sekundären Alkoholen mit 3 bis 18 Kohlenstoffatomen hergestellt. Die Umsetzung erfolgt in Gegenwart von Säuren bzw. Lewis-Säuren bei Temperaturen zwischen 30 und 150°C. Die Symbole in Formel I haben die im Patentanspruch 1 angegebene Bedeutung.

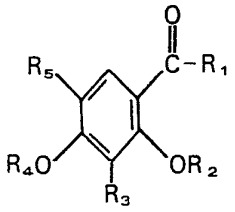
Die Verbindungen der Formel I haben wertvolle pharmakologische und/oder pestizide Eigenschaften. Sie sind insbesondere wirksam gegen Bakterien, Dermatophyten, Hefen, Schimmelpilze und phytopathogene Pilze, sie wirken hemmend auf verschiedene Schlüsselenzyme des Kohlenhydratstoffwechsels und auf Zellkulturen.



(I),

PATENTANSPRÜCHE

1. Verfahren zur Herstellung neuer substituierter Fluoracylresorcine der Formel I:



(I)

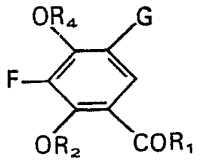
worin:

R_1 eine perfluorierte Alkylgruppe mit 1 bis 8 Kohlenstoffatomen oder die 2,2,3,3-Tetrafluorcyclobutylgruppe;

R_2 und R_4, die gleich oder voneinander verschieden sein können, ein Wasserstoffatom, eine geradkettige oder verzweigte Alkylgruppe mit 1 bis 10 Kohlenstoffatomen, eine aliphatische Acylgruppe mit 2 bis 18 Kohlenstoffatomen, die Benzoyl-, Salicyloyl- oder Phenylacetylgruppe;

R_3 und R_5, die gleich oder voneinander verschieden sein können, Alkylgruppen mit 3 bis 18 Kohlenstoffatomen, Halogenatome, die Nitrogruppe oder die p-Toluolsulfonylgruppe, die Cyclopentyl-, Cyclohexyl-, Cycloheptyl-, Cyclododecyl-, Methylcyclohexyl-, Dimethylcyclohexyl-, Benzyl- oder Methylthiogruppe;

oder eine Gruppe der Formel:



in der:

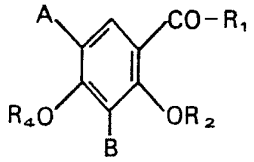
entweder F die Gruppe $-CH_2-$ oder $-S-$ bedeutet, sofern G die Gruppe R_5 darstellt oder F die Gruppe R_3 ist, sofern G die Gruppe $-CH_2-$ oder $-S-$ darstellt und R_1, R_2 und R_4 wie oben definiert sind;

R_3 ausserdem die Hydroxy-, Metoxy-, Methyl- oder Cyangruppe;

R_5 auch eine Methylgruppe bedeuten,

wobei jedoch mindestens einer der Reste R_3 und R_5 eine Alkylgruppe mit 3 bis 18 Kohlenstoffatomen bedeuten muss, es kann aber auch einer der beiden Reste R_3 und R_5 ein Wasserstoffatom oder die Äthylgruppe bedeuten, sofern dann der andere dieser Reste R_3 und R_5 eine Alkylgruppe mit 3 bis 18 Kohlenstoffatomen darstellt,

dadurch gekennzeichnet, dass man Perfluoracylresorcine der Formel II:



(II)

in der R_1, R_2 und R_4 wie oben definiert sind und A und/oder B ein Wasserstoffatom bedeutet, wobei der andere dieser Reste gegebenenfalls bereits die Bedeutungen von R_3 bzw. R_5 besitzen kann, mit ungesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffen und sekundären Alkoholen mit 3 bis 18 Kohlenstoffatomen in Gegenwart von Säuren bzw. Lewissäuren bei Temperaturen zwischen 30 und 150°C umsetzt.

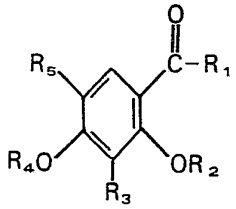
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man Fluoracylresorcine der Formel I, in der R_2 und/oder R_4 Wasserstoff bedeuten, entsprechend veräthert.

3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man Fluoracylresorcine der Formel I, in der R_2 und/oder R_4 Wasserstoff bedeuten, entsprechend verestert.

4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man die Umsetzung in Anwesenheit von Säuren, wie Phosphorsäure, Polyphosphorsäure, Schwefelsäure, Eisessig, Phosphoroxychlorid, bzw. von Lewissäuren wie Eisen(III)chlorid, Zinn(IV)chlorid, Phosphorpentoxid, Zinkchlorid oder Phosphorpentachlorid durchführt.

5. Verfahren nach den Ansprüchen 1 und 4, dadurch gekennzeichnet, dass man die Umsetzung in einem Lösungsmittel, wie Äther, Chlorbenzol, Nitrobenzol, Phosphoroxychlorid, durchführt.

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung neuer substituierter Fluoracylresorcine der Formel I:



(I)

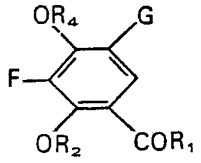
in der obigen Formel I bedeuten:

R_1 eine perfluorierte Alkylgruppe mit 1 bis 8 Kohlenstoffatomen oder die 2,2,3,3-Tetrafluorcyclobutylgruppe;

R_2 und R_4, die gleich oder voneinander verschieden sein können, ein Wasserstoffatom, eine geradkettige oder verzweigte Alkylgruppe mit 1 bis 10 Kohlenstoffatomen, eine aliphatische Acylgruppe mit 2 bis 18 Kohlenstoffatomen, die Benzoyl-, Salicyloyl- oder Phenylacetylgruppe;

R_3 und R_5, die gleich oder voneinander verschieden sein können, Alkylgruppen mit 3 bis 18 Kohlenstoffatomen, Halogenatome, die Nitrogruppe oder die p-Toluolsulfonylgruppe, die Cyclopentyl-, Cyclohexyl-, Cycloheptyl-, Cyclododecyl-, Methylcyclohexyl-, Dimethylcyclohexyl-, Benzyl- oder Methylthiogruppe;

oder eine Gruppe der Formel:



in der:

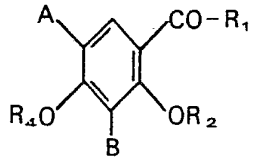
entweder F die Gruppe $-CH_2-$ oder $-S-$ bedeutet, sofern G die Gruppe R_5 darstellt oder F die Gruppe R_3 ist, sofern G die Gruppe $-CH_2-$ oder $-S-$ darstellt und R_1, R_2 und R_4 wie oben definiert sind;

R_3 ausserdem die Hydroxy-, Methoxy-, Methyl- oder Cyangruppe;

R_5 auch eine Methylgruppe,

wobei jedoch mindestens einer der Reste R_3 und R_5 eine Alkylgruppe mit 3 bis 18 Kohlenstoffatomen bedeuten muss, es kann aber auch einer der beiden Reste R_3 und R_5 ein Wasserstoffatom oder die Äthylgruppe bedeuten, sofern dann der andere dieser Reste R_3 und R_5 eine Alkylgruppe mit 3 bis 18 Kohlenstoffatomen darstellt.

Die substituierten Fluoracylresorcine der Formel I werden durch Umsetzung von Perfluoracylresorcinen der Formel II:

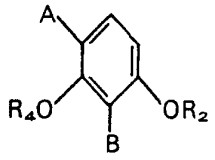


(II)

in der R_1, R_2 und R_4 wie oben definiert sind und A und/oder B ein Wasserstoffatom bedeutet, wobei der andere dieser Reste gegebenenfalls bereits die Bedeutungen von R_3 bzw. R_5 besitzen kann, mit ungesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffen und sekundären Alkoholen mit 3 bis 18 Kohlenstoffatomen hergestellt. Diese Alkylierungsreaktion wird entweder in Säuren, wie Phosphorsäure, Polyphosphorsäure, Schwefelsäure, Eisessig, Phosphoroxychlorid oder in Anwesenheit von Lewissäuren, wie wasserfreies Aluminiumchlorid, Eisen(III)chlorid, Zinn(IV)chlorid, Phosphorpentoxid, Zinkchlorid, Phosphorpentachlorid, gegebenenfalls in einem Lösungsmittel, wie Äther, Chlorbenzol, Nitrobenzol, Phosphoroxychlorid, bei Temperaturen zwischen 30 und 150°C durchgeführt.

Die nach dem vorstehend genannten Verfahren gewonnenen Verbindungen der Formel I, in der R_2 und/oder R_4 Wasserstoffatome sind, lassen sich gewünschtenfalls anschliessend durch Veräthern, z.B. mit Alkylhalogeniden, oder durch Verestern, z.B. mit Säurehalogeniden oder Säureanhydriden, in Verbindungen der Formel I überführen, in der R_2 und/oder R_4 die übrigen oben angegebenen Bedeutungen besitzen.

Die Ausgangsverbindungen der Formel II sind meistens literaturbekannt oder lassen sich in Anlehnung an literaturbekannte Verfahren herstellen, beispielsweise durch Acylierung in Gegenwart eines Friedel-Crafts-Katalysators, von Verbindungen der Formel III:



(III)

z.B. mittels Säurehalogeniden der Formel:

$$R_1-CO-Hal$$

Es wurde überraschenderweise gefunden, dass die Verbindungen der Formel I wertvolle pharmakologische und/oder pestizide Eigenschaften besitzen: sie sind insbesondere wirksam gegen Bakterien, Dermatophyten, Hefen, Schimmelpilze und phytopathogene Pilze; sie wirken hemmend auf verschiedene Schlüsselenzyme des Kohlenhydratstoffwechsels und auf Zellkulturen, verlangsamen damit beschleunigte Zellteilungsvorgänge in und auf der Haut. Sie eignen sich deshalb zur Behandlung von Akne, Kopfschuppen, bakteriellen Hautinfektionen, Mykosen, Psoriasis, Ichthyosis, hyperkeratotischen Hautzuständen zur Bekämpfung boden- und samenbürtiger Pilze im Pflanzenanbau sowie als Herbizide, z.B. selektiv gegen Flughafer. Verschiedene Verbindungen der Formel I sind auch anthelmintisch wirksam.

So wurden zum Beispiel die folgenden bekannten Substanzen:

2,4-Dihydroxytrifluoracetophenon = A,
5-Äthyl-2,4-dihydroxytrifluoracetophenon = B,
3-Äthyl-2,4-dihydroxytrifluoracetophenon = C,
2,4-Dimethoxytrifluoracetophenon = D,

gegenüber den neuen Substanzen:

2,4-Dihydroxy-5-n-hexyltrifluoracetophenon = E,
2,4-Dihydroxy-3-isobutyltrifluoracetophenon = F,
2,4-Dihydroxy-5-isopentyltrifluoracetophenon = G,
2,4-Dihydroxy-5-n-nonyltrifluoracetophenon = H,
2,4-Dihydroxy-3-isohexyltrifluoracetophenon = I,
2,4-Dihydroxy-3-isodecyltrifluoracetophenon = J,
2,4-Dihydroxy-3-isopropyltrifluoracetophenon = K,
Methylen-bis-(2,6-dihydroxy-3-isopropyl-5-trifluoracetyl)benzol = L,
Methylen-bis-(2,6-dihydroxy-3-äthyl-5-trifluoracetyl)benzol = M,
Methylen-bis-(2,4-dihydroxy-3-methyl-5-trifluoracetyl)benzol = N,
2,4-Dihydroxy-3-methyltrifluoracetophenon = O,
2,4-Dihydroxy-3-methylpentafluorpropiophenon = P,
2,4-Dihydroxy-3-n-decyltrifluoracetophenon = Q,
2,4-Dihydroxy-3-n-pentyltrifluoracetophenon = R,
2,4-Dihydroxy-3-n-propyltrifluoracetophenon = S,
Methylen-bis-(2,4-dihydroxy-3-isopropyl-5-trifluoracetyl)benzol = T,

auf ihre Hemmwirkungen gegen Bakterien und Pilze, auf ihre Hemmwirkungen auf Zellkulturen und ihre Hemmwirkungen auf die Enzymaktivitäten vergleichend getestet.

Die Hemmwirkung auf Bakterien und Pilze wurde nach dem Reihenverdünnungstest und dem Agardiffusionstest (Lochtest) geprüft. Als Bakterien wurden eingesetzt: Staphylococcus aureus SG 511, Streptococcus Aronson, Streptococcus pyogenes AT CC 86 68; als Pilze: Candida albicans AT CC 10231, Trichophyton mentagrophytes AT CC 9129 und Aspergillus niger.

Reihenverdünnungstest:

Nährmedien

1. *Fleischextraktbouillon:* für St. aureus SG 511
Rezept:

Pepton	10 g
Fleischextrakt Oxoid	8 g
Kochsalz	3 g
Sek. Na-Phosphat (Na_2HPO_4)	2 g
ad 1000 ml Aqua dest.	(pH 7,2-7,4)

Sterilisation: 15 min bei 120°C im Autoklaven.

2. *Glucosebouillon:* für Sc. Aronson und Sc. pyogenes
Rezept wie bei Fleischextraktbouillon. Nach dem Sterilisieren 1% der Glucose als sterile 50%ige Lösung zusetzen.

3. *Sabouraudbouillon:* für C. alb., Trich. ment., A. niger
Rezept:

Pepton aus Casein	10 g
Glucose	40 g
Kochsalz	1 g
Sek. Na-Phosphat (Na_2HPO_4)	1 g
ad 1000 ml Aqua dest.	

Sterilisation: 5 bis 10 min bei 120°C, ein pH wird nicht eingestellt.

Einstellung der Keimdichte

Das Alter der Primärkulturen beträgt bei Bakterien 24 h und bei Pilzen 14 d. Die Einstellung der Keimsuspension erfolgt am Photometer „Eppendorf" (Reagenzglas ⌀14 mm, Filter 546 nm) nach Bariumsulfatvergleichssuspension (= Trübung einer Bariumsulfataufschwemmung von 3,0 ml (1%iger Bariumchloridlösung und 97 ml 1%iger Schwefelsäure). Nach der Einstellung werden die Bakterien 1:1000 mit Kochsalzlösung weiter verdünnt, die Pilze werden unverdünnt eingesetzt.

Vorbereitung der Substanzkonzentration

40 mg der Substanz werden in 10 ml-Messkolben eingewogen und mit dem Lösungsmittel bis zur Marke aufgefüllt (entspricht einer Verdünnung von 1:250 = 4000 µg/ml). Die weitere Verdünnungsreihe wird mit dest. Wasser oder dem jeweiligen Lösungsmittel eingestellt und folgende Substanzkonzentrationen hergestellt: 1000; 250; 62,5 µg/ml.

Durchführung des Testes

Die Röhrchen werden mit 4,9 ml des entsprechenden flüssigen Nährmediums beschickt. Jedem Röhrchen werden nun 0,1 ml der oben hergestellten Substanzverdünnung zugegeben, so dass die erwähnten Endkonzentrationen vorliegen. Schliesslich wird jedes Röhrchen mit 0,1 ml der eingestellten Keimsuspension beimpft. Eine Lösungsmittelkontrolle ist immer mitzuführen.

Bebrütung

Bakterien werden 18 bis 20 h bei 37°C und Pilze 7 d bei 27°C bebrütet.

Auswertung

Die Ablesung erfolgt makroskopisch unter Angabe der Grenzkonzentration (= niedrigste noch mikrobiostatisch wirksame Konzentration).

Agardiffusionstest:

Nährmedien

1. *Fleischextraktagar:* für St. aureus SG 511

Rezept:

Pepton	10 g
Fleischextrakt Oxoid	8 g
Kochsalz	3 g
Sek. Na-Phosphat (Na_2HPO_4)	2 g
Pronagar	15 g
ad 1000 ml Aqua dest.	(pH 7.2-7.4)

Sterilisation: 15 min bei 120°C im Autoklaven.

2. *Glucoseagar:* für Sc. Aronson und Sc. pyogenes

Rezept wie bei Fleischextraktagar. Nach dem Sterilisieren 1% Glucoseagar als sterile 50%ige Lösung zusetzen.

3. *Sabouraudagar:* für C. albicans, Trich. ment., A. niger

Rezept:

Pepton aus Casein	10 g
Glucose	40 g
Kochsalz	1 g
Sek. Na-Phosphat (Na_2HPO_4)	1 g
Pronagar	15 g
ad 1000 ml Aqua dest.	

Sterilisation: 5 bis 10 min bei 120°C. Ein pH wird nicht eingestellt.

Einstellung der Keimdichte

Das Alter der Primärkulturen beträgt bei Bakterien 24 h und bei Pilzen 14 d.

Die Einstellung der Keimsuspension erfolgt am Photometer „Eppendorf" (Reagenzglas ⌀14 mm, Filter 546 nm) nach Bariumsulfatvergleichssuspension (= Trübung einer Bariumsulfatauf-schwemmung von 3,0 ml 1%iger Bariumchloridlösung und 97 ml 1%iger Schwefelsäure). Nach der Einstellung werden St. aureus SG 511, 1:1000 und Sc. pyogenes und Aronson 1:100 mit Kochsalzlösung weiter verdünnt. Die Pilze werden unverdünnt eingesetzt.

Vorbereitung der Substanzkonzentrationen

40 mg der Substanz werden in 10 ml Messkolben eingewogen und mit dem Lösungsmittel bis zur Marke aufgefüllt (entspricht einer Verdünnung von 1:250 = 4000 µg/ml).

Die Verdünnungen auf die zu prüfenden Konzentrationen erfolgen mit dest. Wasser oder dem jeweiligen Lösungsmittel.

Durchführung des Testes

In sterile Petrischalen von 8 cm Durchmesser werden 19 ml Nährmedium ausgegossen und vorgetrocknet. Anschliessend werden die Agarplatten mit 4 ml Saatagar beschickt. 100 ml Saatagar enthalten 1,25 ml Keimsuspension, eine Agarplatte enthält somit 0,05 ml Keimsuspension. Nach Erstarren des Agars werden 5 Löcher von 5 mm Durchmesser in die Platten gestanzt und mit 0,05 ml der entsprechend konzentrierten Substanzlösung gefüllt. Eine Lösungsmittelkontrolle ist immer mitzuführen.

Bebrütung

Bakterien werden 18 bis 20 h bei 37°C und Pilze 7 d bei 27°C bebrütet.

Auswertung

Gemessen wird der Durchmesser des Hemmhofes in millimeter (abzüglich des Lochdurchmessers). Wenn statt einer wachstumsfreien Zone nur deutlich vermindertes Wachstum zu verzeichnen ist, werden diese Werte in Klammern gesetzt.

Reihenverdünnungstest bei Corynebacterium acnes und Pityrosporum ovale

Nährmedium:

Bei Corynebacterium acnes: Thioglykolatbouillon, bei Pityrosporum ovale: Littmanns Bouillon, jeweils 5 ml pro Röhrchen.

Keimdichte:

Keimsuspension in 0,9%iger Kochsalzlösung, eingestellt am Photometer „Eppendorf" anhand einer Bariumsulfatvergleichssuspension bei Corynebacterium acnes in einer Verdünnung von 1:100, bei Pityrosporum ovale unverdünnt. Von den Suspensionen wurden jeweils 0,1 ml pro Probierröhrchen verwendet. Für die Substanzen diente Dimethylsulfoxid als Lösungsmittel.

Die Suspension mit Corynebacterium acnes wurde 48 h bei 37°C, die Suspension von Pityrosporum ovale 7 d bei 27°C bebrütet. Die Ablesung erfolgte durch makroskopische Beurteilung des Keimwachstums und Registrierung der Grenzkonzentrationen.

Agardiffusionstest bei Pityrosporum ovale CBS 1878

Nährboden:

Littmanns Agar, 23 ml pro Petrischale, Schalendurchmesser 100 mm.

Keimdichte:

Keimsuspension in 0,9%iger Kochsalzlösung, eingestellt im Photometer „Eppendorf" anhand einer Bariumsulfatvergleichssuspension, hiervon wurden jeweils 0,05 ml pro Platte verwendet. Die Testsubstanzen waren in Dimethylsulfoxid gelöst. Die Bebrütungszeit betrug 7 d bei 27°C; gemessen wurde der Hemmhofdurchmesser in millimeter, es wurden 0,05 ml Substanzlösung pro Stanzloch von 6 mm Durchmesser verwendet.

Die bei diesen Vergleichsversuchen gefundenen Werte sind in den nachfolgenden Tabellen 1 und 2 enthalten:

Tabelle 1

Wirkung auf grampositive Bakterien und Corynebacterium acnes:
MHK Werte in µg/ml

Substanz	Staphylococcus aureus SG 511		Streptococcus Aronson		Streptococcus pyogenes		Corynebacterium acnes
	L.T.	R.V.T.	L.T.	R.V.T.	L.T.	R.V.T.	R.V.T.
A	1000	80	1000	80	ng	ng	80
B	250	20	250	20	250	20	20
C	62,5	5	62,5	5	62,5	1,25	1,25
D	>4000	>80	>4000	>80	>4000	>80	>80

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Substanz	Staphylococcus aureus SG 511		Streptococcus Aronson		Streptococcus pyogenes		Corynebacterium acnes
	L.T.	R.V.T.	L.T.	R.V.T.	L.T.	R.V.T.	R.V.T.
E	⩽15,6	1,25	⩽15,6	0,31	⩽15,6	0,31	0,08
F	62,5	0,08	⩽15,6	1,25	⩽15,6	1,25	0,31
G	⩽15,6	0,31	⩽15,6	1,25	⩽15,6	0,31	1,25
H	⩽15,6	5(1,25)	⩽15,6	5	⩽15,6	1,25(0,08)	0,02
I	⩽15,6	1,25	⩽15,6	1,25	⩽15,6	0,31	0,08
J	250	1,25	⩽15,6	20(1,25)	⩽15,6	1,25	0,31
K	62,5	1,25	⩽15,6	1,25	62,5	1,25	5(1,25)
L	⩽15,6	0,08	⩽15,6	1,25	⩽15,6	0,001	0,02
M	⩽15,6	0,08	⩽15,6	0,31	⩽15,6	0,005	0,005
N	⩽15,6	1,25	⩽15,6	1,25	⩽15,6	1,25	0,31

Werte in Klammern bedeuten, bei dieser Konzentration liegt Wachstumsminderung vor; ng = nicht geprüft; MHK = minimale Hemmkonzentration; LT = Lochtest; RVT = Reihenverdünnungstest.

Tabelle 2

Wirkung auf Hefen, Dermatophyten, Schimmelpilze und Pityrosporum ovale:

MHK Werte in µg/ml

Substanz	Candida albicans		Trichophyton mentagrophytes		Aspergillus niger		Pityrosporum ovale	
	L.T.	R.V.T.	L.T.	R.V.T.	L.T.	R.V.T.	L.T.	R.V.T.
A	1000	80	250	20	250	20	1000	80
B	1000	20	250	5	250	20	1000	80
C	1000	20	62,5	1,25	1000	5	1000	>80
D	>4000	>80	>4000	>80	>4000	>80	>4000	>80
P	4000	80	250	20	>4000	>80	4000	20
F	250	20	⩽15,6	1,25	250	20	250	80
Q	1000	(20)	⩽15,6	1,25	250	5	250	80

Messung der Hemmung der Glucose-6-phosphatdehydrogenase

Beobachtet wird das Gleichgewicht:

Glucose-6-phosphat + NADP$^+$ $\xrightarrow{\text{G6P-DH}}$ Gluconsäure-6-phosphat + NADPH + H$^+$

(NADP = Nikotinamidadenindinukleotidphosphat, G6P–DH = Gluconsäure-6-phosphatdehydrogenase).

Die Bildungsgeschwindigkeit von NADPH ist ein Mass für die Enzymaktivität; sie kann anhand der Extinktionszunahme bei 340, 334 oder 366 nm pro Zeiteinheit verfolgt werden.

Methodik:

0,025 ml Glucose-6-phosphatdehydrogenase (Fa. Boehringer Mannheim) werden mit destilliertem Wasser auf 10 ml aufgefüllt (Lösung I). 100 mg Nikotinamidadenindinukleotidphosphat werden in 13 ml dest. Wasser gelöst (Lösung II). 47,2 mg Glucose-6-phosphat löst man in weiteren 10 ml dest. Wasser (Lösung III). Nebenher wird eine Pufferlösung (Lösung IV) wie folgt bereitet:

0,28 g Triäthanolaminhydrochlorid und 1,461 g Äthylendiamintetraessigsäuredinatriumsalz werden in 1 l dest. Wasser gelöst und mit Natronlauge auf pH 7,6 eingestellt. Die zu untersuchende Substanz wird in Dimethylformamid oder Äthanol gelöst (Lösung V). Geprüfte Konzentrationen: 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,56 und 0,78 µg/ml.

Bestimmung der Soforthemmung:

0,1 ml Lösung I, 0,1 ml Lösung II, 2,67 ml Lösung IV und 0,03 ml Lösung V werden vermischt und 5 min auf 25°C gehalten. Dann wird 0,1 ml Lösung III zugegeben, durchmischt und die Extinktionsänderung bei 366 m über 3 min spektralphotometrisch bestimmt.

Bestimmung der Inkubationshemmung:

0,1 ml Lösung I, 0,1 ml Lösung II, 2,67 ml Lösung IV und 0,03 ml Lösung V werden vermischt und 60 min bei 37°C gehalten. Dann wird 0,1 ml Lösung III zugegeben, durchmischt und die Extinktionsänderung bei 366 m über 3 min spektralphotometrisch gemessen.

Die Hemmwerte werden aus den Mittelwerten dreier Messungen (als Extinktionsänderung pro Minute) im Vergleich zu Kontrollen, bei denen als Inhibitorlösung das reine Lösungsmittel zugesetzt wird, berechnet. Dann wird aus den Hemmwerten für die unterschiedli-

chen Konzentrationen die ED_{50} nach der Methode von Reed und Muench berechnet.

Die nachfolgende Tabelle enthält die so bestimmten Werte:

Tabelle 3

G6PDH-Hemmung

Substanz	ED_{50} [µg/ml]	
	Soforthemmung	Inkubationshemmung
A	>50	33
B	34,5	30
C	37,5	20
D	>50	>50
E	24,1	22,3
F	37,7	27,7
H	8,5	3,62
J	2,8	2,9
K	14,8	9,9
T	0,58	0,13

Messung der Hemmung von Zellkulturen:

Methodik:

HeLa-Zellkultur wird abtrypsiniert und in frischem Medium auf eine Zellzahl von 150 000 Zellen/ml eingestellt. Die Substanz wird stets in der gleichen Menge Dimethylsulfoxid angelöst und dann mit Wachstumsmedium weiter verdünnt. In Mikrotiterplatten werden je 0,1 ml der Substanzverdünnungen pro Vertiefung eingefüllt und dann 0,2 ml Zellsuspension dazugegeben (pro Verdünnung 4 Vertiefungen). Es werden mehrere Wachstumskontrollen, die statt 0,1 ml Substanzverdünnung 0,1 ml Wachstumsmedium enthalten, angesetzt. Nach sorgfältigem Durchmischen werden die Kulturen 3 d bei 37° C unter 5% CO_2-Begasung bebrütet. Die Ablesung erfolgt im Vergleich zur dicht gewachsenen Wachstumskontrolle. Die Ableseergebnisse werden als Prozentsatz von Wachstumsausfall und Degenerationserscheinungen im Vergleich zur Wachstumskontrolle angegeben. Daraus wird die Grenzkonzentration ermittelt und die ED_{50} nach Reed und Muench errechnet. Die Angaben beziehen sich auf Mikrogramm Substanz pro Milliliter Gesamtmedium.

Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle enthalten:

Tabelle 4

Substanz	Grenzkonzentration µg/ml	ED_{50} µg/ml
A	3,13	12,5
B	3,13	9,75
D	25	90,1
E	0,78	5,81
P	≤0,78	1,5
F	0,78	7,7
G	0,78	5,8
I	0,78	2,27
K	1,56	3,52
N	≤0,78	3,8

Die genannten Verbindungen sind chemisch stabil, zeigen hohe Lipophilie (Verteilungskoeffizient n-Octanol/Wasser >1000) und lassen sich gut in Salben, Crèmes, Tinkturen, Sprays, Puder usw., die für topische Anwendung geeignet sind, einarbeiten.

Von besonderem Vorteil sind die gute Hautverträglichkeit (eine Crème, die 10% Verbindung E enthielt, wurde über 24 h unter Okklusion reizlos vertragen) und geringe Toxizität:

Die akute Toxizität wurde an der Maus ermittelt. Bestimmt wurde die LD_{50}, d.h. die Dosis, nach deren Verabreichung innerhalb von 14 d 50% der Tiere verstarben.

LD_{50} an der Maus:

Verbindung E	p.os	>3200 mg/kg
	s.c.	>4000 mg/kg
	i.p.	82 mg/kg
Verbindung L	p.os	>4000 mg/kg
	s.c.	>2000 mg/kg
	i.p.	400 mg/kg

Im allgemeinen pharmakologischen Screening, das auf eine Beeinflussung wesentlicher Körperfunktionen, wie beispielsweise Herz/Kreislauf oder Zentralnervensystem, schliessen lässt, zeigten sich keine nennenswerten Wirkungen. Systemische Nebenwirkungen sind deshalb bei lokaler Anwendung nicht zu erwarten.

Wegen der hohen Lipophilie bei gleichzeitiger Anwesenheit polarer Gruppen penetrieren die Verbindungen gut in die Haut, werden aber, wie durch Untersuchung der Ausscheidung gezeigt werden konnte, nur zum geringen Teil resorbiert.

Bei Untersuchung auf Hautverträglichkeit und Sensibilisierung, die an Meerschweinchen durchgeführt werden, zeigte sich, dass die schwach sensibilisierenden Eigenschaften mancher Resorcine durch die Einführung der Trifluoracetylgruppe verschwindet. Da Resorcine, wie z.B. Hexylresorcin beim Menschen, in manchen Fällen Allergien hervorrufen, ist dies ein wesentlicher Vorteil.

Eine wirkungsvolle Therapie der Akne ist derzeit nur systemisch mit starken Antibiotika (Tetracycline, Erythromycin), lokal mit Schälmitteln, wie Vitamin-A-Säure und Benzoylperoxyd, möglich. Die Anwendung von Antibiotika bei einer keinesfalls lebensbedrohenden Krankheit ist wegen der Resistenzbildung prinzipiell problematisch, bei Anwendung von Schälmitteln ist stets mit erheblicher Hautreizung zu rechnen.

Bei der Aknetherapie mit Antibiotika werden die bei der Akne wichtigen grampositiven Bakterien, vor allem Corynebacterium acnes, vermindert, was eine Reduktion des Gehaltes an freien Fettsäuren, die durch diese Bakterien aus Triglyceriden abgespalten werden, im Sebum zur Folge hat.

Wie Tabelle 1 zeigt, sind die oben genannten Verbindungen stark gegen Corynebacterium acnes wirksam. Ausserdem konnte gezeigt werden, dass nach lokaler Anwendung eine erhebliche Reduktion des Gehaltes an freien Fettsäuren möglich ist. Es ist deshalb eine lokale Therapie, die in ihrer Wirkung der oralen Therapie mit Antibiotika vergleichbar ist, möglich.

Die genaue Ursache der Schuppenbildung ist bisher noch unbekannt. Man findet jedoch bei Schuppen eine Hyperkeratose, d.h. die Zellteilungsvorgänge in der Epidermis laufen beschleunigt ab; ausserdem ist die Verhornung gestört. Nach Aussage einiger Autoren, z.B. R.A. Gosse, R.W. VanderWyck, „J. Soc. Cosmet. Chem." *20* (1969), 603, spielt die Hefe Pityrosporum ovale bei der Genese der Schuppen eine Rolle.

Tabelle 2 zeigt, dass einige der oben genannten Verbindungen eine starke Wirkung gegen Pit. ovale zeigen.

Aus Tabellen 3 und 4 ist ersichtlich, dass diese und andere Verbindungen beschleunigt ablaufende Zellteilungsvorgänge verlangsamen können. Mit Verbindungen, die in den Tabellen 2, 3 und 4 gute Wirksamkeit zeigen, ist deshalb eine Therapie der Kopfschuppen möglich.

Eine wirkungsvolle Therapie der Psoriasis ist derzeit topisch nur mit Dithranol, Teerpräparaten und hochwirksamen Corticoiden, systemisch mit Antimetaboliten, wie Methothrexat, Corticosteroiden und Cytostatika, möglich. Ausserdem werden noch die physikalische Behandlung mit UV-Licht, Röntgenbestrahlung und die kombinierte Anwendung von Psoralenen (systemisch oder lokal) und UV-Licht

angewendet. Alle diese Behandlungsmethoden sind entweder umständlich oder von erheblichen Nebenwirkungen begleitet. Eine einfache wirkungsvolle lokale Therapie ist deshalb von besonderem Vorteil. Die Tabellen 3 und 4 zeigen, dass einige der obengenannten Verbindungen zur Psoriasistherapie eingesetzt werden können.

Mykosen der Haut gewinnen zunehmend an Bedeutung. Da ein Erregernachweis oft nicht durchgeführt werden kann, ist die Anwendung von breit gegen Dermatophyten, Hefen und Bakterien wirksamen Antimykotica von besonderem Vorteil.

Die Tabellen 1 und 2 zeigen, dass die oben genannten Verbindungen gegen diese Erreger stark wirksam sind. Sie können deshalb zur Therapie von Mykosen und bakteriellen Hautinfektionen eingesetzt werden.

Die folgenden Beispiele sollen die Erfindung noch näher erläutern.

Beispiel 1:

a) *2,4-Dihydroxy-3-isopropyltrifluoracetophenon*

51 g 2,4-Dihydroxytrifluoracetophenon werden in 150 ml Polyphosphorsäure suspendiert und unter Rühren auf 80° C erhitzt. Bei dieser Temperatur wird während ½ h 38 g Isopropanol zugetropft und weitere 3 h nachgerührt. Nach Entfernen des Heizbades lässt man die Reaktionsmischung auf 70° C abkühlen und saugt über eine Glasfritte ab. Auf der Fritte wird das Produkt mit Wasser ausgewaschen und trockengesaugt. Aus Heptan wird umkristallisiert.

F.: 145° C, Ausbeute: 30% der Theorie.

Analog wurden die folgenden Verbindungen hergestellt:

2,4-Dihydroxy-5-isobutyltrifluoracetophenon, Kp.: 0,1 mm 90° C, F.: 88° C;

2,4-Dihydroxy-3-isobutyltrifluoracetophenon, F.: 114° C;

2,4-Dihydroxy-5-tert.-butyltrifluoracetophenon, F.: 159° C;

2,4-Dihydroxy-3-[(4-methyl)cyclohexyl]trifluoracetophenon, F.: 143° C;

2,4-Dihydroxy-5-cyclopentyltrifluoracetophenon, F.: 101° C;

2,4-Dihydroxy-3-isopentyltrifluoracetophenon, F.: 101° C;

2,4-Dihydroxy-5-(3,5-dimethyl)cyclohexyltrifluoracetophenon, F.: 126° C.

b) *2,4-Dihydroxy-5-tert.-butyltrifluoracetophenon*

30 g 2,4-Dihydroxytrifluoracetophenon und 30 ml tert.-Butanol werden vorgelegt. Eine Mischung aus 30 ml Eisessig in 30 ml Schwefelsäure wird zugegeben. Man erwärmt 2 h auf 80° C. Nach 1 ½ h werden nochmals 15 ml tert.-Butanol zugefügt. Der Ansatz wird auf Eis gegossen und mit 500 ml n-Heptan extrahiert. Der Heptanextrakt wird mit 700 ml Methanol/Wasser (50:50) gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet und mit Aktivkohle behandelt, das Filtrat wird eingeengt, der Rückstand wird aus n-Pentan umkristallisiert.

F.: 153° C, Ausbeute: 17,6 g (52% der Theorie).

c) *2,4-Dihydroxy-3-isopentyltrifluoracetophenon*

2 g 2,4-Dihydroxytrifluoracetophenon werden in 30 ml Phosphoxychlorid gelöst und mit 4 g Aluminiumchlorid versetzt. Man erhitzt auf 60° C und tropft 3 g 2-Pentanol zu und rührt dann noch 6 h bei dieser Temperatur.

Zur Zersetzung des Phosphoroxychlorids wird die Reaktionsmischung in Eiswasser gegossen und das ausgeschiedene Öl mit 5mal 100 ml n-Hexan extrahiert. Zur Entfernung von nicht umgesetztem 2,4-Dihydroxytrifluoracetophenon wird die n-Hexanlösung mit 5 mal 80 ml 60%igem, wässrigem Methanol ausgewaschen, dann die gesuchte Verbindung mit 5mal 10ml 90%igem, wässrigem Methanol extrahiert. Der Methanolextrakt wird am Rotationsverdampfer ganz eingeengt und der Rückstand aus n-Pentan umkristallisiert.

F.: 101° C, Ausbeute: 1,4 g (30% der Theorie).

Beispiel 2:

a) *2,4-Dihydroxy-3-(1-methylpentyl)trifluoracetophenon*

10 g 2,4-Dihydroxytrifluoracetophenon und 12,6 g 1-Hexen werden in 40 ml Phosphoroxychlorid gelöst und unter Rühren 5 g Phosphorpentoxid zugegeben. Unter starkem Rühren wird 6 h auf 50° C erwärmt.

Zur Zersetzung des Phosphoroxychlorids wird die Reaktionsmischung in Eiswasser gegossen und das ausgeschiedene Öl mit 5mal 100 ml n-Hexan extrahiert. Zur Entfernung von nicht umgesetztem 2,4-Dihydroxytrifluoracetophenon wird die n-Hexanlösung mit 5 mal 80 ml 60%igem, wässrigem Methanol ausgewaschen, dann die gesuchte Verbindung mit 5mal 100 ml 90%igem, wässrigem Methanol extrahiert. Der Methanolextrakt wird am Rotationsverdampfer ganz eingeengt und der Rückstand aus n-Pentan umkristallisiert.

F.: 97° C, Ausbeute: 1,5 g (30% der Theorie).

Analog obigem Verfahren wurden hergestellt:

2,4-Dihydroxy-3-isobutyltrifluoracetophenon aus Buten und 2,4-Dihydroxytrifluoracetophenon. F.: 114° C.

2,4-Dihydroxy-3-cyclododecyltrifluoracetophenon aus Cyclododecen und Dihydroxytrifluoracetophenon. F.: 166° C.

2,4-Dihydroxy-3-isodecyltrifluoracetophenon aus 1-Decen und Dihydroxytrifluoracetophenon. F.: 98° C.

2,4-Dihydroxy-3-cyclopentyltrifluoracetophenon aus Cyclopenten und Dihydroxytrifluoracetophenon. F.: 166° C.

2,4-Dihydroxy-3-cycloheptyltrifluoracetophenon aus Cycloheptен und Dihydroxytrifluoracetophenon. F.: 174° C.

2,4-Dihydroxy-3-isopropyltrifluoracetophenon aus Propen und Dihydroxytrifluoracetophenon. F.: 145° C.

2,4-Dihydroxy-3-isododecyltrifluoracetophenon aus 1-Dodecen und Dihydroxytrifluoracetophenon. F.: 96° C.

2,4-Dihydroxy-3-isooctadecyltrifluoracetophenon aus 1-Octadecen und Dihydroxytrifluoracetophenon. F.: 98° C.

b) *2,4-Dihydroxy-3-hexyltrifluoracetophenon*

10 g 2,4-Dihydroxytrifluoracetophenon und 12,6 g 1-Hexen werden in eine Mischung von 30 ml konzentrierter Schwefelsäure und 30 ml Eisessig gelöst und 5 h auf 60° C erwärmt. Anschliessend wird die Reaktionsmischung in Eiswasser gegossen und das ausgeschiedene Öl mit 5mal 100 ml n-Hexan extrahiert. Zur Entfernung von nicht umgesetztem 2,4-Dihydroxytrifluoracetophenon wird die n-Hexanlösung mit 5mal 80 ml 60%igem, wässrigem Methanol ausgewaschen, dann die gesuchte Verbindung mit 5mal 100 ml 90%igem, wässrigem Methanol extrahiert. Der Methanolextrakt wird am Rotationsverdampfer ganz eingeengt und der Rückstand aus n-Pentan umkristallisiert.

F.: 97° C, Ausbeute: 2 g (40% der Theorie).

Verwendet man anstelle der Eisessig/Schwefelsäuremischung Polyphosphorsäure, so entsteht die gewünschte Verbindung ebenfalls in 40%iger Ausbeute.

Bei Verwendung von Nitrobenzol als Lösungsmittel und Aluminiumchlorid als Katalysator entsteht die gewünschte Verbindung in 25%iger Ausbeute.

Beispiel 3:

2,4-Dihydroxy-3-methyltrifluoracetophenonmonoacetat

4,4 g (0,02 mol) 2,4-Dihydroxy-3-methyltrifluoracetophenon werden in 25 ml Benzol gelöst und unter Rühren 3,2 g (0,04 mol) Acetylchlorid und 3,6 g (0,045 mol) Pyridin zugefügt. Nach 2 h Rühren bei Zimmertemperatur wird in Wasser gegossen und die Benzollösung abgetrennt. Diese wird mit 50 ml Wasser ausgewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Einengen am Rotationsverdampfer wird aus n-Hexan umkristallisiert.

F.: 49 bis 50° C, Ausbeute: 4,5 g (86,5% der Theorie).

In analoger Weise wurden hergestellt:

2,4-Dihydroxy-5-chlortrifluoracetophenonmonoacetat aus 2,4-Dihydroxy-5-chlortrifluoracetophenon und Acetylchlorid. F.: 80 bis 83° C, Ausbeute: 71,5% der Theorie.

2,4-Dihydroxy-5-chlortrifluoracetophenonmonostearat aus 2,4-Dihydroxy-5-chlortrifluoracetophenon und Stearoylchlorid. F.: 51°C, Ausbeute: 40% der Theorie.

2,4-Dihydroxy-3-methyltrifluoracetophenonmonoundecylenat aus 2,4-Dihydroxy-3-methyltrifluoracetophenon und 11-Undecylensäurechlorid. Diese Verbindung wurde durch Destillation gereinigt. $Kp_{0,07}$: 165°C, Ausbeute: 64% der Theorie.

2,4-Dihydroxy-5-chlortrifluoracetophenonmonoundecylenat aus 2,4-Dihydroxy-5-chlortrifluoracetophenon und 11-Undecylensäurechlorid. Diese Verbindung wurde durch Destillation gereinigt. $Kp_{0,07}$: 168°C, Ausbeute: 65% der Theorie.

2,4-Dihydroxy-5-hexyltrifluoracetophenonmonoacetat aus 2,4-Dihydroxy-5-hexyltrifluoracetophenon und Acetylchlorid. F.: 30°C, Ausbeute: 83% der Theorie.

2,4-Dihydroxy-5-hexyltrifluoracetophenonmonostearat aus 2,4-Dihydroxy-5-hexyltrifluoracetophenon und Stearoylchlorid. Ausbeute: 77% der Theorie.

2,4-Dihydroxy-3-methyltrifluoracetophenondiphenylacetat aus Phenylacetylchlorid und 2,4-Dihydroxy-3-methyltrifluoracetophenon. F.: 65°C, Ausbeute: 90% der Theorie.

Beispiel 4:

Gemisch eines Mono- und Disalicylates von 2,4-Dihydroxy-3-methyltrifluoracetophenon

32 g Natriumsalicylat und 2,2 g 2,4-Dihydroxy-3-methyltrifluoracetophenon werden in 20 ml Benzol gelöst, 3,2 g Phosphoroxychlorid zugegeben und die Mischung 2 h zum Rückfluss erhitzt. Zum Zersetzen des Phosphoroxychlorids wird dann auf 150 g Eis gegossen, die benzolische Lösung abgetrennt und nochmals mit 50 ml Benzol die wässrige Phase extrahiert. Die vereinigten Benzollösungen werden mit 100 ml Wasser ausgewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wird aus 75%igem Methanol umkristallisiert.

F.: 94 bis 98°C, Ausbeute: 40% der Theorie.

Laut UV-, IR- und NMR-Spektren handelt es sich um eine Mischung von Mono- und Disalicylat.

Beispiel 5:

2-Hydroxy-4-methoxy-5-n-hexyltrifluoracetophenon und *2,4-Dimethoxy-5-n-hexyltrifluoracetophenon*

16 g 2,4-Dihydroxy-5-n-hexyltrifluoracetophenon werden mit 7 g Kaliumcarbonat (getrocknet), 14,2 g (0,1 mol) Methyljodid und 100 ml Aceton 5 h am Rückfluss erhitzt. Das Aceton wird danach am Rotationsverdampfer eingeengt und zu dem Rückstand 100 ml Wasser gegeben. Mit 100 ml Essigester wird ausgeschüttelt und diese Lösung mit Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Einengen am Rotationsverdampfer wird das Gemisch aus Mono- und Diäther destilliert. Im Vorlauf wird das nicht umgesetzte Methyljodid erhalten. Die Äther werden danach in Methanol umkristallisiert.

Diäther: 52°C, Ausbeute: 30,5% der Theorie.

Die Verbindungen der Formel I lassen sich in die üblichen pharmazeutischen Zubereitungsformen einarbeiten. Als solche kommen beispielsweise Schaumaerosole, Pudersprays, Puder, Rachensprays, Shampoos, Crèmes, Salben, Tinkturen, Pasten oder Gelee in Betracht. Die Dosierung der Wirkstoffe liegt zwischen 0,05 und 1%, vorzugsweise 0,1 bis 0,8 Gew.%.

Für den Einsatz im Pflanzenschutz werden die erfindungsgemäss hergestellten Verbindungen zu üblichen Formulierungen verarbeitet, insbesondere zu Lösungs- oder Emulsionskonzentraten, Stäubemitteln, Granulaten, Spritzpulvern, Beizpulvern und Beizlösungen. Der Wirkstoffgehalt in den Spritzbrühen und Stäubemitteln beträgt zwischen 0,01 und etwa 3 Gew.%. Höhere Wirkstoffkonzentrationen weisen die Beizlösungen (etwa 10 bis 50 Gew.%) und Beizpulver (etwa 20 bis 90 Gew.%) sowie die Konzentrate (bis etwa 95 Gew.%) auf.

Die Beizmittel werden aufgesprüht (Beizlösung) oder mit dem Saatgut vermischt. Sie dienen zur Bekämpfung vor allem der Pilzgattungen Tiletia, Helmintosporium, Ustilago und Fusarium. Die anderen Verbindungen der Formel I können entsprechend angewendet werden.