



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 696 31 134 T2** 2004.09.02

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 831 832 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **696 31 134.8**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US96/08084**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **96 916 817.8**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 96/040145**

(86) PCT-Anmeldetag: **03.06.1996**

(87) Veröffentlichungstag  
der PCT-Anmeldung: **19.12.1996**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **01.04.1998**

(97) Veröffentlichungstag  
der Patenterteilung beim EPA: **17.12.2003**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **02.09.2004**

(51) Int Cl.<sup>7</sup>: **A61K 31/444**  
**A61K 31/4439, A61P 31/10**

(30) Unionspriorität:  
**472996 07.06.1995 US**

(73) Patentinhaber:  
**University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, N.C., US; Duke University, Durham, N.C., US; Georgia State University Research Foundation, Inc., Atlanta, Ga., US**

(74) Vertreter:  
**derzeit kein Vertreter bestellt**

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
**AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:  
**DYKSTRA, C., Christine, Auburn, US; PERFECT, R., John, Durham, US; BOYKIN, W., David, Atlanta, US; WILSON, David, W., Atlanta, US; TIDWELL, R., Richard, Pittsboro, US**

(54) Bezeichnung: **VERFAHREN ZUR BEKÄMPFUNG INFECTIÖSER KRANKHEITEN UNTER VERWENDUNG DIKATI-  
ONISCHER BIS-BENZIMIDAZOLE**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

**Beschreibung**

[0001] Die vorliegende Erfindung wurde mit Unterstützung der Regierung unter Zuschussnummer 1U01-AI3363 von den National Institutes of Health durchgeführt. Die Regierung besitzt bestimmte Rechte an dieser Erfindung.

**GEBIET DER ERFINDUNG**

[0002] Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Verfahren, die zur Bekämpfung von Infektionskrankheiten nützlich sind.

[0003] Gegenstand der Erfindung sind im einzelnen Verfahren zur Bekämpfung von Infektionskrankheiten unter Verwendung dikationischer Bisbenzimidazol-Verbindungen.

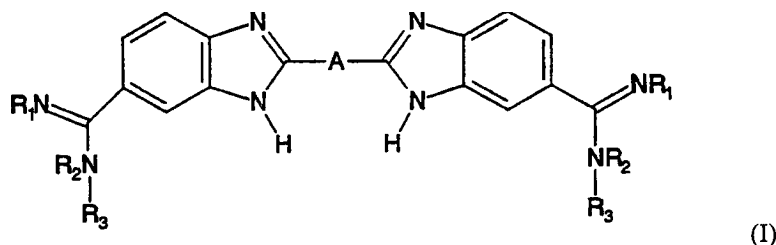
**HINTERGRUND DER ERFINDUNG**

[0004] Der Bedarf an neuen Antimykotika ist aufgrund der zunehmenden Anzahl an Pilzinfektionen, die bei immungeschwächten Patienten auftreten, dringlicher geworden. Es besteht eine erhöhte Pilzinfektionsinzidenz, die zum Beispiel der aggressiven Verwendung von Krebschemotherapie, Organtransplantationen und opportunistischen Infektionen, die bei Patienten mit dem Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS; erworbenem Immundefekt-Syndrom) assoziiert sind, zugeschrieben wird. Pilzinfektionen gehören zu den häufigsten Komplikationen von AIDS wie auch der Krebschemotherapie. Zu den wichtigsten opportunistischen Pilzpathogenen, die bei immungeschwächten Wirten disseminierte Mykosen auslösen, zählen *Candida* und *Cryptococcus*.

[0005] Derzeit zur Behandlung systemischer Mykosen angewendete Antimykotika können als Polyen-Antibiotika, einschließlich Amphotericin B, Flucytosin und synthetischer Azole klassifiziert werden. Aus der Anwendung dieser Mittel können sich jedoch signifikante Nachteile ergeben, einschließlich einer begrenzten Wirksamkeit und/oder Toxizität. Es ist demgemäß eine erfindungsgemäße Aufgabe, neue Verbindungen bereitzustellen, die zur Behandlung von Pilzinfektionen nützlich sind.

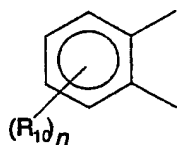
**ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG**

[0006] Ein erster erfindungsgemäßer Aspekt betrifft ein Verfahren zur Behandlung von *Cryptococcus neoformans* unter Verwendung einer Verbindung der Formel I:



worin:

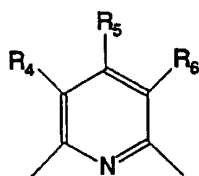
$R_1$  und  $R_2$  jeweils unabhängig aus der Gruppe ausgewählt sind, bestehend aus H, niederem Alkyl, Alkoxyalkyl, Cycloalkyl, Aryl, Alkylaryl, Hydroxyalkyl, Aminoalkyl oder Alkylaminoalkyl, oder  $R_1$  und  $R_2$  zusammen ein  $C_2$ -bis  $C_{10}$ -Alkyl, Hydroxyalkyl oder Alkylen darstellen oder  $R_1$  und  $R_2$  zusammen stehen für:



worin  $n$  eine Zahl von 1 bis 3 ist, und  $R_{10}$  für H oder  $-\text{CONHR}_{11}\text{NR}_{15}\text{R}_{16}$  steht, worin  $C_{11}$  für ein niederes Alkyl steht und  $R_{15}$  und  $R_{16}$  jeweils unabhängig aus der Gruppe ausgewählt sind, bestehend aus H und niederem Alkyl; und

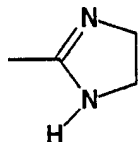
$R_3$  für H, Hydroxy, niederes Alkyl, Cycloalkyl, Aryl, Alkylaryl, Alkoxyalkyl, Hydroxycycloalkyl, Alkoxycycloalkoxy, Hydroxyalkyl, Aminoalkyl oder Alkylaminoalkyl steht;

A eine heterocyclische aromatische Gruppe der Formel



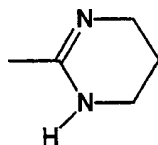
ist, worin  $R_4$ ,  $R_5$  und  $R_6$  jeweils unabhängig aus der Gruppe ausgewählt sind, bestehend aus H, niederem Alkyl, Halogen, Aryl, Arylalkyl, Aminoalkyl, Aminoaryl, Oxyalkyl, Oxyaryl oder Oxyarylalkyl; oder ein physiologisch verträgliches Salz davon.

[0007] In einer bevorzugten erfindungsgemäßen Ausführungsform stellen  $R_1$  und  $R_2$  zusammen ein  $C_2$ -bis  $C_4$ -Alkyl dar, und  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$  und  $R_6$  stehen für H. In einem Aspekt dieser erfindungsgemäßen Ausführungsform stellen  $R_1$  und  $R_2$  zusammen



dar, und  $R_3$  steht für H.

[0008] In einem anderen Aspekt dieser erfindungsgemäßen Ausführungsform stellen  $R_1$  und  $R_2$

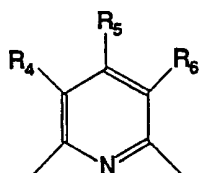


dar, und  $R_3$  steht für H.

[0009] In einer noch anderen bevorzugten erfindungsgemäßen Ausführungsform steht jeweils jedes von  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$  und  $R_6$  für H.

[0010] In einer noch anderen bevorzugten erfindungsgemäßen Ausführungsform steht jeweils jedes von  $R_1$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$  und  $R_6$  für H, und  $R_2$  stellt ein niederes Alkyl, bevorzugt Isopropyl dar.

[0011] In einer noch anderen bevorzugten erfindungsgemäßen Ausführungsform steht A für:



worin  $R_4$ ,  $R_5$  und  $R_6$  jeweils für N stehen.

[0012] Es werden erfindungsgemäß weiter Verbindungen bereitgestellt, die zur Behandlung von C. neoformans nützlich sind. Die Verbindungen weisen die vorstehend beschriebene Strukturformel (I) auf. Zu derzeit bevorzugten Verbindungen der Formel zählen, sind aber nicht beschränkt darauf, 2,6-Bis[5-(2-imidazoliny)-2-benzimidazolyl]pyridin; 2,6-Bis(5-amidino-2-benzimidazolyl)pyridin; 2,6-Bis[5-(1,4,5,6-tetrahydro-2-pyrimidinyl)-2-benzimidazolyl]pyridin; und physiologisch verträgliche Salze davon.

## AUSFÜHRLICHE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

[0013] Wie hierin verwendet, versteht man unter dem Begriff „niederes Alkyl“ ein lineares oder verzweigtes  $C_1$ - bis  $C_6$ -Alkyl, wie zum Beispiel Methyl, Ethyl, Propyl, Butyl, Isopropyl, sec-Butyl, tert-Butyl, Butyl, Pentyl, Isopentyl und Hexyl. Unter dem Begriff „Cycloalkyl“, wie hierin verwendet, versteht man cyclisches  $C_3$ - bis  $C_6$ -Alkyl, wie zum Beispiel Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl und Cyclohexyl. Unter dem Begriff „Aryl“, wie hierin verwendet, versteht man cyclische aromatische  $C_3$ -bis  $C_{10}$ -Gruppen, wie zum Beispiel Phenyl, Naphthyl und dergleichen, und er schließt substituierte Arylgruppen, wie zum Beispiel Tolyl ein. Unter dem Begriff „Hydroxyalkyl“, wie hierin verwendet, versteht man lineares oder verzweigtes Hydroxy-substituiertes  $C_1$ - bis  $C_4$ -Alkyl, d. h.  $-CH_2OH$ ,  $-(CH_2)_2OH$  usw. Unter dem Begriff „Aminoalkyl“, wie hierin verwendet, versteht man lineares oder verzweigtes Amino-substituiertes  $C_1$ - bis  $C_4$ -Alkyl, worin der Begriff „Amino“ auf die Gruppe  $NR'R''$  verweist, worin  $R'$  und  $R''$ , wie vorstehend definiert, unabhängig ausgewählt sind aus H oder niederem Alkyl, d. h.  $-NH_2$ ,  $-NHCH_3$ ,  $-N(CH_3)_2$  usw. Unter dem Begriff „Alkoxyalkyl“, wie hierin verwendet, versteht man lineares oder verzweigtes  $C_1$ - bis  $C_6$ -Alkoxy, wie zum Beispiel Methoxy, Ethoxy, Propyloxy, Butyloxy, Isopropyloxy und t-Butylo-

xy.

[0014] Die vorliegende Erfindung ist, wie vorstehend angemerkt, nützlich zur Behandlung von *Cryptococcus neoformans*, indem sie den Beginn, das Wachstum oder die Ausbreitung der Erkrankung inhibiert, zur Rückbildung der Erkrankung führt, die Erkrankung heilt oder anderweitig die allgemeine Befindlichkeit eines von der Erkrankung befallenen Patienten oder einem mit Risiko, daran zu erkranken, bessert.

[0015] Bei den zu behandelnden Patienten handelt es sich in der Regel um menschliche Patienten, obwohl die vorliegende Erfindung bei jedem dem Durchschnittsfachmann bekannten geeigneten Patienten nützlich sein kann.

[0016] Wie vorstehend angemerkt, stellt der erfindungsgemäße Gegenstand pharmazeutische Formulierungen bereit, umfassend die vorstehend erwähnten Verbindungen der Formel I oder pharmazeutisch verträgliche Salze davon in pharmazeutisch verträglichen Trägern für Aerosol und zur oralen und parenteralen Verabreichung wie nachstehend ausführlich erläutert wird.

[0017] Die therapeutisch wirksame Dosis von jedweder spezifischen Verbindung, deren Verwendung in den erfindungsgemäßen Umfang fällt, wird von Verbindung zu Verbindung und von Patient zu Patient etwas variieren und hängt vom Zustand des Patienten und dem Verabreichungsweg ab. Eine Dosierung von 0,1 bis 50 mg/kg besitzt, als allgemeiner Anhaltspunkt, therapeutische Wirksamkeit, wobei noch höhere Dosierungen potenziell zur oralen Verabreichung und/oder als Aerosol eingesetzt werden. Bedenken hinsichtlich der Toxizität bei höheren Konzentrationen kann intravenöse Dosen auf eine niedrigere Konzentration, wie zum Beispiel bis zu ca. 1 mg/kg einschränken, wobei alle Gewichte bezogen auf das Gewicht des Wirkstoffs, einschließlich der Fälle, wenn ein Salz eingesetzt wird, berechnet werden. Zur intravenösen oder intramuskulären Verabreichung wird in der Regel eine Dosierung von 0,5 mg/kg bis 5 mg/kg eingesetzt. Zur oralen Verabreichung kann eine Dosierung von 10 mg/kg bis 50 mg/kg eingesetzt werden. Die Dauer der Behandlung erfolgt gewöhnlich einmal täglich für eine Dauer von zwei bis drei Wochen oder bis sich die Infektion mit *Cryptococcus neoformans* weitgehend unter Kontrolle befindet. Niedrigere Dosen, die weniger häufig gegeben werden, können zur Verhinderung oder Reduktion der Inzidenz für Infektionsrezidive verwendet werden.

[0018] Eine Verbindung der Formel I oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz davon kann erfindungsgemäß oral oder durch Inhalation als ein Feststoff verabreicht werden oder kann als eine Lösung, Suspension oder Emulsion intramuskulär oder intravenös verabreicht werden. Als Alternative kann die Verbindung oder das Salz auch durch Inhalation, intravenös oder intramuskulär als eine liposomale Suspension verabreicht werden. Wenn die Verbindung oder das Salz mittels Inhalation verabreicht wird, sollte sie/es in der Form einer Vielzahl von Feststoffpartikeln oder Tröpfchen mit einer Partikelgröße von 0,5 bis 5 µm, bevorzugt von 1 bis 2 µm, vorliegen.

[0019] Außer zur Behandlung von *Cryptococcus neoformans* sind die Verbindungen der Formel I auch nützlich zur Prophylaxe gegen *Cryptococcus neoformans* bei einem immungeschwächten Patienten, wie zum Beispiel einem, der an AIDS leidet, der mindestens eine Episode von *Cryptococcus neoformans* durchmachte, der aber zum Zeitpunkt der Behandlung keine Anzeichen einer Infektion aufweist. Da es sich bei *Cryptococcus neoformans* um eine potenziell besonders verheerende Krankheit für immungeschwächte Patienten handelt, ist bevorzugt, anstelle die Erkrankung zu behandeln, nachdem sie symptomatisch geworden ist, das Auftreten von *Cryptococcus neoformans* von vornherein zu verhindern. Demgemäß betrifft die vorliegende Erfindung die Prophylaxe gegen *Cryptococcus neoformans*, umfassend die Verabreichung einer prophylaktisch wirksamen Menge einer Verbindung der Formel I oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz davon an den Patienten. Bei den Formen zur Verabreichung der Verbindung oder des Salzes gemäß diesem Verfahren kann es sich um die gleichen handeln wie sie auch zum Zweck der eigentlichen Behandlung eines an einer Infektion mit *Cryptococcus neoformans* leidenden Patienten verwendet werden.

[0020] Ein weiterer nützlicher erfindungsgemäßer Aspekt stellt die Prophylaxe gegen selbst eine initiale Episode einer Infektion mit *Cryptococcus neoformans* bei einem immungeschwächten Patienten dar, der noch niemals zuvor eine Episode einer Infektion mit *Cryptococcus neoformans* erfahren hat. Diesbezüglich kann ein Patient, der als immungeschwächt diagnostiziert wurde, wie zum Beispiel einer, der an AIDS oder ARC (einem AIDS-related-complex) leidet, bereits vor dem Auftreten einer initialen Episode einer Infektion mit *Cryptococcus neoformans* eine Infektion vermeiden oder hinauszögern, indem er sich eine prophylaktisch wirksame Menge einer Verbindung der Formel I oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz davon verabreichen lässt. Die Verbindung oder das Salz kann auf die gleiche Weise wie bei der Behandlung von einem an einer Infektion mit *Cryptococcus neoformans* leidenden Patienten verabreicht werden.

[0021] Die pharmazeutischen Zusammensetzungen umfassen eine Verbindung der Formel I oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz davon, in jedwedem pharmazeutisch verträglichen Träger. Wenn eine Lösung erwünscht ist, so stellt Wasser in Bezug auf wasserlösliche Verbindungen oder Salze den Träger der Wahl dar. In Bezug auf die wasserunlöslichen Verbindungen oder Salze können ein organisches Vehikel, wie zum Beispiel Glycerol, Propylenglycol, Polyethylenglycol, oder Gemische davon geeignet sein. Im letzteren Fall kann das organische Vehikel eine erhebliche Wassermenge enthalten. Die Lösung kann dann in beiden Fällen auf jedwede geeignete Weise, bevorzugt mittels Filtration durch ein Filter von 0,22 Mikron, sterilisiert werden. An-

schließend an die Sterilisation kann die Lösung in geeignete Behältnisse, wie zum Beispiel pyrogenfrei gemachte Glasdurchstichfläschchen, gefüllt werden. Selbstverständlich sollte die Befüllung anhand eines aseptischen Verfahrens erfolgen. Danach können sterilisierte Verschlüsse auf die Durchstichfläschchen aufgesetzt werden, und der Inhalt des Durchstichfläschchens kann gegebenenfalls lyophilisiert werden.

[0022] Außer den Verbindungen der Formel I oder ihren Salzen können die pharmazeutischen Zusammensetzungen andere Zusatzmittel, wie zum Beispiel ein Zusatzmittel zur pH-Einstellung, enthalten. Nützliche Mittel zur pH-Einstellung schließen insbesondere Säuren, wie zum Beispiel Salzsäure, Basen oder Puffer, wie zum Beispiel Natriumlactat, Natriumacetat, Natriumphosphat, Natriumcitrat, Natriumborat oder Natriumgluconat ein. Die Zusammensetzungen können weiter mikrobielle Konservierungsmittel enthalten. Zu nützlichen mikrobiellen Konservierungsmitteln zählen Methylparaben, Propylparaben und Benzylalkohol. Das mikrobielle Konservierungsmittel wird in der Regel eingesetzt, wenn die Formulierung in ein zur Mehrdosenentnahme bestimmtes Durchstichfläschchen gegeben wird. Die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzungen können, wie angezeigt, selbstverständlich unter Verwendung von dem Durchschnittsfachmann bekannten Verfahren lyophilisiert werden.

[0023] In einem noch anderen erfindungsgemäßen Aspekt ist eine injizierbare, stabile, sterile Zusammensetzung vorgesehen, umfassend eine Verbindung der Formel I oder ein Salz davon, in einer Einzeldosierungsform in einem fest verschlossenen Behältnis. Die Verbindung oder das Salz wird in der Form eines Lyophilisats bereitgestellt, das mit einem geeigneten pharmazeutisch verträglichen Träger zur Bildung einer flüssigen Zusammensetzung, die zur Injektion davon in einen Menschen geeignet ist, rekonstituiert werden kann. Die Einzeldosierungsform umfasst in der Regel von ca. 10 mg bis ca. 10 g der Verbindung oder des Salzes. Wenn die Verbindung oder das Salz weitgehend wasserunlöslich ist, kann eine ausreichende Menge eines physiologisch verträglichen Emulgators, in ausreichender Menge zum Emulgieren der Verbindung oder des Salzes in einem wässrigen Träger, eingesetzt werden. Ein derartig nützlicher Emulgator stellt Phosphatidylcholin dar.

[0024] Andere pharmazeutische Zusammensetzungen können aus den wasserunlöslichen Verbindungen der Formel I oder den Salzen davon, wie zum Beispiel wasserbasierten Emulsionen, hergestellt werden. In einem derartigen Fall enthält die Zusammensetzung eine ausreichende Menge des pharmazeutisch zulässigen Emulgators zum Emulgieren der gewünschten Menge der Verbindung der Formel I oder des Salzes davon. Besonders nützliche Emulgatoren schließen Phosphatidylcholine und Lecithin ein.

[0025] Es werden erfindungsgemäß weiter liposomale Formulierungen der Verbindungen der Formel I und Salze davon bereitgestellt. Die Technologie zur Bildung liposomaler Suspensionen ist dem Durchschnittsfachmann weithin bekannt. Wenn die Verbindung der Formel I oder das Salz davon ein wasserlösliches Salz darstellt, kann die/das gleiche unter Verwendung herkömmlicher Liposomen-Technologie in Lipidvesikel inkorporiert werden. In einem solchen Fall wird die Verbindung oder das Salz, aufgrund der Wasserlöslichkeit der Verbindung oder des Salzes weitgehend in das hydrophile Zentrum oder in den Kern der Liposomen eingeschlossen. Die eingesetzte Lipidschicht kann von jedweder herkömmlichen Zusammensetzung sein und kann entweder Cholesterin enthalten oder cholesterinfrei sein. Wenn die Verbindung oder das Salz von Interesse wasserunlöslich ist, kann das Salz, wiederum durch Einsatz herkömmlicher Liposomenbildungstechnologie, weitgehend in der hydrophoben Flüssigkeitsdoppelschicht, welche die Struktur des Liposoms bildet, eingeschlossen werden. In jedem Fall kann die Größe der hergestellten Liposomen, wie zum Beispiel durch Standardbeschallungs- und -homogenisierungsverfahren, reduziert werden.

[0026] Die liposomalen Formulierungen, welche die Verbindungen der Formel I oder Salze davon enthalten, können selbstverständlich zur Herstellung eines Lyophilisats, das mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger, wie zum Beispiel Wasser, zum Regenerieren einer liposomalen Suspension rekonstituiert werden kann, lyophilisiert werden.

[0027] Es sind auch pharmazeutische Formulierungen vorgesehen, die zur Verabreichung als ein Aerosol mittels Inhalation geeignet sind. Diese Formulierungen umfassen eine Lösung oder Suspension der gewünschten Verbindung der Formel I oder ein Salz davon oder eine Vielzahl von Feststoffpartikeln der Verbindung oder des Salzes. Die gewünschte Formulierung kann in eine kleine Kammer gebracht und vernebelt werden. Die Vernebelung kann durch Druckluft oder durch Ultraschallenergie zur Bildung einer Vielzahl flüssiger Tröpfchen oder von Feststoffpartikeln, umfassend die Verbindungen oder die Salze erreicht werden. Die flüssigen Tröpfchen oder Feststoffpartikel sollten eine Partikelgröße im Bereich von 0,5 bis 5 µm aufweisen. Die Feststoffpartikel können durch Verarbeitung der festen Verbindung der Formel I oder eines Salzes davon, in jedweder dem Durchschnittsfachmann bekannten geeigneten Weise, wie zum Beispiel durch Mikronisierung, erreicht werden. Die Größe der Feststoffpartikel oder Tröpfchen liegt am bevorzugtesten im Bereich von 1 bis 2 µm. In dieser Hinsicht sind im Handel erhältliche Vernebler zur Erlangung dieses Ziels erhältlich.

[0028] Wenn die pharmazeutische Formulierung zur Verabreichung als ein Aerosol in der Form einer Flüssigkeit geeignet ist, umfasst die Formulierung bevorzugt eine wasserlösliche Verbindung der Formel I oder ein Salz davon, in einem Träger, der Wasser umfasst. Es kann ein oberflächenaktives Mittel vorhanden sein, welches die Oberflächenspannung der Formulierung ausreichend senkt, um in der Bildung von Tröpfchen im gewünschten Größenbereich zu resultieren, wenn sie der Vernebelung ausgesetzt wird.

[0029] Der erfindungsgemäße Gegenstand stellt, wie angezeigt, sowohl wasserlösliche als auch wasserunlösliche Verbindungen und Salze bereit. Wie in der vorliegenden Beschreibung verwendet, versteht man unter dem Begriff „wasserlöslich“ definitionsgemäß jedwede Zusammensetzung, die in Wasser in einer Menge von ca. 50 mg/ml oder größer löslich ist. Wie in der vorliegenden Beschreibung verwendet, versteht man unter dem Begriff „wasserunlöslich“ definitionsgemäß ferner jedwede Zusammensetzung, die in Wasser eine Löslichkeit von weniger als ca. 20 mg/ml besitzt. Für bestimmte Anwendungen können wasserlösliche Verbindungen oder Salze erwünscht sein, wohingegen für andere Anwendungen wasserunlösliche Verbindungen oder Salze gleichermaßen erwünscht sein können.

[0030] Beispiele von Verbindungen, die für die vorstehende Formel (I) beispielhaft sind, schließen folgende ein, sind aber nicht darauf beschränkt:

2,6-Bis[5-(2-imidazoliny)-2-benzimidazolyl]pyridin;

2,6-Bis(5-amidino-2-benzimidazolyl)pyridin;

2,6-Bis[5-(1,4,5,6-tetrahydro-2-pyrimidinyl)-2-benzimidazolyl]pyridin; und physiologisch verträgliche Salze davon.

[0031] Die erfindungsgemäß verwendeten Verbindungen können, wie angezeigt, als pharmazeutisch verträgliche Salze vorliegen. Derartige Salze schließen Gluconat, Lactat, Acetat, Tartrat, Citrat, Phosphat, Borat, Nitrat, Sulfat und Hydrochloridsalze ein.

[0032] Verfahren zur Bekämpfung von *Candida albicans* mit den vorstehenden Verbindungen der Formel I werden weitgehend auf die gleiche Weise wie vorstehend angegeben durchgeführt, und pharmazeutische Formulierungen der Verbindungen der Formel I zur Bekämpfung von *Candida albicans* werden im Wesentlichen auf die gleiche Weise wie vorstehend angegeben hergestellt.

[0033] Die erfindungsgemäßen Verbindungen können gemäß dem Durchschnittsfachmann bekannten Verfahren, insbesondere angesichts der Offenbarung und der nachstehend dargelegten Beispiele hergestellt werden. Gemäß einem Verfahren können die Verbindungen der Formel I durch Kondensation einer geeigneten heterocyclischen Verbindung (d. h. Pyrrol, Pyridin, Furan usw.) Dicarboxaldehyd (zum Beispiel Pyrrol-2,5-dicarboxaldehyd) hergestellt werden, die gemäß der Lehre von T. Cresp, et al., J. Chem. Soc. Perkins Tran. 1, 2961 (1973) mit der geeigneten Diaminophenylverbindung (zum Beispiel Diaminobenzamidin, hergestellt gemäß T. Fairley, et al., Med. Chem. 36, 1746 (1993), hergestellt werden kann. Die Kondensationsreaktion kann gemäß dem Verfahren von S. Kumar, et al., Indian J. Chem 20B, 254 (1981), durchgeführt werden.

[0034] Die Diaminophenylverbindungen können zum Beispiel durch Reduktion von Nitrogruppen von 3,4-Dinitrobrombenzen zur Bildung von 3,4-Diaminobrombenzen hergestellt werden. Die „Nitrilisierung“ dieser Verbindung zum entsprechenden 3,4-Diaminonitrilbenzen kann durch Reaktion von Kupfer(I)-cyanid mit dem auf diese Weise hergestellten 3,4-Dinitrobrombenzen im Rückfluss-DMF gemäß den Standardverfahren durchgeführt werden. Siehe, J. Sychala, et al., European J. Med. Chem. 29: 363 (1994). Das Nitril kann dann anhand des Pinner-Verfahrens gemäß B. Das et al., J. Med. Chem. 20, 1219 (1977) in das Imidat umgewandelt werden. Das Imidat kann in die Verbindungen der Formel (I), zum Beispiel durch Reaktion mit Ammonium oder dem geeigneten Aminoalkan oder Diaminoalkan (wie zum Beispiel Ethylendiamin, Propylendiamin usw.) zur Bildung einer Amidinogruppe, einer Imidazolinygruppe bzw. einer 1,4,5,6-Tetrahydro-2-pyrimidinyl-Gruppe umgewandelt werden. Das Bisnitril kann auch durch Fusion des Nitrils direkt mit dem Hydrochloridsalz des entsprechenden Diamins mittels Thermolyse in die dikationische Bis-Verbindung umgewandelt werden. Dieses Verfahren ist zur Herstellung von Verbindungen, worin die R<sub>1</sub>- und R<sub>2</sub>-Gruppen zusammen ein cyclisches Alkyl bilden, besonders nützlich.

[0035] Die Verbindungen der vorstehenden Formel I können auch durch zuerst Herstellen eines geeigneten Intermediärprodukts, wie zum Beispiel 2,5-Bis(5-bromo-2-benzimidazolyl)pyrrol durch die Basen-geförderte Kondensation, zum Beispiel aus 1-Brom-3,4-diaminobenzen und Pyrrol-2,5-dicarboxaldehyd gemäß dem Verfahren von S. Kumar, et al., vorstehend, hergestellt werden. Das Intermediärprodukt kann dann durch „Nitrilisierung“, gefolgt von Imidatbildung und Umwandlung in das entsprechende Amidino, wie oben beschrieben, erhalten werden.

[0036] Die erfindungsgemäßen Salze können im Allgemeinen durch Reaktion zweier Äquivalente der heterocyclischen basischen Verbindung mit der gewünschten Säure in Lösung hergestellt werden. Nachdem die Reaktion abgeschlossen ist, werden die Salze durch Zufügen einer geeigneten Lösungsmittelmenge, worin das Salz unlöslich ist, auskristallisiert.

[0037] Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind nicht nur in Verfahren zur Behandlung von *Cryptococcus neoformans* und *Candida albicans*, sondern auch in Verfahren zur Inhibition von Enzymen, wie zum Beispiel Topoisomerase, nützlich. Die Verbindungen der Formel (I) sind insbesondere zur Inhibition von Topoisomerase II nützlich. Siehe S. Doucc-Racy, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83: 7152 (1986).

[0038] Die vorliegende Erfindung wird weiter anhand der folgenden nicht einschränkenden Beispiele erläutert, worin „g“ Gramm, „mg“ Milligramm, „µg“ Mikrogramm, „mmol“ Millimole, „h“ Stunden, „ml“ Milliliter, „M“ molar, „mM“ millimolar, „µM“ mikromolar, „UV“ Ultraviolett, „HCl“ Salzsäure, „Schmp.“ Schmelzpunkt, „HCN“ Blausäure und „°C“ Grad Celsius bedeuten.

[0039] Für die folgenden Beispiele wurden die Schmelzpunkte unter Verwendung eines Thomas Hoover (Uni-Melt)-Gerätes zur Bestimmung des Kapillarschmelzpunktes ermittelt und sind nicht bereinigt. Die  $^1\text{H}$ -NMR- und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren wurden unter Einsatz eines Varian GX400-Spektrometers aufgezeichnet, und die chemischen Verschiebungen ( $\delta$ ) liegen, sofern nicht anderweitig angegeben, in ppm bezogen auf TMS vor. Die Massenspektren wurden an einem 70-SE-Spektrometer von VG-Instruments (Georgia Institute of Technology, Atlanta, GA) aufgezeichnet. Die IR-Spektren wurden unter Verwendung eines Michelson 100 Instrumentes (Bomem, Inc.) aufgezeichnet. Die Elementaranalyse wurde vom Atlantic Microlab Inc. (Norcross, GA) durchgeführt und liegt innerhalb von +0,4 der theoretischen Werte. Alle Chemikalien und Lösungsmittel wurden von der Aldrich Chemical Co. oder Fisher Scientific erworben.

[0040] In den nachstehenden Beispielen werden nur die folgenden Verbindungsbezeichnungen verwendet.

Verbindung Nr.	Name
7	2,6-Bis(5-amidino-2-benzimidazolyl)pyridin
8	2,6-Bis[5-(1,4,5,6-tetrahydro-2-pyrimidinyl)-2-benzimidazolyl]pyridin

### BEISPIEL 3

#### Herstellung von 2,6-Bis[5-(2-imidazoliny)-2-benzimidazolyl]pyridin

[0041] 2,6-Bis[5-(2-imidazoliny)-2-benzimidazolyl]pyridin (Verbindung 3). Ein Protokoll, ähnlich dem in Beispielen 1 und 2 vorstehend verwendeten, wurde zur Kondensation von 2,6-Pyridincarboxyaldehyd und 2-(3,4-Diaminophenyl)imidazolin verwendet, um eine 85%ige Ausbeute eines Feststoffes zu ergeben. Schmp. > 300°C.  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ ) (4,05 (s, 8H,  $\text{N}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 7,96 (m, 4H, Ar-H), 8,30 (t, 1H, Pyridin), 8,49–8,51 (m, 4H, Ar-H), 10,71 (s, NH). Anal. ( $\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{N}_9 \cdot 3\text{HCl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) C, H, N. MS: m/e 448 ( $\text{M} + 1$ ).

### BEISPIEL 7

#### Herstellung von 2,6-Bis(5-amidino-2-benzimidazolyl)pyridin

[0042] 2,6-Bis(5-amidino-2-benzimidazolyl)pyridin (Verbindung 7). Ein Protokoll ähnlich dem in Beispielen 1–6 vorstehend beschriebenen wurde zur Kondensation von 2,6-Pyridindicarboxyaldehyd mit 3,4-Diaminobenzamidin verwendet, um 89% eines Feststoffes zu ergeben, Schmp. > 300°C.  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ ) (7,79 (dd,  $J = 8,4$  und  $1,6$  Hz, 2H, Ar-H), 7,94 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H, Ar-H), 8,28–8,34 (m, 3H, Ar-H), Pyridin), 8,51 (d,  $J = 8$  Hz, 2H, Pyridin), 9,12, 9,45 (brs [breiter Einzelpeak], brs, NH). Anal. ( $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{N}_9 \cdot 3\text{HCl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) C, H, N. MS: m/e 396 ( $\text{M} + 1$ ).

### BEISPIEL 8

#### Herstellung von 2,6-Bis[5-(1,4,5,6-tetrahydro-2-pyrimidinyl)-2-benzimidazolyl]pyridin

[0043] 2,6-Bis[5-(1,4,5,6-tetrahydro-2-pyrimidinyl)-2-benzimidazolyl]pyridin (Verbindung 8). Ein Protokoll ähnlich dem in Beispielen 1 – 7 vorstehend beschriebenen wurde zur Kondensation von 2,6-Pyridindicarboxyaldehyd mit 2-(3,4-Diaminophenyl)tetrahydropyrimidin verwendet, um eine 89%ige Ausbeute eines Feststoffes zu ergeben, Schmp. > 300°C.  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ ) (2,03 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 3,54 (brs, 8H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 7,66 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H, Ar-H), 7,84 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H, Ar-H), 8,17 (s, 2H, Ar-H), 8,29 (t, 1H, Pyridin), 8,43 (d,  $J = 8$  Hz, 2H, Pyridin), 10,04 (s, NH). Anal. ( $\text{C}_{27}\text{H}_{25}\text{N}_9 \cdot 3\text{HCl} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) C, H, N. MS: m/e 476. ( $\text{M} + 1$ ).

### BEISPIEL 12

#### Aktivität der Verbindungen gegen *Cryptococcus neoformans* und *Candida albicans*

[0044] Die Aktivität der verschiedenen Verbindungen der Formel I gegen *Cryptococcus neoformans* und *Candida albicans* ist in Tabelle 1 ersichtlich. Die Aktivität der Verbindungen wurde anhand eines standardmäßigen In-vitro-Assays auf die Inhibition des Pilzzellwachstums (die antifungale Empfindlichkeitstestung von Hefe im Bouillon-Verdünnungstest, vorgeschlagenes Standarddokument M27-P, validiert vom National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1992) beurteilt. Dieses Bouillon-Verdünnungsverfahren verwendet, kurz gefasst, RPMI-Medien und ein Inokulum von  $10^4$  Zellen. Die Kontrollröhrchen enthielten nur Medium. Nach der Bestimmung der minimalen Inhibitorkonzentration anhand des vorstehenden Verfahrens wurden Röhrchen mit keinem sichtbaren Wachstum zur Bestimmung der minimalen fungiziden Konzentration unter Verwendung von

Kriterien von weniger als 0,01 Überleben des Ausgangsinokulums subkultiviert. Es wurden zwei Organismen getestet: (1) H99, ein klinisches Isolat von *C. neoformans*, das in vitro und in vivo vollkommen empfindlich gegen Azole und Polyene ist; und (2) A39, ein klinisches Isolat von *C. albicans*, das vollkommen empfindlich gegen Azole und Polyene ist.

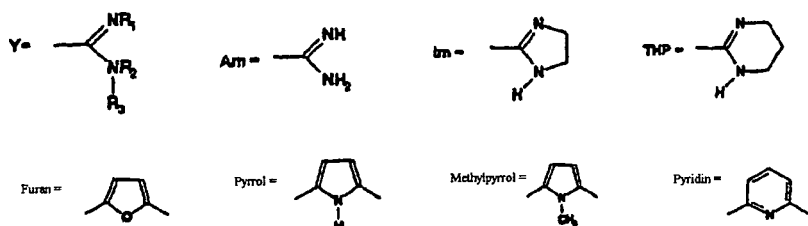
[0045] Die MFC (minimale fungizide Konzentration) gegen diese beiden wichtigen AIDS-assoziierten Pilzinfektionen sind in Tabelle 1 ersichtlich. Die MFC wurden nach dem folgenden Verfahren von McGinnis bestimmt.

TABELLE 1

Verbindung	A	Y	MFC ( $\mu\text{M}$ )		IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )	<i>C. neoformans</i> Topoisomerase ( $\mu\text{M}$ )		$\Delta T_m$
			<i>C. neoformans</i>	<i>C. albicans</i>		I	II	
3	Pyridin	Im	5,2	2,6	10	250-500	6,25	15,8
7	Pyridin	Am	>179	>179	95	125-250	<62	15,3
8	Pyridin	THP	19,02	>52	304	250-500	50-60	14,8



## Anmerkungen:



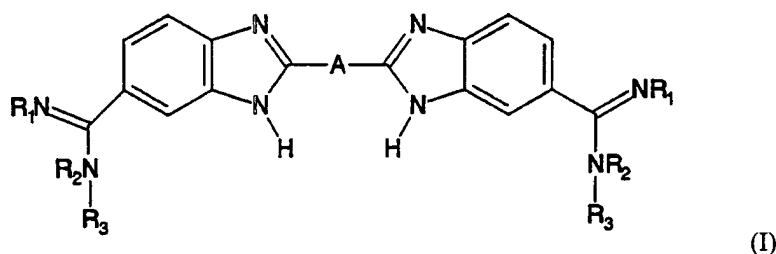
## BEISPIEL 13

## Nukleinsäure-Bindungsmessungen

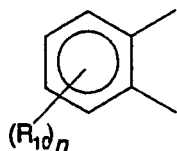
[0046] Die DNA-Bindungspotenz wurde für jede der Verbindungen bestimmt, weil anhand früherer Arbeiten ermittelt wurde, dass die Bindung der dikationischen Moleküle an DNA eine Voraussetzung für ihre antimikrobielle Aktivität bildet. Siehe z. B., Tidwell, R. R., et al., *Antimicrob. Agents Chemother.* 37, 1713–1716 (1993); Bell, C. A., et al., *Antimicrob. Agents Chemother.* 35, 1099–1107 (1991). Die DNA-Bindung der Verbindungen wurde durch die Änderung des Schmelzens der an die Verbindungen gebundenen DNA bestimmt. Das Verfahren ist gut dokumentiert und wird als ein Standardverfahren zur Bestimmung der DNA-Bindungsstärke erachtet. Siehe Cory, M. et al., *J. Med. Chem.* 25, 431–438 (1992). Es wurde, kurz zusammengefasst, ein UV/sichtbares Licht-Spektralphotometer mit einem Küvettenwechsler an einen Mikrocomputer angeschlossen, der die Küvettemperatur und die DNA-Absorptionsdaten bei 259 nm aufzeichnete, während die Probe bei einer Rate von 18°C/h erhitzt wurde. Kalbsthymus-DNA wurde bei einer initialen Absorption von 0,3 A<sub>259</sub> verwendet. Der mittlere Punkt von jeder Denaturierungskurve wurde nach grafischer Auswahl der Anfangs- und Endabsorptionstemperatur am Computer für jede Kurve von jedem Experiment bestimmt. DNA oder an die experimentelle Verbindung gebundene DNA wurde in jedem Experiment mitlaufen lassen, und der  $\Delta T_m$  wurde aus dem Polynukleotid T<sub>m</sub> für dieses Experiment bestimmt. Je größer die Änderung des Schmelzpunktes, um so potenter war die DNA-Bindung der Moleküle. Die Ergebnisse sind vorstehend in Tabelle 1 dargelegt.

## Patentansprüche

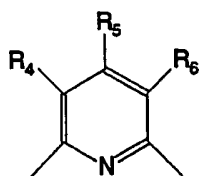
## 1. Verwendung einer Verbindung der Formel I:



R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> jeweils unabhängig aus der Gruppe ausgewählt sind, bestehend aus H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, Alkoxyalkyl, Cycloalkyl, Anl, Alkylaryl, Hydroxyalkyl, Aminoalkyl oder Alkylaminoalkyl, oder R<sub>2</sub> und R<sub>3</sub> zusammen ein C<sub>2</sub>- bis C<sub>10</sub>-Alkyl, Hydroxyalkyl oder Alkylen darstellen oder R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> zusammen stehen für:



worin n eine Zahl von 1 bis 3 ist und R<sub>10</sub> für H oder -CONHR<sub>11</sub>NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub> steht, worin R<sub>11</sub> für C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl steht und R<sub>15</sub> und R<sub>16</sub> jeweils unabhängig aus der Gruppe ausgewählt sind, bestehend aus H und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl; und R<sub>3</sub> für H, Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, Cycloalkyl, Aryl, Alkylaryl, Alkoxyalkyl; Hydroxycycloalkyl, Alkoxyalkoxy, Hydroxyalkyl, Aminoalkyl oder Alkylaminoalkyl steht;  
A eine heterocyclische aromatische Gruppe der Formel



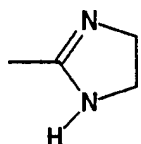
ist, worin  $R_4$ ,  $R_5$  und  $R_6$  jeweils unabhängig aus der Gruppe ausgewählt sind, bestehend aus H,  $C_1$ - $C_6$ -Alkyl, Halogen, Aryl, Arylalkyl, Aminoalkyl, Aminoaryl, Oxyalkyl, Oxyaryl oder Oxyarylalkyl; oder ein physiologisch verträgliches Salz davon, bei der Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung oder Prophylaxe einer Infektion mit *Cryptococcus neoformans*.

2. Verwendung nach Anspruch 1, worin das Arzneimittel zur Behandlung einer Infektion mit *Cryptococcus neoformans* ist.

3. Verwendung nach Anspruch 1, worin das Arzneimittel zur Prophylaxe einer Infektion mit *Cryptococcus neoformans* ist.

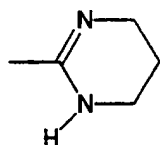
4. Verwendung nach Anspruch 1, worin  $R_1$  und  $R_2$  zusammen ein  $C_2$ - bis  $C_4$ -Alkylen darstellen, und  $R_3$  für H steht. worin:

5. Verwendung nach Anspruch 4, worin  $R_1$  und  $R_2$  zusammen



darstellen.

6. Verwendung nach Anspruch 4, worin  $R_1$  und  $R_2$  zusammen



darstellen.

7. Verwendung nach Anspruch 1, worin jeweils jedes von  $R_1$ ,  $R_2$  und  $R_3$  für H steht.

8. Verwendung nach Anspruch 1, worin jeweils jedes von  $R_1$  und  $R_3$  für H steht und  $R_2$  für  $C_1$ - $C_6$ -Alkyl steht.

9. Verwendung nach Anspruch 1, worin die Verbindung aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus:

2,6-Bis[5-(2-imidazoliny)-2-benzimidazolyl]pyridin;

2,6-Bis[5-amidino-2-benzimidazolyl]pyridin;

2,6-Bis[5-(1,4,5,6-tetrahydro-2-pyrimidinyl)-2-benzimidazolyl]pyridin; und den physiologisch verträglichen Salzen davon.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen