(19) BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

PATENTSCHRIFT

(12) Ausschließungspatent

(11) DD 298 784 A5

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1
Patentgesetz der DDR
vom 27.10.1983
in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) C 07 D 239/96
C 07 C 323/25
A 61 K 31/495

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

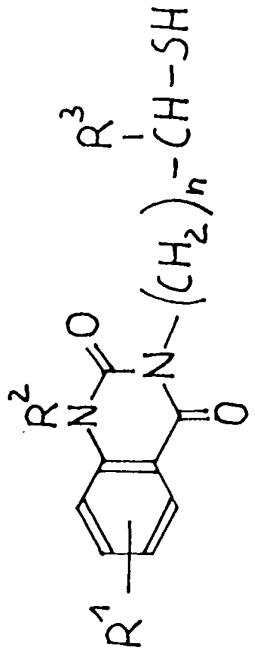
(21) DD C 07 D / 340 027 4 (22) 24.04.90 (44) 12.03.92

(71) siehe (73)
(72) Leistner, Siegfried, Doz. Dr. sc. nat.; Gütschow, Michael, Dr. rer. nat. Dipl.-Bio.-Chem.; Drößler, Karl, Doz. Dr. sc. nat.; Vieweg, Helmut, Dr. rer. nat.; Wagner, Günther, Prof. Dr. sc. nat.; Strohscheidt, Thomas; Lohmann, Dieter, Dr. rer. nat. Dipl.-Chem.; Laban, Günter, Dr. rer. nat. Dipl.-Chem., DE
(73) Arzneimittelwerk Dresden GmbH, Wilhelm-Pieck-Straße 35, O - 8122 Radebeul, DE

(54) 3-(Mercaptoalkyl)chinazolin-2,4(1H,3H)-dione, Verfahren zu ihrer Herstellung und pharmazeutische Zubereitungen

(55) potentiell biologisch aktive Verbindungen; potentiell immunstimulatorisch/immunregulatorisch wirkende Verbindungen; potentiell virostatisch wirksame Substanzen; Ausgangsverbindungen für potentielle Wirkstoffe; 3-(Mercaptoalkyl)chinazolin-2,4(1H,3H)-dione; 3-(Hydroxyalkyl)-4-oxo (bzw. thioxo)-2-thioxo-tetrahydrochinazoline; 2-Alkylthio-3-hydroxyalkyl-chinazolin-4(3H)-thione; Bis(benzoylaminoalkyl)disulfane; Bis(chinazolinylalkyl)disulfane

(57) Die Erfindung betrifft die neue Stoffklasse der 3-(Mercaptoalkyl)chinazolin-2,4(1H,3H)-dione, deren Vertreter aufgrund ihrer immunmodulatorischen und antiviralen Wirkung gute Aussichten als Wirkstoffe für Arzneimittel haben. Die Erfindung betrifft unterschiedliche Verfahren zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel I. Bei den 3-(Mercaptoalkyl)chinazolin-2,4(1H,3H)-dionen der allgemeinen Formel I bedeuten R^1 = H, F, Cl, I oder CH_3 in 6- oder 8-Stellung oder 6,7-$(OCH_3)_2$; R^2 = H, einen Alkylrest mit 1 bis 3 C-Atomen, den Phenyl- oder den Benzylrest; R^3 = H oder CH_3, und n = 1 oder 2. Formel



ISSN 0433-6461

18 Seiten

Patentansprüche:

1. Pharmazeutische Zubereitungen zur Behandlung von Immunerkrankungen und/oder Virusinfektionen bei Mensch und Tier, **dadurch gekennzeichnet,** daß sie eine oder mehrere Verbindungen der allgemeinen Formel I, worin
   R^1 = H oder F, Cl, Br, I oder CH_3 in 6- oder 8-Stellung oder 6,7-$(OCH_3)_2$
   R^2 = H, einen Alkylrest mit 1 bis 3 C-Atomen, den Phenyl- oder den Benzylrest
   R^3 = H oder CH_3
   n = 1 oder 2
   bedeuten
   oder deren Tautomere enthalten und erwünschtenfalls inerte, pharmazeutisch übliche Träger- und/oder Hilfsstoffe.
2. Pharmazeutische Zubereitungen mit immunstimulierender und/oder immunrestaurativer Wirkung zur Behandlung von Immunerkrankungen bei Mensch und Tier, **dadurch gekennzeichnet,** daß sie eine oder mehrere Verbindungen der allgemeinen Formel I in Anspruch 1 oder deren Tautomere enthalten und erwünschtenfalls inerte, pharmazeutisch übliche Träger- und/oder Hilfsstoffe.
3. Pharmazeutische Zubereitungen mit antiviraler Wirkung zur Behandlung von Virusinfektionen bei Mensch und Tier, **dadurch gekennzeichnet,** daß sie eine oder mehrere Verbindungen der allgemeinen Formel I in Anspruch 1 oder deren Tautomere enthalten und erwünschtenfalls inerte, pharmazeutisch übliche Träger- und/oder Hilfsstoffe.
4. Pharmazeutische Zubereitungen zur Behandlung von Immunerkrankungen und/oder Virusinfektionen bei Mensch und Tier, gemäß der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet,** daß sie eine oder mehrere Verbindungen der allgemeinen Formel II, worin R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen, oder deren Tautomere enthalten und erwünschtenfalls inerte, pharmazeutisch übliche Träger- und/oder Hilfsstoffe.
5. Pharmazeutische Zubereitungen zur Behandlung von Immunerkrankungen und/oder Virusinfektionen bei Mensch und Tier gemäß der Ansprüche 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet,** daß sie 3-(2-Mercapto-ethyl)-chinazolin-2,4(1H,3H)-dion oder dessen Tautomeres enthalten und erwünschtenfalls inerte, pharmazeutisch übliche Träger- und/oder Hilfsstoffe.
6. Verfahren zur Herstellung von pharmazeutischen Zubereitungen zur Behandlung von Immunerkrankungen und/oder Virusinfektionen bei Mensch und Tier nach den Ansprüchen 1 bis 5, **dadurch gekennzeichnet,** daß man eine oder mehrere Verbindungen der allgemeinen Formel I in Anspruch 1 oder deren Tautomere und/oder deren pharmazeutisch unbedenkliche Alkali- oder Ammoniumsalze in an sich bekannter Weise in eine für die medizinische Verabfolgung geeignete Darreichungsform wie Tabletten, Dragees, Kapseln, Suppositorien, Lösungen oder Ampullen bringt, erwünschtenfalls zusammen mit inerten, pharmazeutisch üblichen Träger- und/oder Hilfsstoffen.
7. Verfahren zur Herstellung von insbesondere immunstimulierend und/oder immunrestaurativ und/oder antiviral wirksamen Verbindungen der allgemeinen Formel I in Anspruch 1, worin die Reste R^1 bis R^3 und n die oben genannte Bedeutung besitzen oder deren Tautomere, **dadurch gekennzeichnet,** daß man entweder
   a) 2H-3,1-Benzoxazin-2,4(1H)-dione der allgemeinen Formel III, worin R^1 die oben genannte Bedeutung besitzt, mit einem Aminoalkanol der allgemeinen Formel IV, worin R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen, in vorzugsweise wäßrigem Reaktionsmilieu zu einer Verbindung der allgemeinen Formel V, worin R^1, R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen, umsetzt, anschließend eine Reaktionslösung aus einem C_1–C_3-Alkanol, Schwefelkohlenstoff und Kalium- oder Natriumhydroxid, beziehungsweise Natrium- oder Kaliumethylxanthogenat, zugibt, das Reaktionsgemisch erhitzt, vorzugsweise bis zum Rückfluß, anschließend abkühlt, ansäuert, die erhaltenen Verbindungen der allgemeinen Formel IV, worin R^1, R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen, zunächst mit konzentrierten Mineralsäuren wie Salzsäure oder Schwefelsäure oder Mischungen dieser Mineralsäuren mit Eisessig und/oder Ameisensäure erhitzt und im Regelfall durch nachfolgende Zugabe von Wasser zum Reaktionsansatz und erneutes Erhitzen unter Rückfluß zu den Verbindungen der allgemeinen Formel I, oder deren Tautomere, worin R^2 Wasserstoff bedeutet und R^1, R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen, umsetzt, oder daß man

b) 4H-3,1-Benzothiazin-2,4(1H)-dithione der allgemeinen Formel VII, worin R^1 die oben genannte Bedeutung besitzt, mit einem Aminoalkanol der allgemeinen Formel IV, worin R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen, in einem polaren organischen Lösungsmittel erhitzt, die erhaltenen Verbindungen der allgemeinen Formel VIII, worin R^1, R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen, in wäßrig alkanolischem Reaktionsmilieu in Gegenwart eines Säureacceptors wie Alkalihydroxid oder Triethylamin mit einem Alkylhalogenid der allgemeinen Formel IX, worin R^4 C_1–C_3-Alkyl und X = I oder Br bedeutet, bei Raumtemperatur umsetzt, die erhaltenen Verbindungen der allgemeinen Formel X, worin R^1, R^3, R^4 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen, mit alkanolischen Mineralsäuren, vorzugsweise absoluter ethanolischer Salzsäure, in die tricyclischen Chinazoliniumsalze der allgemeinen Formel XI, worin die Reste R^1, R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen und Y ein Säureanion, vorzugsweise Cl, bedeutet, umsetzt und diese durch Behandlung in alkanolisch-wäßriger Natronlauge, nachfolgende Filtration und Ansäuern des Filtrates mit verdünnter Mineralsäure in die Verbindungen der allgemeinen Formel I, oder deren Tautomere, worin R^2 Wasserstoff bedeutet und R^1, R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen, überführt, oder daß man

c) 2H-3,1-Benzoxazin-2,4(1H)-dione der allgemeinen Formel XII, worin die Reste R^1 und R^2 die oben genannten Bedeutungen besitzen,
mit Bis(aminoalkyl)disulfanen der allgemeinen Formel XIII, oder deren Salzen, vorzugsweise deren Dihydrochloriden, worin R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen,
in einem Lösungsmittel umsetzt, die erhaltenen Verbindungen der allgemeinen Formel XIV, worin R^1, R^2, R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen,
mit Chlorameisensäurealkylestern der allgemeinen Formel XV, worin R^5 einen Alkylrest mit 1 bis 3 C-Atomen bedeutet, in einem Lösungsmittel- oder Lösungsmittelgemisch umsetzt und die erhaltenen Verbindungen der allgemeinen Formel XVI, worin R^1, R^2, R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen, gegebenenfalls gereinigt oder getrocknet, in einem Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisch mit nascierendem Wasserstoff in die Verbindungen der allgemeinen Formel I, oder deren Tautomere, worin R^1, R^2, R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen, überführt.

8. Verfahren nach Anspruch 7 a, **dadurch gekennzeichnet,** daß die aus den Umsetzungen der Verbindungen der allgemeinen Formel VI mit konzentrierten Mineralsäuren wie Salzsäure oder Schwefelsäure oder Mischungen dieser Mineralsäuren mit Eisessig und/oder Ameisensäure resultierenden Feststoffgemische separiert und nachfolgend durch Erhitzen in verdünnten Mineralsäuren in die Verbindungen der allgemeinen Formel I, oder deren Tautomere, übergeführt werden.
9. 3-(Mercaptoalkyl)-chinazolin-2,4(1H,3H)-dione der allgemeinen Formel I, worin
   R^1 = H oder F, Cl, Br, I oder CH_3 in 6- oder 8-Stellung oder 6,7-$(OCH_3)_2$
   R^2 = H, einen Alkylrest mit 1 bis 3 C-Atomen, den Phenyl- oder den Benzylrest
   R^3 = H oder CH_3
   n = 1 oder 2
   bedeuten oder ihre Tautomere.
10. Bis[(2-amino-benzoylamino)-alkyl]disulfane der allgemeinen Formel XIV, worin
   R^1 = H oder F, Cl, Br, I oder CH_3 in 5- oder 3-Stellung oder 4,5-$(OCH_3)_2$
   R^2 = H, einen Alkylrest mit 1 bis 3 C-Atomen, den Phenyl- oder den Benzylrest
   R^3 = H oder CH_3
   n = 1 oder 2
   bedeuten.
11. Bis[(2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-chinazolin-3-yl)-alkyl]disulfane der allgemeinen Formel XVI, worin
   R^1 = H oder F, Cl, Br, I oder CH_3 in 6- oder 8-Stellung oder 6,7-$(OCH_3)_2$
   R^2 = H, einen Alkylrest mit 1 bis 3 C-Atomen, den Phenyl- oder den Benzylrest
   R^3 = H oder CH_3
   n = 1 oder 2
   bedeuten.

Hierzu 3 Seiten Formeln

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft pharmazeutische Zubereitungen zur Behandlung von Immunerkrankungen und/oder Virusinfektionen bei Mensch und Tiere, welche 3-(Mercaptoalkyl)chinazolin-2,4(1H,3H)-dione der allgemeinen Formel I enthalten, worin R^1 Wasserstoff oder F, Cl, Br, I, CH_3 in 6- oder 8-Stellung oder 6,7- $(OCH_3)_2$ und R^2 Wasserstoff oder einen Alkylrest mit 1 bis 3 C-Atomen, den Phenyl- oder den Benzylrest und R^3 Wasserstoff oder CH_3 und n 1 oder 2 bedeuten, oder deren Tautomere.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Verbindungen der allgemeinen Formel I sind in der Fach- und Patentliteratur bislang noch nicht beschrieben.
Es sind bereits Verfahren zur Herstellung von Arzneimitteln mit immunstimulierender und/oder immunrestaurativer Wirkung bekannt, die einen niedermolekularen Wirkstoff enthalten.
Als Arzneimittel werden derzeit vor allem Levamisole-hydrochloride und Inosine-benzoate verwendet.
Andere Wirkstoffe wie NPT 15392 (Erythro-9-(2-hydroxy-3-nonyl)-hypoxanthin), Azimexon und Ditiocarbum weisen ebenfalls immunstimulierende und/oder immunrestaurative Wirkungen auf. Arzneimittel, die diese letztgenannten Wirkstoffe enthalten, sind jedoch bisher nicht eingeführt.
Eine Standardisierung von bekannten und neuartigen Wirkstoffen, die im Sinne einer Stimulierung und/oder Restaurierung auf das Immunsystem wirken, ist derzeit nur schwer möglich. Das ergibt sich einmal aus der Komplexizität des Immunsystems mit seinen vielfältigen Regulations- und Gegenregulationsmechanismen und hängt zum anderen auch mit fehlenden, international verbindlich vereinbarten Versuchsbedingungen bei Labortieren bzw. ebensolchen Bedingungen für klinische Untersuchungen am Menschen zusammen.
Ferner werden die eingangs erwähnten Wirkstoffe hinsichtlich ihres immunstimulierenden und/oder immunrestaurierenden Wirkungsmechanismus weiterhin vertieft untersucht.
Einer umfassenden Vergleichbarkeit immunstimulierend und/oder immunrestaurierend wirkender Verbindungen steht auch die unterschiedliche Beeinflussung der verschiedenen immunkompetenten Zellen durch die betreffenden Wirkstoffe entgegen, woraus sich eine nicht gleichartige Einflußnahme auf spezifische und unspezifische Abwehrmechanismen ergibt.
So wirkt zum Beispiel Levamisole hydrochloride vorwiegend immunrestaurierend bei immunsupprimierten Organismen. Bei nur geringem Einfluß auf die humorale Antwort werden vorwiegend T-Zellen stimuliert. Eine Aktivierung unspezifischer Abwehrmechanismen ist durch Stimulierung der Phagozytose sowie der Proliferation und Bakterizidie von Makrophagen gegeben.
Inosine-benzoate dagegen zeigt vor allem eine immunstimulierende Wirkung unter anderem durch Steigerung der humoralen Immunantwort. Die Proliferation und Differenzierung der T-Lymphozyten werden ebenso gesteigert wie die über Lymphokin-Induktion vermittelte Makrophagenfunktion.
Trotz der erzielten Fortschritte auf dem Gebiet der Entwicklung von immunstimulierend und/oder immunrestaurierend wirkenden Substanzen weisen die wenigen bislang bekannten Verfahren zur Bereitstellung derartiger Arzneistoffe Nachteile auf.
So ruft das durch Diastereomerentrennung des racemischen Tetramisole hydrochloride erhältliche optische Isomer Levamisole hydrochloride nach oraler Applikation beim Menschen einen bittermetallischen Geschmack hervor und kann zum Erbrechen, Nausea, Leukopenie und Agranulozytose führen. Weiterhin weist Levamisole hydrochloride eine bemerkenswerte Abhängigkeit in der Wirkung von genetischen Faktoren, Alter und Geschlecht der Patienten auf.
Das in relativ hohen Dosen zu verabreichende Inosine-benzoate (50 mg/kg/d) kann zum Erbrechen, Hyperurikämie und Haematokritanstieg führen. Beim Azimexon werden Kopfschmerz, Erbrechen, Hb- und Erythrozyten-Abnahme als Nebenwirkung beobachtet.
Gründe für die genannten Nachteile sind in der Art der bisher verwendeten Wirkstoffe zu suchen.

Ziel der Erfindung

Es ist das Ziel der Erfindung, Arzneimittel zur Behandlung von Immunerkrankungen und/oder Virusinfektionen bei Mensch und Tier zu entwickeln sowie Verfahren zu ihrer Herstellung. Insbesondere wird das Ziel verfolgt, neue Arzneimittel mit immunstimulierender und/oder immunrestaurativer Wirkung für Mensch und Tier bereitzustellen, die zu einer erhöhten spezifischen und unspezifischen Abwehrlage führen.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Die Erfindung hat die Aufgabe, neue chemische Substanzen aufzufinden, die immunstimulierende und/oder immunrestaurative und/oder antivirale Wirkungen besitzen, wenn sie dem menschlichen oder einem tierischen Körper zugeführt werden. Es ist weiter die Aufgabe dieser Erfindung, Verfahren zur Herstellung solcher Verbindungen als auch entsprechender Arzneimittel zu entwickeln, welche diese Verbindungen enthalten.
Als pharmazeutische Zubereitungen im Sinne dieser Erfindung eignen sich alle üblichen Darreichungsformen wie Tabletten, Dragees, Kapseln, Suppositorien, Lösungen oder Ampullen.
Ihre Herstellung, erfolgt nach in der pharmazeutischen Praxis allgemein üblichen Methoden, gegebenenfalls unter Einbeziehung von inerten, pharmazeutisch üblichen Träger- und/oder Hilfsstoffen.
Ein weiterer Bestandteil dieser Erfindung besteht in der Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel I oder deren Tautomere sowie deren pharmazeutisch unbedenklicher Alkali- oder Ammoniumsalze.
Die Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel I oder deren Tautomere kann auf unterschiedliche Weise erfolgen.

So kann man entweder 2H-3,1-Benzoxazin-2,4(1H)-dione der allgemeinen Formel III, worin R^1 die oben genannte Bedeutung besitzt, mit einem Aminoalkanol der allgemeinen Formel IV, worin R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen, in vorzugsweise wäßrigem Reaktionsmilieu zu einer Verbindung der allgemeinen Formel V, worin R^1, R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen, umsetzen, anschließend eine Reaktionslösung aus einem C_1–C_3-Alkanol, Schwefelkohlenstoff und Kalium- oder Natriumhydroxid, beziehungsweise Natrium- oder Kaliumethylxanthogenat, zugeben, das Reaktionsgemisch erhitzen, vorzugsweise bis zum Rückfluß, anschließend abkühlen, ansäuern, die erhaltenen Verbindungen der allgemeinen Formel VI, worin R^1, R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen, zunächst mit konzentrierten Mineralsäuren wie Salzsäure oder Schwefelsäure oder Mischungen dieser Mineralsäuren mit Eisessig und/oder Ameisensäure erhitzen und durch nachfolgende Zugabe von Wasser zum Reaktionsansatz und erneutes Erhitzen unter Rückfluß zu den Verbindungen der allgemeinen Formel I, oder deren Tautomere, worin R^2 Wasserstoff bedeutet und R^1, R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen, umsetzen.
Weiterhin können 4H-3,1-Benzothiazin-2,4(1H)-dithione der allgemeinen Formel VII, worin R^1 die oben genannte Bedeutung besitzt, mit einem Aminoalkanol der allgemeinen Formel IV, worin R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen, in einem polaren organischen Lösungsmittel erhitzt werden, die erhaltenen Verbindungen der allgemeinen Formel VIII, worin R^1, R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen, in wäßrig-alkanolischem Reaktionsmilieu in Gegenwart eines Säureacceptors wie Alkalihydroxid oder Triethylamin mit einem Alkylhalogenid der allgemeinen Formel IX, worin R^4 C_1–C_3-Alkyl und X = I oder Br bedeutet, bei Raumtemperatur umgesetzt werden, die erhaltenen Verbindungen der allgemeinen Formel X, worin R^1, R^3, R^4 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen, mit alkanolischen Mineralsäuren, vorzugsweise mit absoluter ethanolischer Salzsäure, in die tricyclischen Chinazoliniumsalze der allgemeinen Formel XI, worin R^1, R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen und Y ein Säureanion, vorzugsweise Cl, bedeutet, umgesetzt werden und diese durch Behandlung in ethanolisch-wäßriger Natronlauge, nachfolgende Filtration und Ansäuern des Filtrates mit verdünnter Mineralsäure in die Verbindungen der allgemeinen Formel I, oder deren Tautomere, worin R^2 Wasserstoff bedeutet und R^1, R^3 und n die oben genannten Bedeutungen haben, übergeführt werden.
Man kann aber auch 2H-3,1-Benzoxazin-2,4(1H)-dione der allgemeinen Formel XII, worin R^1 und R^2 die oben genannten Bedeutungen besitzen, mit Bis(aminoalkyl)disulfanen der allgemeinen Formel XIII, oder deren Salzen, vorzugsweise deren Dihydrochloriden, worin R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen, in einem Lösungsmittel umsetzen, die erhaltenen Verbindungen der allgemeinen Formel XIV, worin R^1, R^2, R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen, mit Chlorameisensäurealkylestern der allgemeinen Formel XV, worin R^5 einen Alkylrest mit 1 bis 3C-Atomen bedeutet, in einem Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisch umsetzen und die erhaltenen Verbindungen der allgemeinen Formel XVI, worin R^1, R^2, R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen, gegebenenfalls gereinigt oder getrocknet, in einem Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisch mit nascierendem Wasserstoff in die Verbindungen der allgemeinen Formel I, oder deren Tautomere, worin R^1, R^2, R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen, überführen.
Die einzelnen Verfahrensstufen dieser genannten Synthesewege lassen sich im allgemeinen in weiten Grenzen variieren.
So lassen sich zum Beispiel die aus den Umsetzungen der Verbindungen der allgemeinen Formel VI mit konzentrierten Mineralsäuren wie Salzsäure oder Schwefelsäure oder Mischungen dieser Mineralsäuren mit Eisessig und/oder Ameisensäure resultierenden Feststoffgemische separieren und nachfolgend durch Erhitzen in verdünnten Mineralsäuren zu den Verbindungen der allgemeinen Formel I, oder deren Tauto... ...worin R^1, R^3 und n die oben genannten Bedeutungen besitzen und R^2 Wasserstoff bedeutet, umsetzen.
Die Position des Restes beziehungsweise der Reste R^1 in den Verbindungen der allgemeinen Formel V, XI, XIV ergibt sich aus der angegebenen Position des Restes beziehungsweise der Reste R^1 in den Verbindungen der allgemeinen Formel I, III, VI, VII, VIII, X, XII, XVI.
Cherbuliez et al. (Helv. chim. Acta 50 [1967] 1440) haben drei Verbindungen der allgemeinen Formel VI zweistufig zu (tautomeren) 2-(o-Carboxyphenylamino)-4,5-dihydro-thiazolen beziehungsweise -5,6-dihydro-4H-1,3-thiazin umgesetzt und strukturanalytisch (Elementaranalyse, ^{1}H-NMR, UV, IR) gesichert.
Die Verbindungen der allgemeinen Formel XIV weisen immunstimulierende und/oder immunrestaurative Wirkungen auf.
Die Verbindungen der allgemeinen Formel XVI weisen antivirale Wirkungen auf.
Ein weiterer Bestandteil der Erfindung besteht in den 3-(Mercaptoalkyl)chinazolin-2,4(1H,3H)-dionen der allgemeinen Formel I, worin R^1 Wasserstoff oder F, Cl, Br, I, CH_3 in 6- oder 8-Stellung oder 6,7-$(OCH_3)_2$ Wasserstoff oder einen Alkylrest mit 1 bis 3C-Atomen, den Phenyl- oder den Benzylrest und R^3 Wasserstoff oder CH_3 und n = 1 oder 2 bedeuten, oder deren Tautomere, sowie deren Alkali- oder Ammoniumsalzen.
Weitere Bestandteile der Erfindung bestehen in den Bis[2-(2-amino-benzoylamino)-alkyl]disulfanen der allgemeinen Formel XIV, worin R^1 Wasserstoff oder F, Cl, Br, I, CH_3 in 5- oder 3-Stellung oder 4,5-$(OCH_3)_2$ und R^2 Wasserstoff oder einen Alkylrest mit 1 bis 3C-Atomen, den Phenyl- oder den Benzylrest und R^3 Wasserstoff oder CH_3 und n = 1 oder 2 bedeuten, und in den Bis[2-(2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrochinazolin-3-yl)alkyl]disulfanen der allgemeinen Formel XVI, worin R^1 Wasserstoff oder F, Cl, Br, I, CH_3 in 6- oder 8-Stellung oder 6,7-$(OCH_3)_2$ und R^2 Wasserstoff oder einen Alkylrest mit 1 bis 3C-Atomen, den Phenyl- oder den Benzylrest und R^3 Wasserstoff oder CH_3 und n = 1 oder 2 bedeuten.

Ausführungsbeispiele

Die Erfindung soll nachfolgend an Ausführungsbeispielen näher erläutert werden.

Beispiel 1

3-(2-Mercaptoethyl)-chinazolin-2,4(1H,3H)-dion (I; R^1 = H, R^2 = H, R^3 = H, n = 1)

1.1. 3-(2-Hydroxyethyl)-2-methylthio-chinazolin-4(3H)-thion (X; R^1 = H, R^3 = H, R^4 = CH_3, n = 1)
2,4g (10mmol) 3-(2-Hydroxyethyl)-chinazolin-2,4(1H,3H)-dithion (VIII; R^1 = H, R^3 = H, n = 1) werden in methanolischer Natronlauge (20ml 0,5N NaOH und 7ml CH_3OH) gelöst, mit 1,6g Methyliodid (IX; R^4 = CH_3, X = I) versetzt und 30min im

verschlossenen Gefäß bei Raumtemperatur intensiv mechanisch geschüttelt. Der gebildete Niederschlag wird abgetrennt und mit wenig 50%igem Methanol gewaschen und getrocknet. Gelbe Kristalle.
$C_{11}H_{12}N_2OS_2$ (252,4). Schmelzpunkt: 117–118°C (CH_3OH). Ausbeute: 92%.

1.2. 2,3-Dihydro-5-oxo-6H-thiazolo/3,2-c/chinazolin-4-iumchloridhydrat
(XI; R^1 = H, R^3 = H, n = 1, Y = Cl)
505 mg der nach 1.1. hergestellten, dc-reinen Verbindung werden in 9 ml methanolischer Salzsäure (30 g HCl-Gas/200 ml absolutem Methanol) gelöst und im verschlossenen Gefäß zunächst 24 h bei Raumtemperatur und weitere 24 h bei –20°C aufbewahrt. Der gebildete Niederschlag wird mit absolutem Diethylether gewaschen und im Vakuumexsikkator (KOH/H_2SO_4) getrocknet. Es werden 340–380 mg 2,3-Dihydro-5-oxo-thiazolo/3,2-c/chinazolin-4-ium-chloridhydrat erhalten. Gelbe Kristalle. $C_{10}H_9ClN_2OS \cdot H_2O$ (258,7). IR: CO-Bande bei 1740 cm^{-1}. MS: m/e 204 (Molekülionenpeak der zugrunde liegenden Base).

1.3. 3-(2-Mercaptoethyl)-chinazolin-2,4(1H,3H)-dion (I; R^1 = H, R^2 = H, R^3 = H, n = 1)
700 mg der nach 1.2. erhaltenen Verbindung werden in ethanolischer Natronlauge (5 ml 3 N NaOH, 35 ml Wasser und 20 ml Ethanol) unter Rühren gelöst. Nach etwa 15 Minuten wird die Reaktionslösung filtriert und zu dem farblosen Filtrat unter Rühren bis zur Beendigung der Niederschlagsbildung verdünnte Salzsäure zugefügt. Der gebildete Niederschlag wird gründlich mit Wasser gewaschen und im Vakuumexsikkator (konzentrierte H_2SO_4) getrocknet. Es werden 610 mg dc-reines (Fließmittel: Toluen/Aceton/Methanol [7:3:1; v/v/v]) Finalprodukt erhalten. Farblose Kristalle. $C_{10}H_{10}N_2O_2S$ (222,2). Schmelzpunkt: 192–193°C ($CHCl_3$/Petrolether).
Ein weiterer Anteil an Finalprodukt, mit geringen Teilen Bis[2-(2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-chinazolin-3-yl)ethyl]-disulfan (XVI; R^1 = H, R^2 = H, R^3 = H, n = 1) verunreinigt, kann dadurch gewonnen werden, indem das nach Abtrennung des kristallinen Thiazolochinazoliniumchloridhydrates erhaltene Filtrat bis zur Trockne eingeengt und der Rückstand in analoger Weise, wie unter 1.3. beschrieben, behandelt wird.

Beispiel 2

3-(3-Mercapto-prop-1-yl)-6,7-dimethoxy-chinazolin-2,4-(1H,3H)-dion
(I; R^1 = 6,7-Dimethoxy, R^2 = H, R^3 = H, n = 2)

2.1. 6,7-Dimethoxy-2-thioxo-3,1-benzoxazin-4(1H)-on
12,5 g (0,15 mol) Thiophosgen werden als 10%ige Dioxanlösung zur Mischung aus 19,9 g (0,1 mol) 2-Amino-4,5-dimethoxy-benzoesäure, 200 ml Dioxan und 32 g (0,3 mol) Triethylamin unter Eiskühlen und Rühren zugetropft. Das Rühren wird 3 h bei Raumtemperatur fortgesetzt. Anschließend wird der Reaktionsansatz mit 1 000 ml Wasser versetzt und mit verdünnter Salzsäure angesäuert. Der gebildete Niederschlag wird aus Dioxan/Wasser umkristallisiert. Gelbe Kristalle.
$C_{10}H_9NO_4S$ (239,2). Schmelzpunkt: 211–213°C (Dioxan/Wasser). Ausbeute: 75%.

2.2. 6,7-Dimethoxy-3,1-benzothiazin-2,4(1H)-dithion
(VII; R^1 = 6,7-Dimethoxy)
2,0 g des nach 2.1. erhaltenen 3,1-Benzoxazin-Derivates werden in der gerade ausreichenden Menge Pseudocumen heiß gelöst, mit 2,0 g Phosphor(V)-sulfid versetzt und 20 min rückfließend erhitzt. Nach Zugabe von weiteren 1,0 g Phosphor(V)-sulfid wird weitere 15 min am Rückflußkühler erhitzt. Die noch heiße Reaktionslösung wird filtriert. Nach 12stündigem Stehen wird der Niederschlag abgesaugt, mit wenig Methanol gewaschen und in 0,5 N Natronlauge gelöst. Danach wird ohne Verzug die alkalische Lösung in überschüssige verdünnte Salzsäure filtriert und der gebildete Niederschlag mit Wasser gewaschen.
Rote Kristalle. $C_{10}H_9NO_2S_3$ (271,4). Schmelzpunkt: 247–249°C (Ethylacetat). Ausbeute: 60%.

2.3. 3-(3-Hydroxy-prop-1-yl)-6,7-dimethoxy-chinazolin-2,4(1H,3H)-dithion
(VIII; R^1 = 6,7-Dimetoxy, R^3 = H, n = 2)
2,7 g (10 mmol) des nach 2.2. erhaltenen 3,1-Benzothiazin-Derivates werden zusammen mit 1,2 g Triethylamin, 0,82 g (11 mmol) 3-Amino-propan-1-ol (IV; R^3 = H, n = 2) und 12 ml Ethanol 2 h bei 60°C am Rückflußkühler erhitzt. Nach dem Erkalten wird mit verdünnter Salzsäure angesäuert, der Niederschlag nach 12 h abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Gelborangefarbene Kristalle.
$C_{13}H_{16}N_2O_3S_2$ (312,4). Schmelzpunkt: 239°C (Propan-2-ol). Ausbeute: 61%.
Die weitere Umsetzung des nach 2.3. erhaltenen Dithions zum Finalprodukt erfolgt in analoger Weise wie bei Beispiel 1 unter 1.1. bis 1.3. aufgeführt:

2.4. 3-(3-Hydroxy-prop-1-yl)-6,7-dimethoxy-2-methylthio-chinazolin-4(3H)-thion
(X; R^1 = 6,7-Dimethoxy, R^3 = H, R^4 = CH_3, n = 2)
Gelbe Kristalle. $C_{14}H_{18}N_2O_3S_2$ (326,4). Schmelzpunkt: 168–170°C (Ethanol). Ausbeute: 76%.

2.5. 3,4-Dihydro-9,10-dimethoxy-6-oxo-2H,7H-1,3-thiazino/3,2-c/chinazolin-5-iumchlorid
(XI; R^1 = 9,10-Dimethoxy, R^3 = H, n = 2, Y = Cl)
Gelbliche Kristalle. $C_{13}H_{15}ClN_2O_3S$ (314,8). IR: CO-Bande bei 1720 cm^{-1}. Schmelzpunkt: 197–198°C (nach Waschen mit Diethylether). Ausbeute: 74%.

2.6. 3-(3-Mercapto-prop-1-yl)-6,7-dimethoxy-chinazolin-2,4(1H,3H)-dion
(I; R^1 = 6,7-Dimethoxy, R^2 = H, R^3 = H, n = 2)
Farblose Kristalle. $C_{13}H_{16}N_2O_4S$ (296,3). Schmelzpunkt: 236°C (Methylglycol). IR: SH-Bande bei 2540 cm^{-1}. Ausbeute: 81%.

Beispiel 3

3-(2-Mercaptoethyl)-6,7-dimethoxy-chinazolin-2,4(1H,3H)-dion
(I; R^1 = 6,7-Dimethoxy, R^2 = H, R^3 = H, n = 2)
Farblose Kristalle. $C_{12}H_{14}N_2O_4S$ (282,4). IR: SH-Bande bei 2520 cm^{-1}; CO-Banden bei 1697 und 1645 cm^{-1}.
Schmelzpunkt: 312–314°C (Chloroform/Petrolether). Ausbeute: 84% (bezogen auf den letzten Syntheseschritt).
Die Darstellung dieser Verbindung erfolgte aus 6,7-Dimethoxy-3,1-benzothiazin-2,4(1H)-dithion und 2-Amino-ethan-1-ol analog den Beispielen 1 und 2. Dabei wurden folgende Zwischenstoffe isoliert und charakterisiert:

3.1. 3-(2-Hydroxyethyl)-6,7-dimethoxy-chinazolin-2,4-(1H,3H)-dithion
(VIII; R^1 = 6,7-Dimethoxy, R^3 = H, n = 1)
Gelborangefarbene Kristalle. $C_{12}H_{14}N_2O_3S_2$ (298,4). Schmelzpunkt: 181–183°C (Dioxan/Wasser). Ausbeute: 92%.

3.2. 3-(2-Hydroxyethyl)-6,7-dimethoxy-2-methylthio-chinazolin-4(3H)-thion
(X; R^1 = 6,7-Dimethoxy, R^3 = H, R^4 = CH_3, n = 1)
Gelbe Kristalle. $C_{13}H_{16}N_2O_3S_2$ (312,4). Schmelzpunkt: 187–188°C (Propan-2-ol). Ausbeute: 72%.

3.3. 8,9-Dimethoxy-5-oxo-2,3-dihydro-6H-thiazolo/3,2-c/-chinazolin-4-ium-chlorid
(XI; R^1 = 8,9-Dimethoxy, R^3 = H, n = 1, Y = Cl)
Gelbliche Kristalle. $C_{12}H_{13}ClN_2O_3S$ (300,8).
IR: CO-Bande bei 1715 cm^{-1}. Schmelzpunkt: 201–205°C (nach Waschen mit Diethylether). Ausb.: 67%.

Beispiel 4

3-(2-Mercaptoethyl)-chinazolin-2,4(1H,3H)-dion
(I; R^1 = H, R^2 = H, R^3 = H, n = 1)

4.1. Bis[2-(2-amino-benzoylamino)-ethyl]disulfan
(XIV; R^1 = H, R^2 = H, R^3 = H, n = 1)
6,5 g (40 mmol) 2H-3,1-Benzoxazin-2,4(1H)-dion (XII; R^1 = H, R^2 = H) werden in 30 ml Dimethylformamid und damit der aus 4,5 g (20 mmol) Cystaminiumchlorid (Cystamindihydrochlorid; XIII; R^3 = H, n = 1 · 2HCl), 20 ml Dimethylformamid und 6 g (60 mmol) Triethylamin bereiteten Suspension versetzt. Der Ansatz wird 45 min im Wasserbad auf 70°C erwärmt. Nach dem Erkalten wird der Niederschlag abgetrennt und mit 20 ml Dimethylformamid gewaschen. Das Filtrat und die Waschlösung werden vereinigt und in 150 ml H_2O gegossen. Nach mehrstündiger Aufbewahrung im Kühlschrank wird der Niederschlag abgesaugt, mit H_2O gewaschen und getrocknet. Es werden 7,0 g (90% der Theorie) dc-reines Bis[2-(2-amino-benzoylamino)ethyl]disulfan erhalten, das ohne weitere Reinigung für die nachfolgende Reaktion verwendet werden kann. Schmelzpunkt: 129–131°C (Ethanol/H_2O).

4.2. Bis[2-(2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-chinazolin-3-yl)-ethyl]disulfan
(XVI; R^1 = H, R^2 = H, R^3 = H, n = 1)
0,98 g (2,5 mmol) Bis 2-(2-amino-benzoylamino)ethyl disulfan werden in 10 ml Pyridin gelöst. Unter Eiskühlung wird 1 ml (10 mmol) Chlorameisensäureethylester (XV, R^5 = C_2H_5) zugetropft. Der Ansatz wird 1 h rückfließend erhitzt und nach dem Erkalten zu der aus 15 ml HCl (1 mol/l) und 10 ml Eiswasser bereiteten Mischung gegeben. Nach längerer Aufbewahrung im Kühlschrank wird der Niederschlag abgesaugt, mit H_2O gewaschen und getrocknet. Das erhaltene Zwischenprodukt wird in gepulverter Form in der Mischung aus 8 ml NaOH (3 mol/l) und 1,6 ml Ethanol suspendiert, 6 h in einem verschlossenen Reaktionsgefäß geschüttelt und weitere 24 h bei Raumtemperatur aufbewahrt. Es werden 30 ml warmes H_2O zugegeben und der Ansatz filtriert. Das Filtrat wird mit verdünnter HCl angesäuert, der Niederschlag wird abgesaugt und getrocknet. Es werden 0,85 g (77% der Theorie) dc-reines Bis-[2-(2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-chinazolin-3-yl)ethyl]-disulfan erhalten, das ohne weitere Reinigung für die nachfolgende Reaktion verwendet werden kann. Schmelzpunkt: 270–272°C (Propan-1-ol).

4.3. 3-(2-Mercaptoethyl)-chinazolin-2,4(1H,3H)-dion
(I; R^1 = H, R^2 = H, R^3 = H, n = 1)
200 mg des nach Beispiel 4.2. erhaltenen Produktes, 200 mg Zinkstaub und 12 ml Essigsäure werden 3 h rückfließend erhitzt. Der Ansatz wird mit der aus 16 ml HCl (1 mol/l) und 28 ml Wasser bereiteten Mischung versetzt und erneut zum Sieden gebracht. Es wird filtriert und das Filtrat 1–2 Tage in einem verschlossenen Gefäß im Kühlschrank aufbewahrt. Der Niederschlag wird abgesaugt und getrocknet. Ausbeute: 150 mg (75% der Theorie) dc-reines Produkt.
Schmelzpunkt: 193–195°C.

Beispiel 5

3-(2-Mercaptoethyl)-1-methyl-chinazolin-2,4(1H,3H)-dion
(I; R^1 = H, R^2 = CH_3, R^3 = H, n = 1)

5.1. Bis[2-(2-methylamino-benzoylamino)ethyl]disulfan
(XIV; R^1 = H, R^2 = CH_3, R^3 = H, n = 1)
Zu 7,1 g (40 mmol) 1-Methyl-2H-3,1-benzoxazin-2,4(1H)-dion (XII; R^1 = H, R^2 = CH_3) in 30 ml Dimethylformamid wird die aus 4,5 g (20 mmol) Cystaminiumchlorid, 20 ml Dimethylformamid und 4 g (40 mmol) Triethylamin bereitete Suspension gegeben. Der Ansatz wird 45 min im Wasserbad auf 70°C erwärmt. Nach dem Erkalten wird der Niederschlag abgetrennt und mit 20 ml Dimethylformamid gewaschen.
Das Filtrat und die Waschlösung werden vereinigt und in 150 ml Wasser gegossen. Nach mehrstündiger Aufbewahrung im Kühlschrank wird der Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Es werden 7,3 g (87% der Theorie) dc-reines Bis[2-(2-methylamino-benzoylamino)ethyl]disulfan erhalten, das ohne weitere Reinigung für die nachfolgende Reaktion verwendet werden kann. Schmelzpunkt: 110–110,5°C (Ethanol).

5.2. Bis[2-(1-methyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-chinazolin-3-yl)ethyl]disulfan
(XVI; R^1 = H, R^2 = CH_3, R^3 = H, n = 1)
1,05 g (2,5 mmol) der in Beispiel 5.1. erhaltenen Verbindung werden in 10 ml Pyridin gelöst. Unter Eiskühlung wird 1 ml (10 mmol) chlorameisensäureethylester zugetropft. Der Ansatz wird 1 h rückfließend erhitzt. Nach dem Erkalten wird filtriert und das Filtrat unter Kühlung mit 50 ml HCl (0,3 mol/l) versetzt. Es wird zweimal mit je 8 ml Chloroform ausgeschüttelt und der organische Extrakt viermal mit je 15 ml HCl (1 mol/l) und zweimal mit je 15 ml Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Abtrennung des Trockenmittels wird das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert und der Rückstand mit 8 ml NaOH (3 mol/l) und 1,6 ml Ethanol versetzt. Der Ansatz wird 6 h geschüttelt und weitere 24 h bei Raumtemperatur aufbewahrt. Der Niederschlag wird abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Es werden 0,97 g (82% der Theorie) dc-reines Bis[2-(1-methyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-chinazolin-3-yl)ethyl]-disulfan erhalten, das ohne weitere Reinigung für die nachfolgende Reaktion verwendet werden kann.
Schmelzpunkt: 186–187°C (Methylglycol/Propan-1-ol).

5.3. 3-(2-Mercaptoethyl)-1-methyl-chinazolin-2,4(1H,3H)-dion (I; R^1 = H, R^2 = CH_3, R^3 = H, n = 1)
200 mg des nach Beispiel 5.2. erhaltenen Produktes, 200 mg Zinkstaub und 12 ml Essigsäure werden 3 h rückfließend erhitzt. Der Ansatz wird mit der aus 16 ml HCl (1 mol/l) und 32 ml Wasser bereiteten Mischung versetzt und erneut zum Sieden gebracht. Es wird filtriert und das Filtrat 1–2 Tage in einem verschlossenen Gefäß im Kühlschrank aufbewahrt. Der Niederschlag wird abgesaugt und getrocknet. Es werden 165 mg (82% der Theorie) dc-reines 3-(2-Mercaptoethyl)-1-methyl-chinazolin-2,4(1H,3H)-dion erhalten.
Schmelzpunkt: 128–129°C.

Beispiel 6

1-Benzyl-3-(2-mercaptoethyl)chinazolin-2,4(1H,3H)-dion (I; R^1 = H, R^2 = Benzyl, R^3 = H, n = 1)

6.1. Bis[2-(2-benzylamino-benzoylamino)ethyl]disulfan
(XIV; R^1 = H, R^2 = Benzyl, R^3 = H, n = 1)
2,5 g (10 mmol) 1-Benzyl-2H-3,1-benzoxazin-2,4(1H)-dion (XII; R^1 = H, R^2 = Benzyl) werden in 12,5 ml Wasser suspendiert und mit der aus 1,1 g (5 mmol) Cystaminiumchlorid, 2,5 ml Wasser und 1 g (10 mmol) Triethylamin bereiteten Lösung versetzt. Die Mischung wird 45 min auf dem siedenden Wasserbad erhitzt, im Kühlschrank aufbewahrt und der Niederschlag wird abgesaugt. Nach Umkristallisation aus Ethanol werden 1,7 g (60% der Theorie) dc-reines Bis[2-(2-benzylamino-benzoylamino)ethyl]disulfan erhalten, das ohne weitere Reinigung für die nachfolgende Reaktion verwendet werden kann.
Schmelzpunkt: 126–127°C.

6.2. Bis[2-(1-benzyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-chinazolin-3-yl)ethyl]disulfan
(XVI; R^1 = H, R^2 = Benzyl, R^3 = H, n = 1)
1,43 g (2,5 mmol) des nach Beispiel 6.1. erhaltenen Produktes und 14 ml Chlorameisensäureethylester werden 2 h rückfließend erhitzt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum abdestilliert und der Rückstand nach dem Erkalten mit 8 ml NaOH (3 mol/l) und 1,6 ml Ethanol versetzt. Der Ansatz wird 6 h geschüttelt und weitere 24 h bei Raumtemperatur aufbewahrt. Der Niederschlag wird abgesaugt, mit Wasser gewaschen und aus Propan-1-ol umkristallisiert. Es werden 1,26 g (81% der Theorie) dc-reines Bis[2-(1-benzyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-chinazolin-3-yl)ethyl]disulfan erhalten, das ohne weitere Reinigung für die nachfolgende Reaktion verwendet werden kann.
Schmp.: 174–176°C (Propan-1-ol)

6.3. 1-Benzyl-3-(2-mercaptoethyl)-chinazolin-2,4(1H,3H)-dion
(I; R^1 = H, R^2 = Benzyl, R^3 = H, n = 1)
200 mg des nach Beispiel 6.2. erhaltenen Produktes, 200 mg Zinkstaub und 12 ml Essigsäure werden 2 h rückfließend erhitzt. Der Ansatz wird mit der aus 16 ml HCl (1 mol/l) und 4 ml Wasser bereiteten Mischung versetzt und erneut zum Sieden gebracht. Es wird filtriert und das Filtrat 1–2 Tage in einem geschlossenen Gefäß im Kühlschrank aufbewahrt. Der Niederschlag wird abgesaugt und getrocknet. Es werden 155 mg (77% der Theorie) dc-reines 1-Benzyl-3-(2-mercaptoethyl)-chinazolin-2,4(1H,3H)-dion erhalten.
Schmelzpunkt: 143–145°C.

Beispiel 7

3-(2-Mercaptoethyl)-1-phenyl-chinazolin-2,4(1H,3H)-dion
(I; R^1 = H, R^2 = Phenyl, R^3 = H, n = 1)
Schmelzpunkt: 208–210°C.
Ausbeute: 65% (bezogen auf den letzten Syntheseschritt).
Die Darstellung dieser Verbindung erfolgte analog den Beispielen 4, 5 und 6. Dabei wurden folgende Zwischenstoffe isoliert und charakterisiert:

7.1. Bis[2-(2-phenylamino-benzoylamino)ethyl]disulfan
(XIV; R^1 = H, R^2 = Phenyl, R^3 = H, n = 1)
Ausbeute: 50% (nach Umkristallisation aus Ethanol/Diethylether). Schmelzpunkt: 130–131°C (Ethanol).

7.2. Bis[2-(1-phenyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-chinazolin-3-yl)ethyl]disulfan
(XVI; R^1 = H, R^2 = Phenyl, R^3 = H, n = 1)
Ausbeute: 74% (nach Auskochen mit Methylglycol).
Schmelzpunkt: 277–280°C (Methylglycol).

Beispiel 8

3-(2-Mercaptoethyl)-8-methyl-chinazolin-2,4(1H,3H)-dion
(I; R^1 = 8-CH_3, R^2 = H, R^3 = H, n = 1)
Schmelzpunkt: 234–235°C.
Ausbeute: 73% (bezogen auf den letzten Syntheseschritt).
Die Darstellung dieser Verbindung erfolgte analog den Beispielen 4, 5 und 6. Dabei wurden folgende Zwischenstoffe isoliert und charakterisiert:

8.1. Bis[2-(2-amino-3-methyl-benzoylamino)ethyl]disulfan
(XIV; R^1 = 3-CH_3, R^2 = H, R^3 = H, n = 1)
Ausbeute: 72%. Schmelzpunkt: 152–154°C (Ethylacetat/Cyclohexan [1:1]).

8.2. Bis[2-(8-methyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-chinazolin-3-yl)ethyl]disulfan
(XVI; R^1 = 8–CH_3, R^2 = H, R^3 = H, n = 1)
Ausbeute: 68%. Schmelzpunkt: 280–282°C (Methylglycol/Propan-1-ol [1:1]).

Beispiel 9

6-Brom-3-(2-mercaptoethyl)-chinazolin-2,4(1H,3H)-dion
(I; R^1 = 6-Br, R^2 = H, R^3 = H, n = 1)
Schmelzpunkt: 298–300°C.
Ausbeute: 52% (bezogen auf den letzten Syntheseschritt).

Die Darstellung dieser Verbindung erfolgte analog den Beispielen 4, 5 und 6. Dabei wurden folgende Zwischenstoffe isoliert und charakterisiert:

9.1. Bis[2-(2-amino-5-brom-benzoylamino)ethyl]disulfan
(XIV; R^1 = 5-Br, R^2 = H, R^3 = H, n = 1)
Ausbeute: 47% (nach Umkristallisation aus Ethanol).
Schmelzpunkt: 190–195°C ($CHCl_3$/n-Hexan [1:1]).

9.2. Bis[2-(6-brom-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-chinazolin-3-yl)ethyl]disulfan
(XVI; R^1 = 6-Br, R^2 = H, R^3 = H, n = 1)
Ausbeute: 60% (nach Umkristallisation aus Dimethylformamid).
Schmelzpunkt: 334–336°C (Dimethylformamid).

Beispiel 10

3-(3-Mercaptopropyl)-chinazolin-2,4(1H,3H)-dion
(I; R^1 = R^2 = R^3 = H, n = 2)

24,5g 2H-3,1-Benzoxazin-2,4 (1H)-dion (III; R^1 = H) werden innerhalb von 20min in eine Lösung aus 12,3g 3-Amino-propan-1-ol (IV; R^3 = H, n = 2) und 45ml Wasser unter Rühren eingetragen und anschließend 10min auf dem siedenden Wasserbad erwärmt (= Lösung 1).

17,0g Kaliumhydroxid werden in 225ml Ethanol unter Erwärmen gelöst. Zu der erkalteten Lösung werden 36ml Schwefelkohlenstoff hinzugefügt. Danach wird der Ansatz 15min im verschlossenen Gefäß stehengelassen, mit der Lösung 1 vereinigt und anschließend unter einem Abzug 3,5h rückfließend erhitzt. Danach werden ca. 70–80ml des Lösungsmittelgemisches abdestilliert, der Reaktionsansatz nach dem Erkalten mit Eisessig angesäuert und mindestens 3h zur Kristallisation stehengelassen. Es werden 24,3g dc-reines Rohprodukt VI (R = R^3 = H, n = 2) vom Schmp. 174–176°C erhalten. Nach Zugabe von ca. 200ml Wasser zur Mutterlauge können weitere 4,0g dc nahezu reines Rohprodukt gewonnen werden. Eine Umkristallisation ist aus Ethanol möglich. 30,0g des vorstehend erhaltenen trockenen Rohproduktes werden unter einem Abzug zusammen mit 300ml konz. Salzsäure 2,5h rückfließend erhitzt. Dabei ist für eine Entsorgung der entweichenden HCl-Dämpfe zu sorgen. Anschließend werden zu dem Reaktionsansatz 2,7l hinzugefügt und weitere 20h am Rückflußkühler im Sieden gehalten. Nach dem Erkalten wird der Niederschlag abgesaugt, an der Luft oder bei ca. 30–40°C im Trockenschrank getrocknet. Die Umkristallisation erfolgt aus Propan-1-ol. Ausbeute Reinprodukt: 83%. Schmp.: 165–167°C.

In einer zweiten Verfahrensvariante können 30,0g VI (R^1 = R^3 = H, n = 2) mit der Mischung aus 30ml Eisessig und 12ml konz. Schwefelsäure erhitzt werden. Nach Zugabe von ca. 330ml Wasser wird das Erhitzen unter Rückfluß 15h fortgesetzt. Die Aufarbeitung und Reinigung erfolgt wie bei obiger Variante. Die Ausbeute an nahezu dc-reinem Rohprodukt beträgt 85%. Schmp. Reinprodukt: 165–167°C (Propan-1-ol).

Analog dieser zweiten Verfahrensvariante wurden u.a. auch dargestellt:

6-Brom-3-(3-mercaptopropyl)-chinazolin-2,4(1H,3H)-dion
(I; R^1 = 6-Br, R^2 = R^3 = H, n = 2) Schmp.: 220–221°C (Eisessig). Ausbeute: 84%.

Beispiel 11

3-(2-Mercaptopropyl)-chinazolin-2,4(1H,3H)-dion (I; R^1 = R^2 = H, R^3 = CH_3, n = 1)

24,5g 2H-3,1-Benzoxazin-2,4(1H)-dion (III; R^1 = H) werden analog Beispiel 10 mit 12,3g 2-Aminopropan-1-ol (IV; R^3 = CH_3, n = 1) zur Lösung 2 umgesetzt.

Unter Verwendung von 17,0g Kaliumhydroxid, 225ml Ethanol und 36ml Schwefelkohlenstoff (es kann auch die entsprechende Menge Kaliummethylxanthogenat zum Einsatz gelangen) wird entsprechend Beispiel 10 verfahren; mit der Lösung 2 vereinigt und erneut analog Beispiel 10 zum dc nahezu reinen Produkt VI (R^1 = R^2 = H, R^3 = CH_3, n = 1) umgesetzt. Eine Umkristallisation ist aus Methanol möglich.

30,0g vorstehend erhaltenen trockenen Rohprodukts werden in völliger analoger Weise wie im Beispiel 10 beschrieben, zu dem Mercaptopropylchinazolin I (R^1 = R^2 = H, R^3 = CH_3, n = 1) umgesetzt. Erhitzungsdauer mit konz. Salzsäure 2h, nach Wasserzugabe nochmals 15h. Nach Umkristallisation des trockenen Rohrprodukts aus Toluen werden 22,4g Reinprodukt (Ausbeute: 69%) vom Schmp. 206–208°C erhalten.

Beispiel 12

6-Chlor-3-(3-mercaptopropyl)-chinazolin-2,4 (1H,3H)-dion
(I; R^1 = 6-Cl, R^2 = R^3 = H, n = 2)

Die Darstellung erfolgt analog Beispiel 10 aus 12,5g 6-Chlor-2H-3,1-benzoxazin-2,4 (1H)-dion, 5,8g 3-Amino-propanol, 40ml Wasser sowie 7,0g Kaliumhydroxid, 100ml Ethanol und 7,5ml Schwefelkohlenstoff. Reaktionszeit: 4–4,5h. Es werden 35–40ml des Lösungsmittelgemischs abdestilliert und die Reaktionslösung filtriert. Das Filtrat wird mit Essigsäure angesäuert. Es werden 9,6g Rohprodukt VI (R^1 = 6-Cl, R^2 = R^3 = H, n = 2) erhalten. Nach Zugabe von ca. 150g Eis zum Filtrat werden weitere 1,1g Rohprodukt gewonnen. Eine Umkristallisation des Rohprodukts kann aus Propan-1-ol erfolgen. Schmp. (Reinprodukt): 255–257°C. 3,0g vorstehend hergestelltes Reinprodukt werden analog Beispiel 10 bzw. 11 zum Rohprodukt I (R^1 = 6-Cl, R^2 = R^3 = H, n = 2) umgesetzt. Nach Umkristallisation aus Propan-1-ol werden 1,96g Reinprodukt mit einer Ausbeute von 66% erhalten.

Die nachfolgenden Beispiele beschreiben die Herstellung von zwei pharmazeutischen Anwendungsformen:

Beispiel I

Tabletten mit 45,0mg 3-(2-Mercaptoethyl)chinazolin-2,4-(1H,3H)-dion
Zusammensetzung:
1 Tablette enthält 45,0g Wirkstoff, 35,0mg Lactose, 25,0mg Kartoffelstärke, 3,5mg Polyvinylpyrrolidon und 1,5mg Magnesiumstearat.

Herstellungsverfahren:
Der mit Kartoffelstärke und Lactose vermischte gepulverte Wirkstoff wird mit einer 20%igen ethanolischen Lösung des Polyvinylpyrrolidons gleichmäßig durchfeuchtet, durch ein Sieb der Maschenweite 1,5 mm gedrückt, bei 40°C getrocknet und erneut durch ein Sieb (Maschenweite 1,0 mm) gepreßt. Das erhaltene Granulat wird mit Magnesiumstearat gemischt und zu Tabletten verpreßt.
Tablettengewicht: 110 mg

Beispiel II
Dragees mit 30,0 mg 3-(2-Mercaptoethyl)chinzolin-2,4-(1H,3H)-dion
Zusammensetzung:
1 Drageekern enthält: 30,0 mg Wirkstoff, 30,0 mg Lactose, 16,5 mg Maisstärke, 2,8 mg Polyvinylpyrrolidon und 0,7 mg Magnesiumstearat.
Herstellungsverfahren:
Die mit Lactose und Maisstärke vermischte pulverförmige Wirksubstanz wird mit einer 20%igen ethanolischen Lösung des Polyvinylpyrrolidons gleichmäßig durchfeuchtet, durch ein Sieb der Maschenweite 1,5 mm gedrückt, bei 40°C getrocknet und nochmals durch ein Sieb (Maschenweite 1,0 mm) gepreßt.
Das erhaltene Granulat wird mit Magnesiumstearat gemischt und auf übliche Weise zu Drageekernen verpreßt.
Kerngewicht: 80,0 mg
Die hergestellten Drageekerne werden nach üblichen Verfahren mit einer Hülle überzogen und auf übliche Weise poliert.

Untersuchungen zur immunregulatorischen Wirksamkeit von 3-(Mercaptoalkyl)chinazolin-2,4(1H,3H)-dionen der allgemeinen Formel I
Einige der Verbindungen der allgemeinen Formel I wurden auf immunregulatorische Wirksamkeit getestet.
Der Nachweis einer immunregulatorischen Wirksamkeit wurde am Meerschweinchen (Albino-Koloniezucht) und u.a. mit Hilfe folgender Techniken geführt:
- Perkutaner Test zum Nachweis einer Kontaktüberempfindlichkeit vom verzögerten Typ (Effektor-T-Lymphozyten-Aktivität)
- Takatsy-Test zum Nachweis DNP-spezifischer Serumantikörper (Humorale Immunantwort)

Der Nachweis immunstimulierender Effekte wurde weiterhin an der Maus (Inzuchtstamm CBA) und u.a. mit Hilfe folgender Nachweismethoden geführt:
- Plaque-Test zum Nachweis von SE-spezifischen IgM- und IgG-PBZ
- Rosettentest

1. Perkutaner Test zum Nachweis einer Kontaktüberempfindlichkeit
Die epikutane Applikation von DNFB führt beim Meerschweinchen und bei der Maus zur Entwicklung einer verzögerten Überempfindlichkeit, eines Immunstatus, der an die klonale Vermehrung TNP-spezifischer T-Lymphozyten (T_{DTH}-Ly) gebunden ist. Erfolgt nach einer Latenzperiode von mindestens 5 Tagen eine erneute DNFB-Applikation, kommt es zu einer Freisetzung von Lymphokinen durch Reaktion mit den T_{DTH}-Ly dieses Hautbereiches und dadurch zu einer lokal begrenzten Entzündungsreaktion.
Sieben Tage nach der Immunisierung mit 1%igem DNFB wurden die Flanken der Versuchstiere enthaart und durch Aufbringen je eines Tropfens 0,5%, 0,1%, 0,05%, 0,025% und 0,01%iger DNFB-Lösung getestet. Die noch positive Konzentration ist dem Grad der Sensibilisierung umgekehrt proportional. Die Testergebnisse ergeben sich aus Stärke und Anzahl der positiven Hautreaktionen, der Stimulierungsindex (SI) aus dem Vergleich der Test- und Kontrolltiere.
Die Substanzbehandlung erfolgte peroral. Mittels Schlundsonde wurde eine tägliche Dosis von 2 mg/kg Körpermasse als Suspension in Wasser gegeben. Behandlungsdauer: Tag +1 (ein Tag nach der Immunisierung) bis +6. Die Kontrolltiere erhielten nur die eingesetzte Lactose.

2. Takatsy-Test
Nach Immunisierung mit Dinitrofluorbenzen kommt es beim Meerschweinchen auch zur Bildung DNP-spezifischer humoraler Antikörper, die bevorzugt der IgG_1-Subklasse angehören. 14 Tage nach primärer epikutaner Applikation von DNFB wurde den Versuchstieren Blut durch Herzpunktion entnommen. Die Bestimmung der Antikörperkonzentration erfolgte nach einer von Takatsy beschriebenen Methode (Takatsy, G.: A new method for the preparation of serial dilutions in a quick and accurate way. Kiserletes Orvostudomany **2** [1950] 263–396). Als Indikatorzellen wurden TNP-beladene Schaferytrozyten verwendet (Kopplung nach Rittenberg und Pratt; Rittenberg, M.B. and Pratt, K.L.: Antitrinitrophenyl (TNP) plaque assay. Primary response of BALB/c mice to soluble and particulate immunogen. Proc. Soc. exp. Biol. Med. **132** [1969] 575–579).

3. Ergebnisse

Tabelle: Sensibilisierungsgrad (%) und Serumantikörperkonzentration (AK-Titer-Differenz) gegenüber der jeweiligen Kontrollgruppe (Screening-Werte)

3-(Mercaptoalkyl)-chinazolin-2,4(1H,3H)-dion der allgemeinen Formel I	Kontaktdermatidis (Kontrolle: 100) 24-h-Reaktion	48-h-Reaktion	DNP-sper. Anti-körper
$R^1 = R^2 = R^3 = H, n = 2$	70	40	−1,5
$R^1 = R^2 = H, R^3 = CH_3, n = 1$	230		+1,8
$R^1 = 6\text{-}CH_3, R^2 = R^3 = H, n = 2$	120	130	+0,3
$R^1 = 6\text{-}H_3, R^2 = R^3 = H, n = 1$	60	60	−1,9
$R^1 = 8\text{-}CH_3, R^2 = R^3 = H, n = 1$	120	100	+0,3
$R^1 = 6\text{-}Cl, R^2 = R^3 = H, n = 1$	120	130	±0
$R^1 = 6\text{-}Cl, R^2 = R^3 = H, n = 2$	100	115	±0
$R^1 = 6\text{-}Br, R^2 = R^3 = H, n = 1$	150	120	−0,6
$R^1 = 6\text{-}Br, R^2 = R^3 = H, n = 2$	105	100	+2,2
$R^1 = 6\text{-}F, R^1 = R^2 = H, n = 1$	90	105	±0
$R^1 = 6\text{-}F, R^2 = R^3 = H, n = 2$	100	150	±0
$R^1 = 6,7\text{-}(OCH_3)_2$, $R^2 = R^3 = H, n = 1$	100		+1,0
$R^1 = 6,7\text{-}(OCH_3)_2$, $R^2 = R^3 = H, n = 2$	180		±0
$R^1 = 6,7\text{-}(OCH_3)_2$, $R^2 = H, R^3 = CH_3, n = 1$	100		±0
$R^1 = H, R^2 = CH_3, R^3 = H, n = 1$	150	150	+1,4
$R^1 = H, R^2 = CH_2C_6H_5$, $R^3 = H, n = 1$	160	150	+1,9
$R^1 = H, R^2 = C_6H_5, R^3 = H, n = 1$	120	100	+1,0

Aus den Werten wird deutlich, daß Verbindungen der allgemeinen Formel I einen gut nachweisbaren Effekt auf die Effektor-T-Lymphozyten-abhängige verzögerte Überempfindlichkeit haben. Kontaktdermatidis-Werte ab 120 (≙ 20% Steigerung gegenüber der Kontrolle) bzw. unter 80 werden als Nachweis eines stimulatorischen bzw. suppressorischen Effektes angesehen.
Antikörpertiter-Differenzen von $> +1$ bzw. < -1 verdeutlichen den stimulatorischen bzw. suppressorischen Effekt der Substanzen auf die humorale Immunantwort.

4. Plaque-Test zum Nachweis von SE-spezifischen IgM- und IgG-PBZ

Zur Prüfung immunstimulierender Effekte wurde u.a. auch der Einfluß von Verbindungen der allgemeinen Formel I auf die humorale Immunantwort an Mäusen des Inzuchtstammes CBA und mittels Hämolyse-Plaque-Test (HPT) untersucht. Diese Technik erlaubt die quantitative und getrennte Erfassung IgM- und IgG-Antikörper produzierender Zellen (= Plaque Bildende Zellen; PBZ). Die Immunisierung mit Schaferythrozyten (SE) erfolgte am Tag 0, die Substanzapplikation (Tagesdosis $1 \cdot 10^{-5}$ mol/kg Körpermasse; peroral) an den Tagen −1 bis +3 (zur Erfassung der IgM-PBZ) bzw. an den Tagen +1 bis +5 (zur Erfassung der IgG-PBZ).

5. Ergebnisse

Tabelle: Anzahl der IgM- bzw. IgG-PBZ/$1 \cdot 10^6$ kernhaltige Zellen (KHZ) im Vergleich zur Kontrollgruppe

3-(Mercaptoalkyl)-chinazolin-2,4(1H,3H)-dion der allgemeinen Formel I	Anzahl IgM-PBZ/$1 \cdot 10^6$ KHZ (Tag +4)	Anzahl IgG-PBZ/$1 \cdot 10^6$ KHZ (Tag +6)
$R^1 = H, R^2 = CH_3, R^3 = H, n = 1$	1050 ± 344*	7098 ± 1346*
$R^1 = H, R^2 = CH_2C_6H_5$, $R^3 = H, n = 1$	1228 ± 490*	4792 ± 1444**
Kontrolle	650 ± 274	3040 ± 1320

Aus den Werten wird deutlich, daß Verbindungen der allgemeinen Formel I eine signifikante Erhöhung der Zahl der IgM- bzw. IgG-PBZ hervorrufen (Irrtumswahrscheinlichkeit für Unterschiede zur Kontrollgruppe: * $P < 0,1\%$; ** $P < 1\%$).
Zur Prüfung auf immunstimulierende Effekte wurde u.a. auch der Einfluß der Verbindung der allgemeinen Formel I ($R^1 = R^2 = R^3 = H, n = 1$) auf die humorale Immunantwort an Mäusen des Inzuchtstammes CBA und mittels Hämolyse-Plaque-Technik untersucht. Die Immunisierung der Versuchstiere erfolgte durch intraperitoneale Injektion von $4 \cdot 10^8$ Schaferythrozyten (SE) in 0,2 ml phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS).
Durch tägliche und über 5 Tage gehende Gabe von 0,2 mg I ($R^1 = R^2 = R^3 = H, n = 1$)/kg Körpermasse konnte die Zahl der IgM-PBZ auf einen Durchschnittswert von 352% im Vergleich zur Kontrolle (= 100%) gesteigert werden. Die gleiche Form der

Behandlung führte zu einer Erhöhung der IgG-PBZ auf 497% (Kontrolle: 100%). In beiden Fällen erwies sich die Differenz zur Kontrolle im t-Test mit $p < 0,001$ als signifikant. Es wird deutlich, daß eine über 5 Tage gehende tägliche Behandlung mit der Verbindung der allgemeinen Formel I ($R^1 = R^2 = R^3 = H$, n = 1) bei der CBA-Maus eine hochsignifikante Steigerung SE-spezifischer IgM- und IgG-PBZ hervorruft.

6. Rosettentest (SE-spezifische Rosetten)

Nach der BURNETschen Theorie tragen die Lymphozyten auf ihrer Oberfläche Immunglobulin-Rezeptoren, die gegen ein bestimmtes Antigen gerichtet und durch eine Reaktion mit dem spezifischen Antigen nachweisbar sind. Die Bestimmung der Anzahl an rosettenbildenden Zellen (RBZ) kann als Maß für die Stärke einer anlaufenden Immunreaktion dienen und folgend auch Effekte im Sinne einer Suppression oder Stimulierung zellproliferativer Prozesse wiedergeben.
Drei Tage nach der intravenösen Immunisierung mit $2 \cdot 10^5$ Schaferytrozyten (SE) in 0,2 ml physiologischer Kochsalzlösung wurden die Versuchstiere durch Überstrecken getötet, die Milz entnommen und unter Zugabe von Parker-Medium (pH 7,4) durch Müller-Gaze gerieben. Die Arbeiten zur Gewinnung der Zellsuspension wurden im Eiswasserbad (ca. 0–4°C) durchgeführt. In einer Zählkammer nach Neubauer erfolgte die Bestimmung der Zelldichte und anschließend wurde die für alle Versuchsansätze konstante Zellzahl von $1 \cdot 10^7$ kernhaltige Zellen (KHZ)/ml Medium eingestellt. 0,9 ml der Milzzellsuspension ($1 \cdot 10^7$ KHZ/ml) wurden dann mit 0,1 ml einer 5%igen gewaschenen Schaferytrozytensuspension versetzt und 24 h bei 4°C inkubiert. Als Rosette wurde gewertet, wenn eine KHZ von mindestens 4 Erythrozyten umgeben war und die kernhaltige Zelle zu identifizieren war.

7. Ergebnisse

Nach oraler Gabe von Verbindungen der allgemeinen Formel I u. a. mit $R^1 = R^2 = R^3 = H$, n = 2; $R^1 = 6,7\text{-}(OCH_3)_2$, $R^2 = H$, $R^3 = CH_3$, n = 1 sowie $R^1 = 6,7\text{-}(OCH_3)_2$, $R^2 = R^3 = H$, n = 2 konnte eine signifikante Förderung SE-spezifischer rosettenbildender Zellen festgestellt werden.

8. Nachweis von immunrestaurativen Effekten

Der Nachweis der immunrestaurativen Wirksamkeit von Verbindungen der allgemeinen Formel I wurde u. a. dadurch geführt, daß das Immunsystem der Versuchstiere (CBA-Inzuchtmäuse) durch Chemotherapie (Zyklophosphamid, Carageenan, Iloprost) bzw. Behandlung geschädigt wurde. Die Prüfung erfolgte u. a. mittels folgender, oben erläuterter Techniken:
- Plaque-Test zum Nachweis von SE-spezifischen IgM- und IgG-PBZ
- Rosettentest

9. Ergebnisse

Der Nachweis immunrestaurativer Effekte der Verbindung der allgemeinen Formel I ($R^1 = R^2 = R^3 = H$, n = 1) wurde u. a. dadurch vorgenommen, daß das Immunsystem der Versuchstiere durch Zyklophosphamid (ZY) geschädigt wurde und die Prüfung anhand SE-spezifischer PBZ erfolgte.
Die Schädigung wurde durch Injektion von 150 mg ZY/kg Körpermasse am Tag vor der Immunisierung (–1) vorgenommen (Test- und Kontrollgruppe). Die Immunisierung erfolgte durch intraperitoneale Injektion von $4 \cdot 10^8$ SE in 0,2 ml PBS.
Die Versuchstiere der Testgruppe erhielten je 2 mg I ($R^1 = R^2 = R^3 = H$, n = 1)/kg Körpermasse an den Tagen –2, –1, 0, +1 und +2 durch orale Gabe. Mittels Plaque-Test wurden die SE-spezifischen IgM- und IgG-PBZ nachgewiesen.

Tabelle: Resultate (IgM-PBZ)

	IgM-PBZ/10^6 Milzzellen	
Tag der Testung	Kontrolle (nur ZY, kein I [$R^1 = R^2 = R^3 = H$, n = 1])	Test (ZY + I [$R^1 = R^2 = R^3 = H$, n = 1])
+3	37,5 ± 27,1	31,7 ± 26,6
+4	49,7 ± 32,9	59,8 ± 26,6
+5	56,8 ± 27,6	125,2 ± 32,7
+6	74,7 ± 73,4	47,8 ± 31,2

Unter dem Einfluß von I ($R^1 = R^2 = R^3 = H$, n = 1) kommt es zu einer meßbaren Erholung der immunologischen Reaktivität, die am Tag +5 mit $p < 0,05$ signifikant ist.

Tabelle: Resultate (IgG-PBZ)

	IgG-PBZ/10^6 Milzzellen	
Tag der Testung	Kontrolle (nur ZY, kein I [$R^1 = R^2 = R^3 = H$, n = 1])	Test (ZY + I [$R^1 = R^2 = R^3 = H$, n = 1])
+6	26,7 ± 12,1	88,3 ± 24,8
+7	46,7 ± 16,3	128,3 ± 28,6
+8	63,3 ± 24,2	58,3 ± 43,6

I ($R^1 = R^2 = R^3 = H$, n = 1) steigert die Anzahl der IgG-PBZ bei ZY-supprimierten Versuchstieren an den Tagen +6 und +7 signifikant ($p < 0,05$ bzw. $p < 0,01$).

Charakterisierung der antiviralen Wirksamkeit ausgewählter Verbindungen der allgemeinen Formel I
Nachweis der antihumanviralen und antizooviralen Wirkung

Der Nachweis der antihumanviralen und antizooviralen Wirkung erfolgte nach Auflösen der Testsubstanz in DMSO (50 mMol/l) und nachfolgender Verdünnung der Stammlösung von 1:200 bis 1:1600 mit üblichen physiologischen Medien. Bei dieser Verfahrensweise konnte eine unspezifische Wirkung des organischen Lösungsmittels vermieden werden.
Die antivirale Testung erfolgte in In-vitro-Hühnerembryonalzellen mit Vertretern der Virusgruppen Pox-, Influenza-, Herpes simplex- und Rhabdoviren sowie MDBK-Zellen (Rindernierenzellen), humane Fibroblasten/Rhabdo- und Coxsackieviren wie auch RH (Zellen) (Menschliche Nierenzellen) und Pox-, Herpes simplex- und Adenoviren in Einstufenreplikationszyklusversuchen

- nach Tonew und Tonew (Arch. ges. Virusforsch. **33**, 319–329, 1971),
  Plaquereduktionstesten durchgeführt nach Tonew und Tonew (Zbl. Bakter. Hyg. I. Orig. **211**, 437–444, 1969) wie auch im Mikrotitersystem Dynatech. nach Tonew und Glück (J. basic Microbiol. 1986; im Druck).
  Die Untersuchung der Zellverträglichkeit der Substanz wurde mit denselben Zellen durchgeführt (s. Beispielreihen 1, 2, 3, 4 und 5). Wie die Beispielreihen 1 bis 5 zeigen, sind die getesteten Verbindungen der allgemeinen Formel I in therapeutischen Konzentrationen zellverträglich und hemmen eine Reihe von Human- und Zooviren außerordentlich stark.

Beispielreihe 1

Bestimmungen der Zellverträglichkeit von 3-(2-Mercapto-ethyl)-chinazolin-2,4(1H,3H)-dion auf primären Hühnerembryonalzellen (2 Tage alt), RH (humane Nierenzellen Permanentzellinie), MDBK (bovine Nierenzellen Permanentzellinie) und Human Fibroblasten (2 Tage alt)

Zellen	Konzentration der Substanz in µmol/l im Erhaltungsmedium				
	1000	500	250	125	62,5
HEZ	+++	+	Ø	Ø	Ø
RH	+++	++	Ø	Ø	Ø
MDBK	++++	++	Ø	Ø	Ø
HFi	++	Ø	Ø	Ø	Ø

Ø = Am 5. Tag der mikroskopischen Ablesung keine morphologischen Veränderungen der Zellen.
++++ = Komplette Veränderungen der Zellschicht in Form von Abrundung, Granulierung und Ablösen der Zellen von der Glaswand;
+++ = analoge Veränderungen bei 3/4 des Zellrasens;
++ = analoge Veränderungen bei 1/2 des Zellrasens;
+ = analoge Veränderungen bei 1/4 des Zellrasens.

Beispielreihe 2

Ergebnisse antiviraler Wirkung von 3-(2-Mercapto-ethyl)chinazolin-2,4(1H,3H)-dion auf Hühnerembryonalzellen (HEZ) im Einstufenreplikationszyklus

Virus-Stamm	Konz. in µmol/l	Senkung des Virusertrages im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle in $\log_{10}TCID_{50}$/0,2 ml	% Hemmung
Vaccinia	250	5,67	>99,99
Lister	125	4,0	99,99
	62,5	2,5	99,68
	31,25	1,0	99,0
Influenza	250	6,23	>99,99
A/WSN	125	4,67	>99,99
	62,5	4,25	>99,99
	31,25	2,5	99,50
Herpes	250	1,0	99
simplex	125	0,33	n. s.
Typ 1			
Vesicular-	250	3,0	99,9
stomatitis	125	0,5	n. s.
Indiana			

Die Ergebnisse sind Mittelwerte aus drei Versuchen. Gegenüber Coxsackie A 9-Virus und Adeno-Virus Typ 4 erwies sich die Substanz als nicht antiviral wirksam.
Therapeutischer Index = Verhältnis zwischen maximal verträglicher und minimal wirksamer Dosis: für Vaccinia-Virus = 8; für Influenza-Virus = >8.

Beispielreihe 3
Ergebnisse antiviraler Wirkung von 3-(2-Mercapto-ethyl)chinazolin-2,4(1H,3H)-dion auf humanen Nierenzellen-Permanentzellinie im Einstufenreplikationszyklus

Virus-Stamm	Konz. in µmol/l	Senkung des Virusertrages im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle in $\log_{10}TCID_{50}$/0,2 ml	% Hemmung
Vaccinia	250	>4,0	>99,99
Lister	125	>4,0	>99,99
	62,5	4,0	99,99
	31,25	3,5	>99,9
Herpes	250	6,0	>99,99
simplex	125	5,5	>99,99
Typ 1			
Kupka	62,5	0,75	n. s.

Die Ergebnisse sind Mittelwerte aus zwei Versuchen.
n.s. = nicht signifikant.

Beispielreihe 4
Ergebnisse der antiviralen Wirkung von 3-(2-Mercapto-ethyl)-chinazolin-2,4(1H,3H)-dion im Plaquereduktionstest

Virus-Stamm	Konz. in µmol/l	Plaquereduktion in % zur Viruskontrolle auf primären HEZ
Vaccinia	250	100
Lister	125	96
	62,5	92
	31,25	87
Influenza	250	100
A/WSN	125	98
	62,5	92
	31,25	85
Vesicular-	250	45*
stomatitis	125	15
Indiana	62,5	0

Die Ergebnisse sind Mittelwerte aus zwei Versuchen;
* = keine signifikante Wirkung.

Beispielreihe 5a
Ergebnisse antiviraler Wirkung von 3-(3-Mercapto-prop-1-yl)-6,7-dimethoxy-chinazolin-2,4(1H,3H)dion auf humanen Nierenzellen Permanentzellinie im Einstufenreplikationszyklus

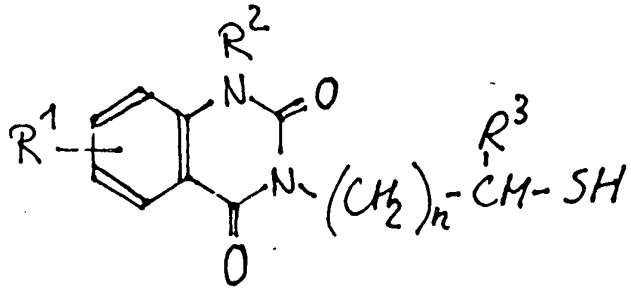
Virus-Stamm	Konz. in µmol/l	Senkung des Virusertrages im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle in $\log_{10}TCID_{50}$/0,2 ml	% Hemmung
Vaccinia	250	5,0	>99,99
Lister	125	5,0	>99,99
	62,5	5,0	>99,99
	31,25	2,84	99,84
Herpes	250	6,5	>99,99
simplex	125	6,5	>99,99
Typ 1	62,5	5,0	>99,99
	31,25	3,67	99,97
Influenza	250	6,17	99,99
A/WSN	125	2,0	99,0
	62,5	0,5	n. s.
	31,25	0	

n.s. = nicht signifikant.

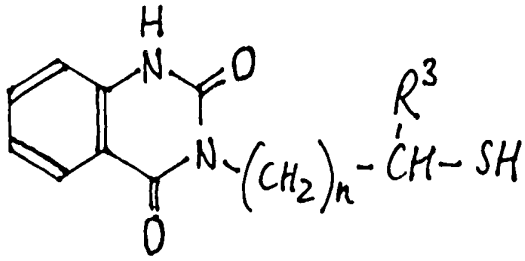
Beispielreihe 5b

Ergebnisse antiviraler Wirkung von 3-(3-Mercapto-prop-1-yl)-6,7-dimethoxy-chinazolin-2,4(1H,3H)dion auf Hühnerembryonalfibroblasten im Einstufenreplikationszyklus

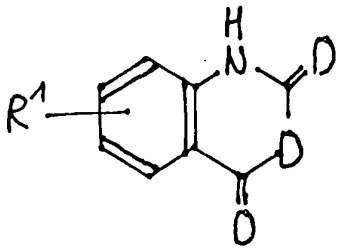
Virus-Stamm	Konz. in µmol/l	Senkung des Virusertrages im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle in $\log_{10}TCID_{50}$/0,2 ml	% Hemmung
Vaccinia	250	5,0	>99,99
Lister	125	5,0	>99,99
	62,5	3,5	99,93
	31,25	3,0	99,9
Influenza	250	5,0	>99,99
A/WSN	125	5,0	>99,99
	62,5	2,0	99,0



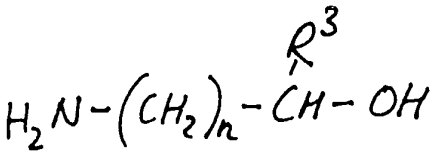
I



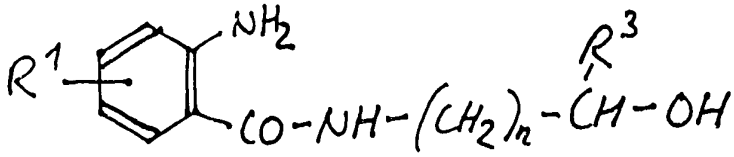
II



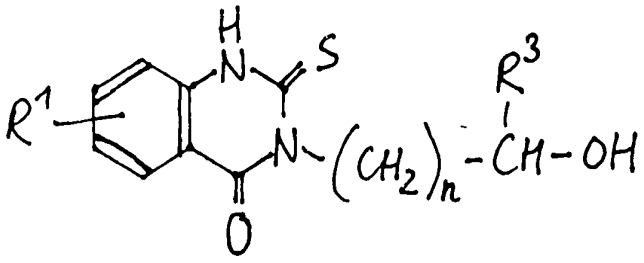
III



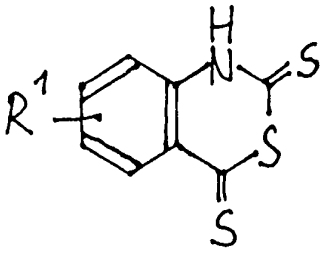
IV



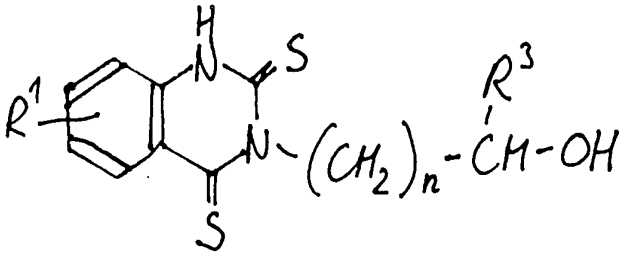
V



VI

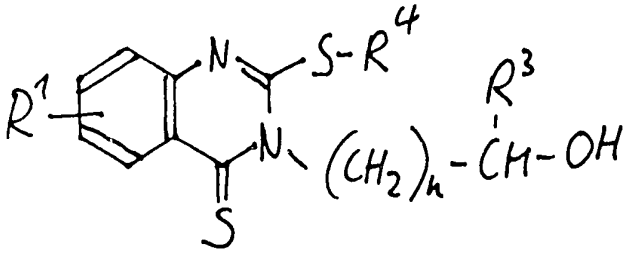


VII

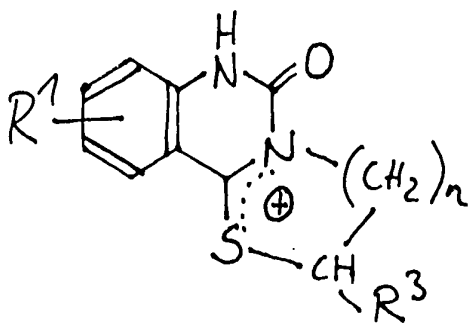


VIII

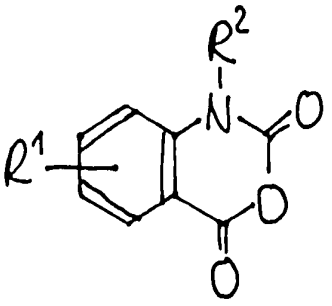
IX



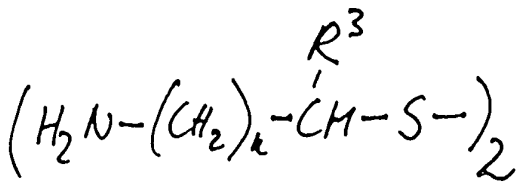
X



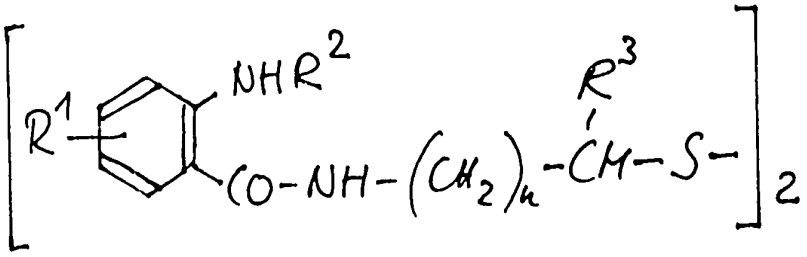
XI



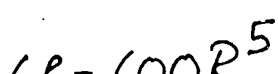
XII



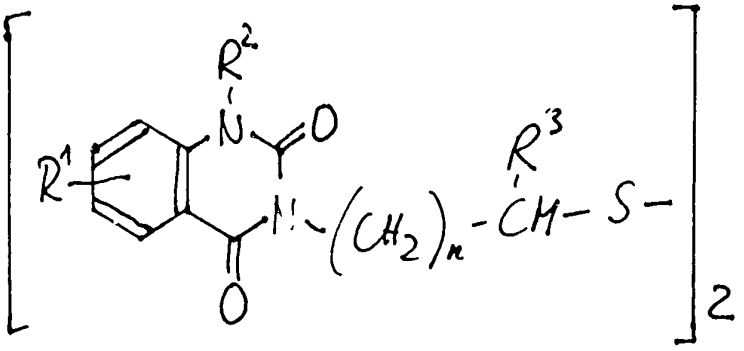
XIII



XIV



XV



XVI