

# Allylamin-Derivate – eine neue Wirkstoffklasse in der antifungalen Chemotherapie

Von Anton Stütz\*

Pilzinfektionen (Mykosen) sind weltweit verbreitet. Den Ansprüchen einer modernen Chemotherapie zu ihrer Behandlung genügen jedoch nur wenige Strukturklassen; die Suche nach neuartigen Wirkstoffen ist daher für Wissenschaft und Therapie von Bedeutung. Die erste Verbindung einer neuen Substanzklasse, der Allylamin-Derivate, wurde durch Zufall gefunden. Es handelt sich um Naftifin ((E)-N-Methyl-N-(1-naphthylmethyl)-3-phenylallylamin), das seit kurzem als topisches Antimykoticum im Handel ist. Von Naftifin ausgehend wurde über grundlegende Struktur-Wirkungs-Beziehungen und Synthesen die bisher wirksamste Verbindung dieses Typs – Terbinafin – gefunden, die als erster pharmazeutischer Wirkstoff ein (E)-1,3-Enin-Strukturelement enthält. Terbinafin verfügt gegenüber der ursprünglichen Leitstruktur Naftifin sowohl in vitro als auch in vivo über einen erheblich verbesserten Wirkungsgrad und ist Standardpräparaten in verschiedenen chemotherapeutischen Tieruntersuchungen bei topischer oder oraler Gabe bis um eine Größenordnung überlegen. Nach den bisherigen klinischen Erfahrungen hat Terbinafin neben hoher Verträglichkeit eine vielversprechende Wirksamkeit gegen verschiedene Mykosen. Allylamine sind potente und selektive Hemmer der fungalen Squalen-Epoxidase und wirken über einen neuartigen Mechanismus, der nicht wie bei anderen Hemmern der Steroid-Biosynthese von Cytochrom P-450 abhängig ist.

## 1. Einleitung

Pilzerkrankungen hatten bis vor wenigen Jahrzehnten – insbesondere im Vergleich zu bakteriellen Infektionen – nur untergeordnete Bedeutung. Das hat sich grundlegend geändert. Die Häufigkeit beobachteter Mykosen nahm in den letzten Jahren deutlich zu, sei es infolge tatsächlicher Zunahme von Infektionen, aufgrund besserer Diagnosemöglichkeiten oder erhöhten Hygienebewußtseins. Heute nehmen die Mykosen einen wesentlichen Platz unter den Infektionserkrankungen ein<sup>[1-4]</sup>.

Das klinische Bild von Mykosen ist sehr vielfältig und hängt von der Lokalisation der Infektion und der Immunitätslage des Befallenen ab. *Oberflächliche* Mykosen von Haut, Schleimhaut, Haaren und Nägeln können banal verlaufen, aber auch mit heftigen entzündlichen Prozessen verbunden sein. Darunter gibt es Massenerkrankungen wie den „Fußpilz“ (athlete's foot, Tinea pedis) oder „Nagelpilz“ (Onychomykose). *Tiefe* Mykosen sind oft lebensbedrohliche Systeminfektionen, die sich auch heute nur sehr schwer, wenn überhaupt, therapieren lassen.

Humanpathogene Pilze sind eine morphologisch und physiologisch heterogene Gruppe von Mikroorganismen. In der neueren Literatur werden sie, etwas vereinfacht, in drei Hauptgruppen eingeteilt:

- *Dermatophyten*, Erreger von Dermatophytosen (Trichophytie, Mikrosporie, Epidermophytie).
- *Sprosspilze* (Hefen) und *biphasische Pilze*, Erreger von Candidosen, der Sporotrichose und außereuropäischer Infektionen wie der Coccidioidomykose, Histoplasmose und Blastomykose.
- *Schimmelpilze*, die beispielsweise die Aspergillose oder die Chromomykose verursachen.

Im Gegensatz zu den Bakterien (Prokaryonten) zählen Pilze zu den eukaryontischen Mikroorganismen. Sie sind höherentwickelte Lebewesen mit einem echten Zellkern, d.h. sie enthalten Chromosomen, die von einer Kernmembran umgeben sind. Die prinzipielle Verwandtschaft zu hochentwickelten Organismen erklärt die große Schwierigkeit einer effizienten systemischen Therapie von Pilzerkrankungen, ohne gleichzeitig den Wirtsorganismus zu schädigen.

Die Zahl der als antimykotisch wirksam beschriebenen Substanzen ist Legion. Nur wenige genügen jedoch den Ansprüchen einer modernen Chemotherapie. Beispiele für die wichtigsten Stoffklassen sind in Abbildung 1 zusammengestellt:

- Antibiotica
  - a) Polyene: z. B. Amphotericin B, Nystatin
  - b) Griseofulvin
- Synthetische Chemotherapeutica
  - a) 5-Fluorcytosin (Flucytosin)
  - b) Thiocarbamate: z. B. Tolnaftat
  - c) Azole: z. B. Clotrimazol, Miconazol, Ketoconazol

Die jüngste und zur Zeit meistbearbeitete Strukturklasse ist die der Azolantimykotica<sup>[5]</sup>. Sie zeichnet sich durch ein breites Wirkspektrum aus. Azole sind potente Inhibitoren der Ergosterin-Biosynthese, die für den Aufbau einer intakten Pilzzellmembran essentiell ist. Dabei wird ein wichtiger Schritt in der Reaktionskaskade von Lanosterin zu Ergosterin, nämlich die Cytochrom-P-450-abhängige oxidative 14 $\alpha$ -Desmethylierung, blockiert (vgl. auch Abb. 6)<sup>[6,7]</sup>. Die ersten Azole waren nur als topische Präparate einsetzbar; vor wenigen Jahren gelang mit Ketoconazol der Durchbruch zur systemischen Anwendung<sup>[8]</sup>. Die orale Therapie ist jedoch mit Nebenwirkungen<sup>[9]</sup> belastet (Lebertoxizität, Teratogenität, Beeinflussung des Steroidhormon-

\* Dr. A. Stütz  
SANDOZ Forschungsinstitut  
Brunnerstraße 59, A-1235 Wien (Österreich)

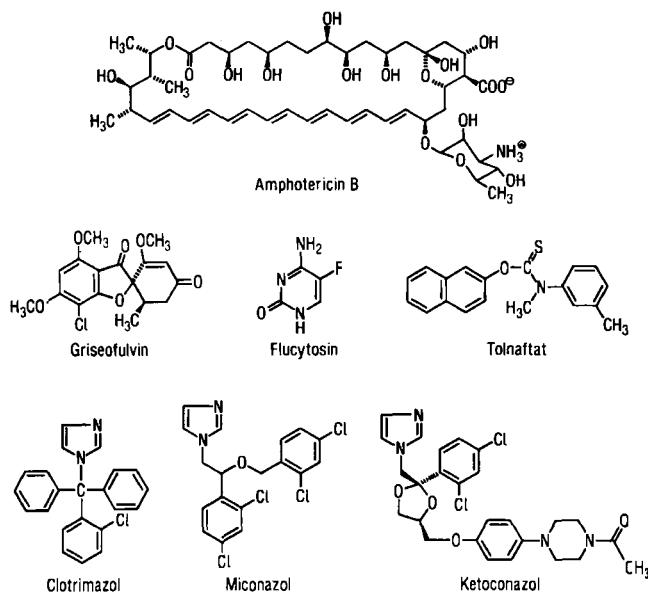


Abb. 1. Strukturen repräsentativer Antimykotica.

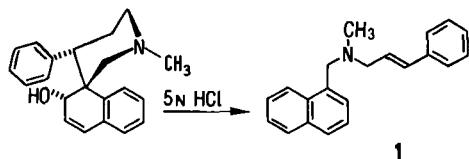
haushalts<sup>[10, 11]</sup>), die zumindest teilweise aus einer starken Inhibition von Cytochrom-P-450-abhängigen enzymatischen Reaktionen resultieren<sup>[12–14]</sup>. Sie führten kürzlich zu einer erheblichen Einschränkung der Anwendungsmöglichkeiten von Ketoconazol<sup>[15]</sup>.

Die Forschung auf dem Gebiet der antimykotischen Chemotherapie konzentriert sich weltweit auf die Bearbeitung der Azole und wird durch die exponentiell ansteigende Flut von Publikationen und Patenten dokumentiert<sup>[5, 16]</sup>. Es bleibt abzuwarten, ob es gelingt, noch wirksamere, selektivere und besser verträgliche Verbindungen aus dieser Strukturklasse zu entwickeln.

Angesichts dieser Beschränkung auf Azole ist die Suche nach neuen Strukturklassen oder die chemische Bearbeitung neuer Leitsubstanzen („leads“) eine Alternative, die von wesentlichem wissenschaftlichen und therapeutischen Wert sein könnte.

## 2. Naftifin – eine Zufallsentdeckung

1974 arbeitete Berney in den Wander-Laboratorien, Bern, an Spiro-dihydronaphthalinen mit dem Ziel, Derivate mit Wirkung auf das Zentralnervensystem zu finden. Nach der sauren Hydrolyse einer dieser Substanzen isolierte er unerwartet eine Verbindung 1, deren Struktur sich als verhältnismäßig einfach, aber als noch unbekannt herausstellte<sup>[17]</sup>.



1 wurde innerhalb eines breiten Routine-Screeningprogramms im Sandoz-Forschungsinstitut Wien getestet. Dabei konnten Georgopoulos et al. hohe Wirksamkeit gegen eine Reihe humanpathogener Pilze nachweisen. Die zunächst an Pilzkulturen (in vitro) erhobenen Befunde<sup>[18]</sup> lie-

ßen sich auch in tierexperimentellen Untersuchungen (in vivo) bestätigen<sup>[19]</sup>. So wurde am Modell der Meerschweinch-Trichophytie nach topischer Applikation eine den Standards zumindest ebenbürtige Wirkung gefunden. Orale Wirksamkeit wurde nur bei sehr hoher, therapeutisch nicht mehr nutzbarer Dosierung festgestellt<sup>[20]</sup>.

Nach ausgedehnten Untersuchungen der toxikologischen und pharmakokinetischen Eigenschaften<sup>[21, 22]</sup> wurde 1 („generic name“: Naftifin) mehrere Jahre intensiv in der Klinik geprüft<sup>[23]</sup>. Zahlreiche Studien haben die hohe Wirksamkeit von Naftifin als topisches Antimykoticum bewiesen. An Patienten mit unterschiedlichen Dermatophytosen und Candidosen wurde Naftifin in offenen Studien und in Doppelblindversuchen mit topischen Standard-Antimykotica oder mit Placebos verglichen. Darin erwies sich Naftifin den Standards als ebenbürtig bis teilweise überlegen. In vielen Fällen wurde ein rascheres Abklingen der klinischen Symptome<sup>[24]</sup> gefunden und ein zusätzlicher antiinflammatorischer Effekt beobachtet<sup>[25]</sup>.

Naftifin gelangte erstmalig 1985 unter dem Namen Exodermil® in der Bundesrepublik Deutschland sowie in Österreich, Malaysia und Singapur in den Handel.

## 3. Allylamin-Derivate – eine neue antimykotische Wirkstoffklasse

Parallel zur Wirkungsweise<sup>[26–28]</sup> von Naftifin wurde die Chemie dieser Verbindung untersucht. Zu Beginn stellten sich folgende Fragen:

- Ist Naftifin einer bekannten Strukturklasse zuzuordnen, eine Einzelverbindung oder ein Mitglied einer neuen Wirkstoffklasse?
- Gibt es definierbare Struktur-Wirkungs-Beziehungen, und welche Strukturelemente sind für die antifungale Wirksamkeit essentiell?
- Lassen sich aus diesen Kenntnissen neue Strukturen mit noch höherer Wirkung und/oder breiterem Wirkspektrum ableiten?
- Gibt es Verbindungen mit therapeutisch nutzbarer, oraler Wirksamkeit (damals waren nur zwei Antimykotika mit oraler Aktivität bekannt – Griseofulvin und 5-Fluorcytosin)?

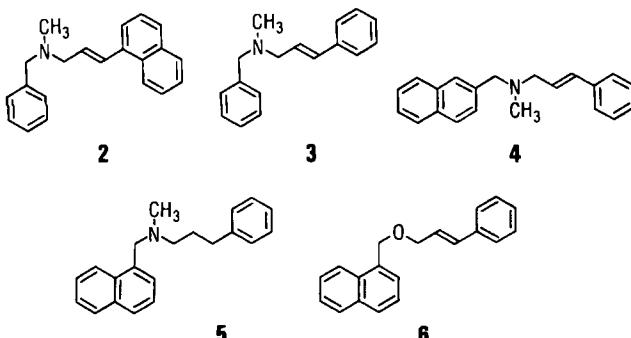
Es stellte sich bald heraus, daß die antifungale Aktivität von Naftifin an spezielle Strukturelemente gebunden ist, die in keiner der bekannten Wirkstoffklassen vorkommen<sup>[29]</sup>. Es wurden zahlreiche Verbindungen mit ähnlicher und später auch mit deutlich verbesserter Wirkung gefunden. Da allen wirksamen Verbindungen eine tertiäre Allylaminfunktion gemeinsam war, wurde ihnen der Name „Allylamin-Derivate“ gegeben<sup>[30]</sup>.

Im folgenden wird in etwas vereinfachter Form der Weg zu Terbinafin beschrieben, der bisher wirksamsten Verbindung dieses Typs.

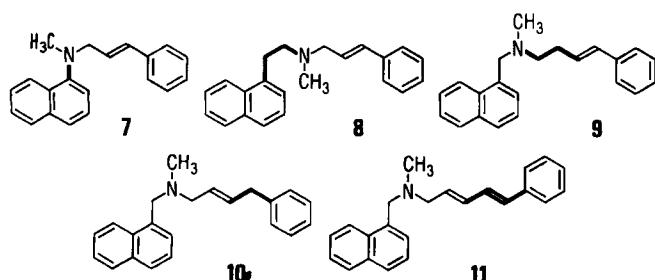
### 3.1. Grundlegende Struktur-Wirkungs-Beziehungen

Um grundlegende Struktur-Wirkungs-Beziehungen zu klären, wurden die Naftifin-Analoga 2–6 synthetisiert<sup>[29]</sup>. Bei der antimykotischen Prüfung in vitro erwiesen sie sich

als inaktiv. Daraus mußte geschlossen werden, daß der Stickstoff, die Doppelbindung und der 1-substituierte Naphthalinring von Bedeutung sind und die Arylgruppen nicht vertauscht werden dürfen.



In weiterer Folge wurde anhand der Verbindungen 7–11 untersucht, ob die Abstände zwischen den funktionellen Gruppen und zu den aromatischen Systemen verkürzt oder verlängert werden können, ohne die Wirksamkeit zu beeinträchtigen. Auch diese Verbindungen waren entweder inaktiv oder um Größenordnungen weniger wirksam als 1<sup>[29]</sup>. In den Formelbildern sind die geänderten Molekülteile durch Fettdruck gekennzeichnet.

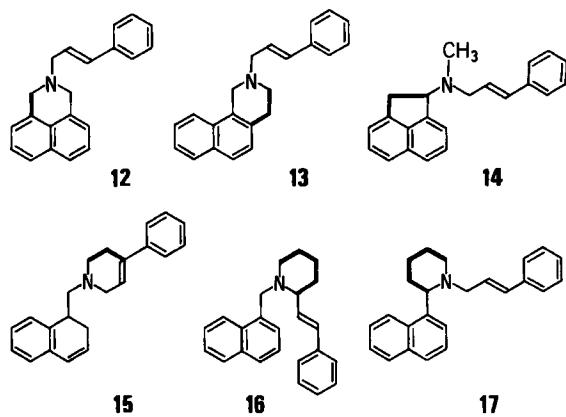


Aus diesen Untersuchungen ging bereits hervor, daß die antifungalen Eigenschaften von 1 tatsächlich an spezifische strukturelle Voraussetzungen gebunden sind. Detaillierte systematische Variationen der Strukturelemente bestätigten und vertieften diese ersten Struktur-Wirkungs-Beziehungen<sup>[29]</sup>.

### 3.2. Semirigide Naftifin-Analoga

In der Folge wurde zunächst die Konstitution von 1 als essentiell angenommen und die Frage nach der wirksamen Konformation gestellt. Durch Einbau der konformationell flexiblen Struktur von 1 in diverse Ringsysteme wurden semirigide Analoga hergestellt<sup>[31]</sup>. Die vier Verbindungen 12, 13, 15 und 16 erwiesen sich als biologisch völlig unwirksam, während 14 und 17 im Aktivitätsbereich von Naftifin 1 lagen („Alles-oder-Nichts“-Effekt).

Da die racemische Piperidin-Verbindung 17 ein interessantes Wirkspktrum zeigte, wurde sie in die Enantiomere gespalten. In Tierversuchen stellte sich heraus, daß die Wirksamkeit auf die (*R*)-Form (durch Röntgen-Strukturanalyse bewiesen<sup>[32]</sup>) beschränkt ist. Diese Verbindung war das erste Derivat<sup>[33,34]</sup> mit signifikant verbesserter oraler Wirksamkeit im Meerschweinchen-Trichophytiomodell<sup>[35]</sup> und lieferte den Beweis, daß eine Erhöhung des systemischen Wirkungsgrades von 1 möglich ist.



### 3.3. Systematische Variation von *N*-Alkenylseitenketten

In einer systematischen Studie wurde die 3-Phenylallyl(cinnamyl)gruppe in 1 durch C<sub>10</sub>-Alkylketten mit steigender Anzahl konjugierter Doppelbindungen ersetzt; die so erhaltenen Verbindungen 18–22 wurden gegen mehrere humanpathogene Keime getestet (Tabelle 1). Die biologische Wirksamkeit erreicht bei zwei konjugierten Doppelbindungen in 20 ein klares Maximum. Die Analoga 21 bzw. 19 mit je einer Doppelbindung mehr oder weniger

Tabelle 1. Wirksamkeit von Allylamin-Derivaten in vitro. Oben: Variation der Anzahl von Doppelbindungen in den *N*-Alk(enyl)-Seitenketten der Verbindungen 18–22; unten: Variation der Alkylgruppe in den *N*-(2,4-Alkadienyl)-Seitenketten der Verbindungen 23–26 und 20 [a, b].

$\text{R} =$		MIC [mg/L]				
		Trich. ment.	Epid. fl.	Micr. can.	Spor. sch.	Cand. par.
	18	100	100	100	100	> 100
	19	1.6	25	50	> 100	> 100
	20	0.05	0.1	0.1	1.6	1.6
	21	1.6	3.1	3.1	100	> 100
	22	50	50	25	> 100	> 100
	23	1.6	50	25	100	> 100
	24	0.1	0.8	0.8	6.2	12.5
	25	0.05	0.2	0.1	3.1	1.6
	20	0.05	0.1	0.1	1.6	1.6
	26	0.2	0.8	0.4	3.1	100

[a] MIC (Minimale Hemmkonzentration): Niedrigste Wirkstoffkonzentration, bei der das Wachstum der Pilze vollständig gehemmt wird. [b] Abkürzungen: Trich. ment.: *Trichophyton mentagrophytes*; Epid. fl.: *Epidermophyton floccosum*; Micr. can.: *Microsporum canis*; Spor. sch.: *Sporothrix schenckii*; Cand. par.: *Candida parapsilosis*.

sind deutlich weniger wirksam. Die Derivate **18** bzw. **22** ohne oder mit vier konjugierten Doppelbindungen sind nahezu inaktiv<sup>[36]</sup>.

Die Variation der Kettenlänge von 2,4-Alkadienyl-Seitenketten zeigt ein ähnliches, wenn auch weniger ausgeprägtes Bild; denmnach ist die Wirksamkeit bei C<sub>9</sub> bis C<sub>10</sub> (Verbindungen **20**, **25**) am höchsten. Die Auswirkungen dieser Modifikationen wurden auch im Meerschweinchen-Trichophytiemodell bei topischer und oraler Applikation untersucht (Abb. 2). Dabei wurde eine noch ausgeprägtere Abhängigkeit der in-vivo-Wirksamkeit von der Kettenlänge gefunden. Topische Applikation einer 2proz. Lösung bewirkte nur mit Verbindung **25** eine vollständige Heilung der Tiere; bei oraler Gabe erwies sich das Homologe **20** als aktivste Verbindung. Veränderungen um eine bis drei Methylengruppen führten bis zum Wirksamkeitsverlust<sup>[36]</sup>. Diese Resultate demonstrieren, daß minimale Veränderungen der chemischen Struktur nicht nur für die Optimierung, sondern eventuell sogar für das Erkennen einer Leitsubstanz entscheidend sein können.

### 3.4. Die (*E*)-1,3-Eningruppe – ein neues Strukturelement in pharmazeutischen Wirkstoffen

Aus Tabelle 2 ist ersichtlich, daß die antifungale Wirksamkeit von Verbindung **25** mit einer (*E,E*)-2,4-Alkadienyl-Seitenkette (siehe auch Tabelle 1 und Abb. 2) sowohl in vitro als auch in vivo mit der Leitstruktur Naftifin **1** vergleichbar ist.

Formaler Ersatz der Doppelbindung zwischen C-4 und C-5 durch eine Dreifachbindung (Verbindung **27**, siehe auch Reduktion mit Diisobutylaluminiumhydrid in Abschnitt 4.1) verbessert die Wirksamkeit in vitro und in vivo, insbesondere bei oraler Gabe. So sind beispielsweise **1** und **25** bei einer Dosis von 75 mg/kg im oralen Meerschweinchen-Trichophytiemodell nach mykologischer Auswertung unwirksam, während das (*E*)-1,3-Enin-Derivat **27** bei gleicher Dosis völlige Heilung der Tiere bewirkte. Die *trans*-Konfiguration ist Voraussetzung für diesen Effekt: Das *cis*-Isomer **30** ist um Größenordnungen weniger wirksam. Das gleiche gilt für die Analoga **28** und **29** mit einer „invertierten“ Eningruppe bzw. zwei konjugierten Dreifachbindungen<sup>[37]</sup>.

Unter Berücksichtigung der aus Abbildung 2 gewonnenen Erkenntnisse wurde die zur Dreifachbindung benachbarte Alkylgruppe in Verbindung **27** variiert (Tabelle 3).

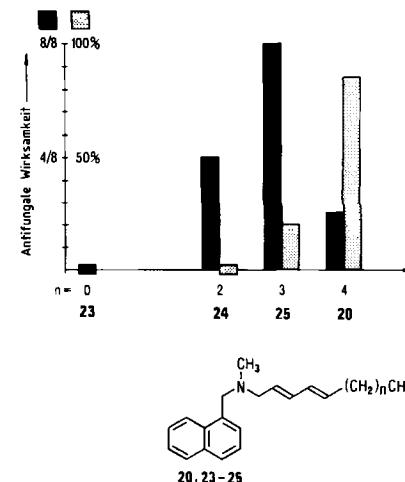


Abb. 2. In-vivo-Wirksamkeit der N-2,4-Alkadienyl-Derivate **20** und **23–25** im Meerschweinchen-Trichophytiemodell (vgl. Tabelle 1). Schwarz: Topische Behandlung: 2proz. Polyethylenglykol(PEG)-Lösung; mykologisch geheilte Tiere nach täglich einmaliger Behandlung über 7 d. – Grau: Orale Behandlung: mykologische Heilung nach täglich einmaliger Gabe von 150 mg/kg über 9 d.

Tabelle 2. In-vitro- und in-vivo-Wirksamkeit (Meerschweinchen-Trichophytiemodell) der Allylamin-Derivate **1**, **25** und **27–30**. Abkürzungen siehe Tabelle 1.

R =	Trich. ment.	Epid. fl.	MIC [mg/L] Micr. can.	Spor. sch.	Cand. par.
<b>1</b>	0.05	0.2	0.1	1.6	1.6
<b>25</b>	0.05	0.2	0.1	3.1	1.6
<b>27</b>	0.01	0.01	0.01	1.6	0.4
<b>28</b>	0.2	1.6	0.2	> 100	> 100
<b>29</b>	0.2	3.1	0.8	100	100
<b>30</b>	0.2	100	0.2	50	100

	in vivo [% myk. Heilung]				
	top. [a]	0.125%	0.5%	37.5	oral [b]
				75	150
<b>1</b>	35	65	—	—	48
<b>25</b>	40	69	—	—	43
<b>28</b>	83	100	83	100	100

[a] PEG-Lösung. [b] Tagesdosis [mg/kg].

Tabelle 3. In-vitro- und in-vivo-Wirksamkeit (Meerschweinchen-Trichophytiemodell) der (*E*)-2-Alken-4-inyl-Derivate **27**, **31** und **32** [a].

R =	Trich. ment.	Epid. fl.	MIC [mg/L] Mikr. can.	Spor. sch.	Asp. fum.	Cand. alb.	Cand. par.	oral [b] [% myk. Heilung] 5 10
<b>27</b>	0.01	0.01	0.01	1.6	100	100	0.4	0 15
<b>31</b>	0.01	0.006	0.006	0.8	100	100	0.4	23 75
<b>32</b>	0.006	0.006	0.006	0.4	0.8	25	0.4	98 100

[a] Abkürzungen siehe Tabelle 1 sowie *Aspergillus fumigatus* (*Asp. fum.*), *Candida albicans* (*Cand. alb.*). [b] Tagesdosis [mg/kg].

Zunehmende Verzweigung führte schließlich zur *tert*-Butylverbindung 32 (Terbinafin), deren orale Wirksamkeit nochmals um eine Größenordnung verbessert ist<sup>[37,38]</sup>! Die *tert*-Butylgruppe ist darüber hinaus eine Voraussetzung für in-vitro-Wirksamkeit gegen *Aspergillus fumigatus* und *Candida albicans*.

Versuche, die *tert*-Butylgruppe in (*E*)-2-Alken-4-inylaminen durch andere Substituenten zu ersetzen, sind in Tabelle 4 zusammengefaßt<sup>[39]</sup>. Darunter sind Verbindungen mit beträchtlicher antifungaler Aktivität. Am wirksamsten, auch *in vivo*, sind das Ether-Analogon 33 und das Derivat 34, bei dem die *tert*-Butylgruppe durch einen Trimethylsilylrest ersetzt wurde. 34 ist trotz verhältnismäßig schwacher in-vitro-Wirksamkeit bei oraler Gabe dem Terbinafin 32 praktisch ebenbürtig! Dies ist um so erstaunlicher, als die ≡C–Si-Bindung chemisch und metabolisch viel weniger stabil als die ≡C–C-Bindung ist.

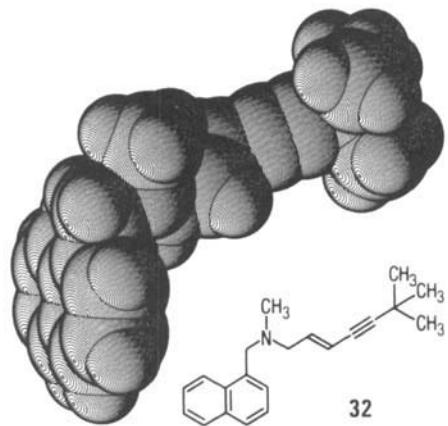


Abb. 3. Struktur von Terbinafin 32 im Kristall. Die Computergraphik ist von der Röntgen-Strukturanalyse des Hydrochlorids abgeleitet [32].

Tabelle 4. In-vitro- und in-vivo-Wirksamkeit (Meerschweinchen-Trichophytiemodell) von (*E*)-2-Alken-4-inyl-Derivaten [a].

	Trich. ment.	Micr. can.	Spor. sch.	MIC [mg/L] Asp. fum.	Cand. alb.	Cand. par.	oral [b] [myk. Heilung] 10 mg/kg	
	0.01	0.02	1.6	> 100	> 100	3.1		
	0.8	1.6	> 100	> 100	> 100	> 100		
	3.1	3.1	> 100	> 100	> 100	> 100		
	0.2	0.4	> 100	> 100	> 100	> 100		
	0.006	0.01	1.6	6.2	100	3.1		
	0.01	0.02	1.6	> 100	25	0.8		
	0.8	25	> 100	> 100	> 100	> 100		
	0.8	3.1	50	> 100	> 100	> 100		
	0.01	0.05	6.2	3.1	> 100	12.5	95%	
<b>33</b>		0.05	0.05	3.1	> 100	25	1.6	100%
<b>34</b>		6.25	1.6	25	3.1	100	6.2	
<b>32</b>								

[a] Abkürzungen siehe Tabelle 1 und 3. [b] Tagesdosis.

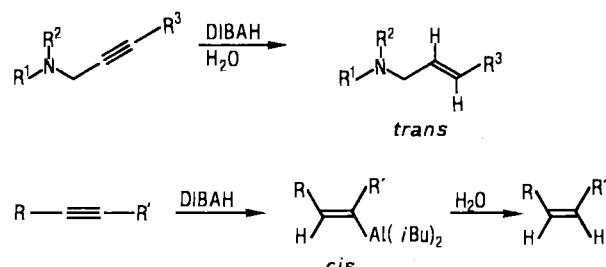
Die konjugierte *trans*-Eningruppe, die sich als wesentliche strukturelle Modifikation zur Verbesserung der antimykotischen Wirksamkeit von Allylaminen – insbesondere bei oraler Gabe – erwiesen hat, ist unseres Wissens ein *neuartiges Strukturelement in pharmazeutischen Wirkstoffen*<sup>[30,37,40]</sup>. Innerhalb dieser Serie von Eninen wurde Terbinafin 32 als insgesamt günstigste Verbindung zur weiteren Entwicklung ausgewählt. Abbildung 3 gibt eine Vorstellung von der räumlichen Struktur.

#### 4. Syntheseaspekte

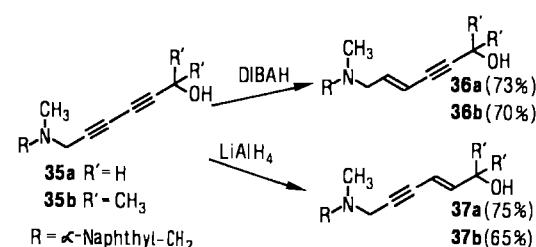
##### 4.1. Neue Synthese von (*E*)-Allylamin-Derivaten

Bei Versuchen, breit anwendbare Synthesewege für Allylamin-Derivate zu entwickeln, wurde eine neue Methode zur stereoselektiven *trans*-Reduktion von tertiären Propargylaminen mit Diisobutylaluminiumhydrid (DIBAH) gefunden<sup>[41,42]</sup>. Diese Reaktion führt unter milden Bedingun-

gen ( $40^{\circ}\text{C}$ , Toluol, 3 h) zu hohen Ausbeuten. Ihr stereochemischer Verlauf steht im Gegensatz zu dem der bekannten *cis*-Hydroaluminierung disubstituierter Alkine<sup>[43,44]</sup> und ist auf einen Nachbargruppeneffekt des  $\alpha$ -Amins zurückzuführen. Die *trans*-Reduktion unterscheidet sich hinsichtlich Reaktivität und Selektivität klar von anderen Reaktionen, die ebenfalls über eine *trans*-Hydroaluminierung ver-

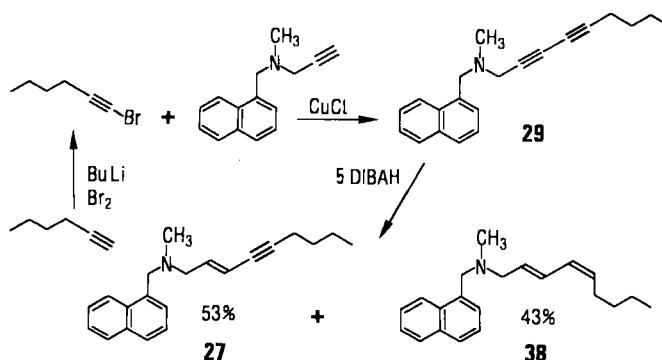


laufen, z.B. die bekannte Reduktion von  $\alpha$ -Hydroxyacetylenen mit  $\text{LiAlH}_4$  zu (*E*)- $\alpha$ -Hydroxyalkenen<sup>[45]</sup>. Beispielsweise werden 1,3-Diine wie **35**, die sowohl eine Propargylamin- als auch eine Propargylalkoholfunktion enthalten, mit DIBAH zu **36** und mit  $\text{LiAlH}_4$  an der anderen Dreifachbindung zu **37** umgesetzt (Schema 1)<sup>[42]</sup>.



Schema 1.

Es stellte sich nun die präparativ und mechanistisch interessante Frage, ob ein 2,4-Alkadiinylamin mit DIBAH im Überschuß an der Dreifachbindung zwischen C-2 und C-3 *trans* (über einen Nachbargruppeneffekt des Stickstoffs) und/oder an der anderen Dreifachbindung wieder „normal“ (*cis*) reduziert wird. Die Umsetzung des über eine oxidative Kupplung erhaltenen Diins **29** mit DIBAH im Molverhältnis 1 : 5 führte zu einem ca. 1 : 1-Gemisch des (*E*)-2-Alken-4-inylamins **27** und des (*2E,4Z*)-2,4-Alkadienylamins **38** (Schema 2). Die Direduktion verlief sehr selektiv (*EZ/EE* = 98/2); dies wurde auch an anderen Beispielen nachgewiesen (vgl. <sup>[42]</sup>).

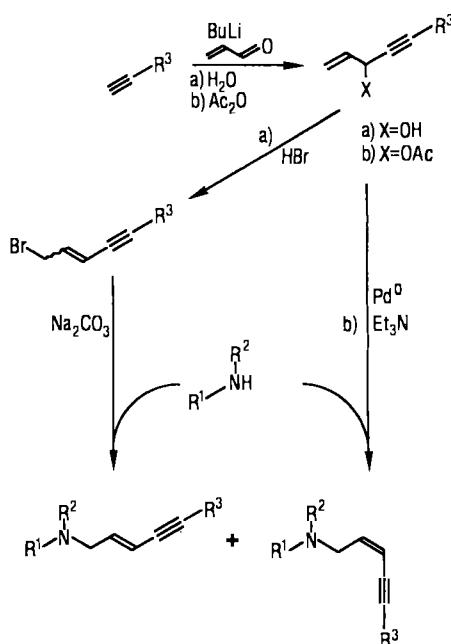


Schema 2.

Mit dem (*E*)-Enin **27**, dem Produkt der Monoreduktion, gelang der erste Durchbruch bei den Bemühungen, oral hochwirksame Allylamin-Derivate zu finden (siehe Abschnitt 3.4).

#### 4.2. Synthese von 2-Alken-4-inylaminen

Zur Synthese einer großen Zahl substituierter 2-Alken-4-inylamine hat sich die in Schema 3 dargestellte Reaktionsfolge außerordentlich bewährt: 1-Alkine werden lithiiert und in einer 1,2-Addition mit Acrolein umgesetzt. Die durch Hydrolyse resultierenden sekundären Alkohole werden nach a) mit konzentriertem wäßrigem HBr zu einem Stereoisomerengemisch primärer Allylbromide (*E/Z* ≈ 3/1) umgelagert. Nach Reaktion mit einem sekundären Amin werden die stereoisomeren Produkte entweder chromatographisch oder als Hydrochloride durch selektive Kristallisation der *trans*-Isomere (wie im Fall von **32**) ge-



Schema 3.

trennt<sup>[37]</sup>. Diese Produkte können auch nach b) über  $\pi$ -Allylpalladiumkomplexe der Acetyl-Derivate mit  $\text{Pd}^0$ -Katalysatoren wie  $[(\text{Ph}_3\text{P})_4\text{Pd}]$  unter neutralen und besonders milden Bedingungen erhalten werden<sup>[46]</sup>. Auf diese Weise ließen sich auch Acetylene mit (säure)empfindlichen funktionellen Gruppen selektiv und in befriedigender Ausbeute umsetzen (Tabelle 5). Durch Modifikation der Versuchsbedingungen bzw. durch Verwendung eines polymergebundenen Pd-Katalysators<sup>[47]</sup> ist es darüber hinaus gelungen, eine teilweise Selektivität zugunsten der (*E*)- bzw. (*Z*)-Isomere zu erzielen<sup>[46]</sup>.

#### 5. Wirkungsweise von Allylamin-Derivaten

Bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen von Pilzen, die mit Naftifin **1** behandelt worden waren, wurde eine Anhäufung lipidartiger Vesikel beobachtet<sup>[48]</sup>. Die Vermutung, daß der Lipidstoffwechsel beeinflußt wird, konnte durch biochemische Untersuchungen bestätigt wer-

Tabelle 5. Synthese von 2-Alken-4-inylaminen mit dem  $Pd^0$ -Katalysator  $\{(\text{Ph}_3\text{P})_4\text{Pd}\}$  (5 Mol-%) in Tetrahydrofuran (15 h); vgl. Alternative b) in Schema 3.

$R^1$	$R^3$	E	Ausbeute [%] [a]	Z
	$\text{CH}_2-\text{S}-\text{C}_2\text{H}_5$	29 (44)	22 (35)	
	$\text{C}(\text{S}-\text{CH}_3)_2$	24 (34)	35 (52)	
	$\text{C}(\text{OCH}_3)_2$	31 (45)	30 (45)	
	$\text{C}(\text{OCH}_3)_2$	32	47	
	$\text{Si}(\text{CH}_3)_3$	31	24	
	$\text{C}(\text{CH}_3)_3$	47	31	

[a] Isoliertes Material; Werte in Klammern: Ausbeute laut HPLC-Analyse.

den. In der Folge wurde die Wirkungsweise der Allylamine aufgeklärt<sup>[26–28, 49, 50]</sup>.

Naftifin 1, Terbinafin 32 und andere Allylamine greifen in die Biosynthese des Ergosterins, eines für die Zellmembran von Pilzen essentiellen Steroids, ein. Sie führen zur intrazellulären Akkumulation von Squalen (Abb. 4)<sup>[30, 51, 52]</sup> und sind hochwirksame Hemmer der Squalen-Epoxidase aus *Candida albicans* (Terbinafin:  $K_i = 3 \times 10^{-8} \text{ M}$ ; Abb. 5) und anderen Pilzen. Squalen-Epoxidase ist ein Schlüsselenzym in der Biosynthese von Sterinen und Steroiden und das erste in der Reaktionsfolge, das molekularen Sauerstoff benötigt (Abb. 6). Eine spezifische Hemmung dieses Enzyms wurde *erstmalis mit den Allylaminen nachgewiesen*<sup>[53]</sup>. Gesicherte Aussagen über die Reaktionen am Enzym sind noch nicht möglich.

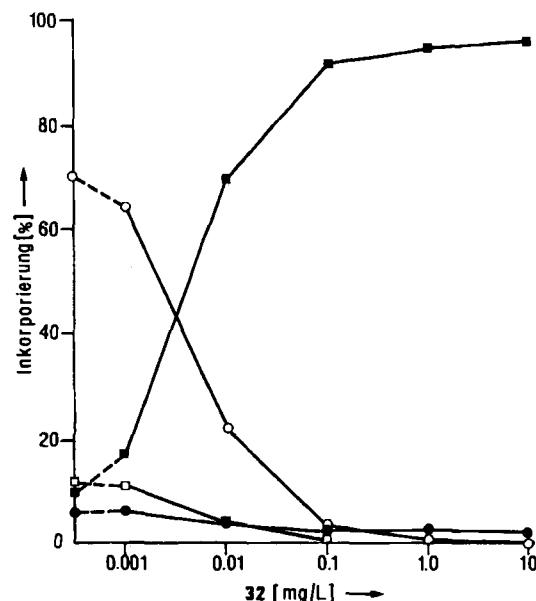


Abb. 4. Effekt von Terbinafin 32 auf die Sterin-Biosynthese in *Candida-albicans*-Zellen. Inkorporierung von  $^{14}\text{C}$ -Acetat in (○) Ergosterin; (●) 4-Monomethylsterine; (□) 4,4-Dimethylsterine; (■) Squalen (nach Ryder [50]).

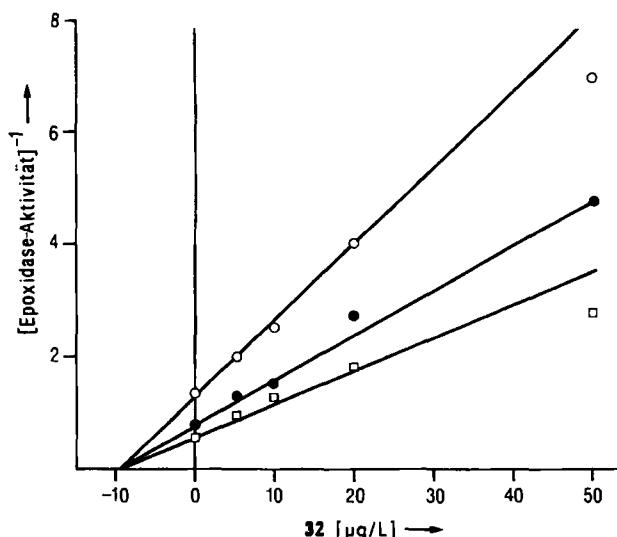


Abb. 5. Inhibition of Squalene-Epoxidase aus *Candida albicans* durch Terbinafin 32. Dixon-Diagramm bei drei Substratkonzentrationen (nach Ryder et al. [30]). Substrat(Squalen)-Konzentration: ○  $12.8 \times 10^{-6} \text{ M}$ ; ●  $29.9 \times 10^{-6} \text{ M}$ ; □  $116.2 \times 10^{-6} \text{ M}$ .  $K_i = 9 \text{ ng/mL} \sim 3 \times 10^{-8} \text{ M}$ .

Die Squalen-Epoxidierung ist aber nicht nur ein essentieller Schritt in der Biosynthese von Ergosterin in Pilzen, sondern auch von Cholesterin in Säugern. Vergleichende

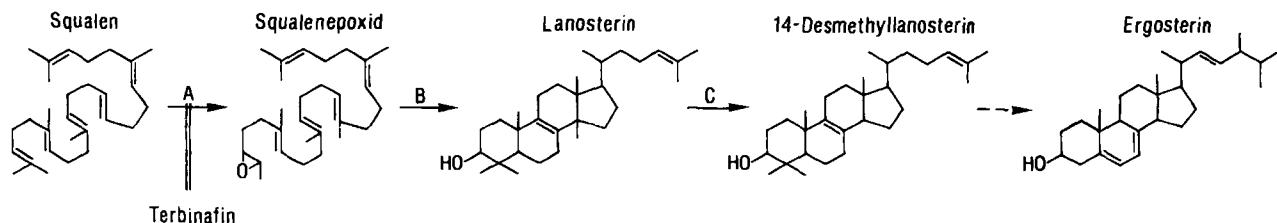


Abb. 6. Biosyntheseschritte von Squalen zu Ergosterin (nach Ryder et al. [50]). Enzymsysteme: A: Squalen-Epoxidase (Squalen-Monoxygenase, E.C. 1.14.99.7); B: Squalen-Oxidocyclase (Lanosterin-Synthase, E.C. 5.4.99.7); C: Lanosterin-14 $\alpha$ -Desmethylasekomplex, Cytochrom-P-450-abhängig; durch Azole inhibiert.

Untersuchungen mit Squalen-Epoxidasen aus Rattenleber und Pilzen beweisen aber, daß Terbinafin eine hohe Selektivität zugunsten des Pilzsystems hat. Die entsprechenden Inhibitionskonstanten unterscheiden sich um mehr als drei Größenordnungen<sup>[52]</sup>. Dieser Befund ist für die sichere und nebenwirkungsfreie Verwendung von Terbinafin als systemisch wirksames Chemotherapeuticum von Bedeutung.

Die Squalen-Epoxidierung ist im Unterschied zur 14α-Desmethylierung von Lanosterin, dem Hauptangriffspunkt der Azol-Antimykotica, nicht von Cytochrom-P-450-Enzymen abhängig. Allylamine haben auch keine Affinität zu Cytochrom-P-450-Systemen der Steroidhormonsynthese in Nebenniere, Placenta und Testes<sup>[54]</sup>. In Einklang damit sind bei der klinischen Prüfung von Terbinafin keine der bei Ketoconazol bekannten Nebenwirkungen beobachtet worden, die auf Cytochrom-P-450-Wechselwirkungen zurückzuführen sind.

## 6. Terbinafin

Terbinafin **32** ist in vitro gegen ein breites Spektrum humanpathogener Pilze wirksam (Tabelle 6), wobei Dermatophyten wie *Trichophyton spp.*, *Microsporum canis* und *Epidermophyton flocc.* (Minimale Hemmkonzentration (MIC) 0.001–0.01 mg/L), *Aspergillus spp.* (MIC 0.02–1.56 mg/L) und *Sporothrix schenckii* (MIC 0.1–0.4 mg/L) herausragen. Die Sensitivität von Hefen (MIC 0.1–> 100 mg/L) weist eine größere Bandbreite auf. Gegen Dermatophyten und *Candida parapsilosis* wirkt Terbinafin primär fungizid und gegen *Candida albicans* fungistatisch<sup>[30, 55–57]</sup>.

Tabelle 6. Spektrum und minimale Hemmkonzentrationen (MIC) von Terbinafin **32** [30, 55].

Spezies	Anzahl geprüfter Stämme	MIC [mg/L]	
		Bereich	M
<i>Trichophyton spp.</i>	64	0.001–0.006	0.004
<i>Epidermophyton flocc.</i>	24	0.001–0.006	0.004
<i>Microsporum canis</i>	24	0.006–0.01	0.007
<i>Aspergillus spp.</i>	7	0.02–1.56	0.63
<i>Sporothrix schenckii</i>	4	0.1–0.4	0.2
<i>Candida albicans</i>	78	6.25–100	29.3
<i>Candida spp.</i>	42	0.1–> 100	33.0

Die orale Wirksamkeit von Terbinafin **32** ist bedeutend größer als diejenige von Naftifin **1**. Dies wurde durch den Vergleich der curativen Dosen (Dosis, bei der 100% mykologische Heilung erreicht wird) im oralen Meerschweinchen-Trichophytiemodell<sup>[35]</sup> demonstriert: Sie beträgt bei Naftifin 485 mg/kg<sup>[20]</sup> und bei Terbinafin 6 mg/kg<sup>[30, 58]</sup>. Die klinischen Standards Griseofulvin und Ketoconazol benötigten im gleichen Modell mit 60 bzw. 80 mg/kg eine um eine Größenordnung höhere Dosis als Terbinafin zur vollständigen Heilung<sup>[30, 58]</sup>.

Eine ähnlich überlegene Wirkung von Terbinafin gegenüber Standards konnte auch bei topischer Anwendung gezeigt werden. Behandlung der Meerschweinchen-Trichophytie oder -Mikrosporie mit einer 0.06- bzw. 0.5proz. Lösung über sieben Tage führte mit Terbinafin zur vollständigen mykologischen Heilung. Unter den gleichen Versuchsbedingungen erzielten die Standards Econazol oder Tolnaftat selbst bei Anwendung einer 2proz. Lösung keine

oder nur teilweise mykologische Heilung. Eine Hautinfektion des Meerschweinchens durch *Candida albicans* wurde durch fünf tägige topische Behandlung mit einer 1proz. Lösung von Terbinafin geheilt<sup>[30, 58]</sup>.

Mit Terbinafin wurden ausgedehnte Untersuchungen an Labortieren und später am Menschen zur Pharmakokinetik, Biotransformation und Verträglichkeit durchgeführt<sup>[59–63]</sup>. Aus den Ergebnissen der Tieruntersuchungen sind die bemerkenswert niedrige Toxizität sowie das Fehlen teratogener oder embryotoxischer Effekte hervorzuheben. Die bei Tieren und Menschen nach oraler Gabe gefundenen Plasmakonzentrationen der Muttersubstanz liegen trotz erheblicher Metabolisierung weit über den minimalen Hemmkonzentrationen. Die Voraussetzungen für den klinischen Einsatz waren daher sowohl von der Wirkstoffkonzentration als auch vom Standpunkt der Arzneimittelsicherheit gegeben.

Zur Zeit wird Terbinafin weltweit in kontrollierten klinischen Untersuchungen geprüft. Die bisher vorliegenden Ergebnisse von teilweise noch nicht abgeschlossenen Studien sind ermutigend: Bei der oralen Behandlung von *Tinea corporis* wirkte Terbinafin mindestens ebenso gut wie Griseofulvin, obwohl die Terbinafin-Tagesdosis (250 mg) nur die Hälfte der Griseofulvin-Standarddosierung betrug. Bei der topischen Behandlung von *Tinea pedis* und *Tinea cruris* zeigte sich bereits nach wenigen Tagen signifikante Überlegenheit gegenüber Clotrimazol<sup>[64–66]</sup>. Bei topischer Behandlung der Haut-Candidiasis erwies sich Terbinafin als mindestens ebenso gut wie Clotrimazol<sup>[67]</sup>. Die generell gute Verträglichkeit zeichnet sich sowohl nach topischer als auch nach oraler Gabe ab.

Aus diesen Untersuchungen kann die Hoffnung abgeleitet werden, daß Terbinafin eine wertvolle Bereicherung des Arzneimittelschatzes zur Behandlung von Mykosen werden könnte.

## 7. Ausblick

Die Allylamin-Derivate sind eine neue Klasse antifungaler Wirkstoffe mit oraler und topischer Wirksamkeit<sup>[68]</sup>. Dies wird nicht nur durch Naftifin und Terbinafin dokumentiert, sondern auch durch eine Fülle teilweise hochwirksamer Derivate, die in vielen Patentschriften beschrieben sind<sup>[33, 69–80]</sup>. Die chemische und biologische Bearbeitung dieser Strukturen wird fortgesetzt.

Zwei Aspekte dieser Arbeiten könnten über die antifungale Chemotherapie hinaus für das „drug design“ und die Beziehungen zwischen chemischer Struktur und biologischer Wirksamkeit interessant sein: 1. Durch systematische Strukturvariationen, die durch neue Synthesemethoden ermöglicht oder erleichtert wurden, hat sich die biologische Wirksamkeit einer Leitsubstanz um mehrere Größenordnungen erhöhen lassen. 2. Im allgemeinen bemüht man sich beim „rational design“ antimikrobieller Wirkstoffe darum, Prozesse zu identifizieren und zu blockieren, die nur im Infektionserreger, nicht aber im Wirt ablaufen. Mit Terbinafin kann aber ein beiden gemeinsamer Biosyntheseschritt mit hoher Selektivität beim Mikroorganismus gehemmt und daher zu einem chemotherapeutischen Wirkprinzip genutzt werden.

Im vorliegenden Aufsatz wird über das Ergebnis einer mehrjährigen intensiven interdisziplinären Zusammenarbeit berichtet. Ich danke allen Kollegen, deren Beiträge in den Literaturzitaten angeführt sind. Mein besonderer Dank gilt Dr. G. Petranyi und seiner Mitarbeiterin I. Leitner für die mykologischen Untersuchungen und meinen Mitarbeitern W. Granitzer, A. Pruckner und S. Roth für die mit Engagement und experimentellem Geschick durchgeführten Synthesen. Für viele kritische Diskussionen und Anregungen sei Dr. M. Graßberger, Dr. H. Mieth, Dr. N. S. Ryder, Dr. I. Schuster, Dr. P. Stütz und vielen Kollegen herzlich gedankt.

Eingegangen am 15. April 1986 [A 613]

- [1] O. Male: *Medizinische Mykologie für die Praxis*, Thieme, Stuttgart 1981.
- [2] B. Gedek: *Kompendium der medizinischen Mykologie*, Parey, Berlin 1980.
- [3] J. W. Rippon: *Medical Mycology*, Saunders, Philadelphia 1982.
- [4] H. Rieth, *Pharm. Unserer Zeit* 1979, 161; 1980, 1; 1982, 1.
- [5] Beispiele für Übersichten: R. A. Frontrling, *Med. Actual.* 20 (1984) 325; *Chem. Abstr.* 101 (1984) 143395; G. J. Ellames, *Top. Antibiot. Chem.* 6 (1982) 22.
- [6] H. Van den Bossche, G. Willemse, W. Cools, W. F. Lauwers, L. Le Jeune, *Chem. Biol. Interact.* 21 (1978) 59.
- [7] H. Van den Bossche, G. Willemse, W. Cools, F. Cornelissen, W. F. Lauwers, J. M. Van Cutsem, *Antimicrob. Agents Chemother.* 17 (1980) 992.
- [8] Beispiele für Übersichten: H. B. Levine: *Ketoconazole in the Management of Fungal Diseases*, Adis Press, Sydney 1982; H. Koch, *Pharm. Int.* 4 (1983) 151; R. C. Heel, R. N. Brogden, A. Carmine, P. A. Morley, T. M. Speight, G. S. Avery, *Drugs* 23 (1982) 1.
- [9] A. L. Hume, T. M. Kerker, *Drug Intell. Clin. Pharm.* 17 (1983) 169.
- [10] D. S. Gross, T. W. Boyden, R. W. Parneter, D. G. Johnson, D. A. Stevens, J. N. Calgiani, *Antimicrob. Agents Chemother.* 23 (1983) 207.
- [11] A. Pont, P. L. Williams, D. S. Loose, D. Feldman, R. E. Reitz, C. Bochra, D. A. Stevens, *Ann. Intern. Med.* 97 (1982) 370.
- [12] D. S. Loose, P. B. Kan, M. A. Hirst, R. A. Marcus, D. Feldman, *J. Clin. Invest.* 71 (1983) 1495.
- [13] J. J. Sheets, J. I. Mason, C. A. Wise, R. W. Estabrook, *Biochem. Pharmacol.* 35 (1986) 487.
- [14] J. I. Mason, B. A. Murray, M. Olcott, J. J. Sheets, *Biochem. Pharmacol.* 34 (1985) 1087.
- [15] *Scrip* 1034 (1985) 26; *Pharm. J.* 1985, 291.
- [16] L. Zirngibl, *Prog. Drug. Res.* 27 (1983) 253.
- [17] D. Berney, K. Schuh, *Helv. Chim. Acta* 61 (1978) 1262.
- [18] A. Georgopoulos, G. Petranyi, H. Mieth, J. Drews, *Antimicrob. Agents Chemother.* 19 (1981) 386.
- [19] G. Petranyi, A. Georgopoulos, H. Mieth, *Antimicrob. Agents Chemother.* 19 (1981) 390.
- [20] G. Petranyi, unveröffentlicht.
- [21] F. Schatz, H. Haberl, F. Battig, D. Jobstmann, G. Schulz, M. Nefzger, R. Czok, A. Nikoforov, *Arzneim.-Forsch.* 36 (1986) 248.
- [22] R. C. Grimus, I. Schuster, *Xenobiotica* 14 (1984) 287.
- [23] Repräsentative Zusammenfassung präklinischer und klinischer Ergebnisse: Y. M. Clayton, M. Meinhof, H. Seeliger: *Topische Therapie der Dermatomykosen*, Grosse Verlag, Berlin 1985, S. 29–152 (*Mykosen* 28, Suppl. 1).
- [24] S. Nolting, G. Weidinger, *Mykosen* 28 (1985) 69.
- [25] H. C. Friederich, P. J. Haas, H. Tronnier, G. Weidinger, *Aktuel. Dermatol.* 11 (1985) 77.
- [26] F. Paltauf, G. Daum, G. Zuder, G. Högenauer, G. Schulz, G. Seidl, *Biochim. Biophys. Acta* 712 (1982) 268.
- [27] P. Periti, G. G. Grassi: *Current Chemotherapy and Immunotherapy*, Vol. II, American Society for Microbiology, Washington, DC 1982.
- [28] N. S. Ryder, P. F. Troke in [27], S. 1016.
- [29] A. Stütz, A. Georgopoulos, W. Granitzer, G. Petranyi, D. Berney, *J. Med. Chem.* 29 (1986) 112.
- [30] G. Petranyi, N. S. Ryder, A. Stütz, *Science* 224 (1984) 1239.
- [31] A. Stütz, G. Petranyi, unveröffentlicht.
- [32] H. P. Weber und A. Widmer, Sandoz Basel, sei für die Röntgen-Strukturanalysen und Computerarbeiten herzlich gedankt.
- [33] G. Petranyi, A. Stütz, DOS 3020113; *Chem. Abstr.* 94 (1981) 156765e.
- [34] G. Petranyi, A. Stütz, *Curr. Chemother. Immunother.*, Proc. Int. Congr. Chemother., 12th, 1981, Abstr. 933.
- [35] G. Petranyi, I. Leitner, H. Mieth, *Sabouraudia* 20 (1982) 101.
- [36] A. Stütz, G. Petranyi in [27], S. 1021.
- [37] A. Stütz, G. Petranyi, *J. Med. Chem.* 27 (1984) 1539.
- [38] A. Stütz, G. Petranyi, Proc. Int. Congr. Chemother., 13th, 6 (1983) 116/1; *Chem. Abstr.* 103 (1985) 153373 u.
- [39] A. Stütz, G. Petranyi, *Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother.*, 24th, 1984, Abstr. 304.
- [40] A. Stütz, G. Petranyi, 3rd Noordwijkerhout Symposium on Innovative Approaches in Drug Research, Noordwijkerhout 1985, Abstr. S. 51.
- [41] W. Granitzer, A. Stütz, *Tetrahedron Lett.* 1979, 3145.
- [42] A. Stütz, W. Granitzer, S. Roth, *Tetrahedron* 41 (1985) 5685.
- [43] G. Wilke, H. Müller, *Justus Liebigs Ann. Chem.* 618 (1958) 267.
- [44] G. Wilke, H. Müller, *Justus Liebigs Ann. Chem.* 629 (1960) 222.
- [45] E. J. Corey, J. A. Katzenellenbogen, H. G. Posner, *J. Am. Chem. Soc.* 89 (1967) 4245.
- [46] A. Stütz, P. Fünfschilling, *Int. Conf. Organomet. Chem.*, 12th, 1985, Abstr. 329.
- [47] B. M. Trost, E. J. Keinan, *J. Am. Chem. Soc.* 100 (1978) 7779.
- [48] J. Meingassner, U. Sleytr, G. Petranyi, *J. Invest. Dermatol.* 77 (1981) 444.
- [49] N. S. Ryder, G. Seidl, P. F. Troke, *Antimicrob. Agents Chemother.* 25 (1984) 483.
- [50] N. S. Ryder in C. Nombela (Hrsg.): *Microbial Cell Wall Synthesis and Autolysis*, Elsevier, Amsterdam 1984, S. 313.
- [51] N. S. Ryder, *Antimicrob. Agents Chemother.* 27 (1985) 252.
- [52] N. S. Ryder, M. C. Dupont, *Biochem. J.* 230 (1985) 765.
- [53] Nach neuesten Befunden hemmt auch Tolnaftat die Squalen-Epoxydase in Pilzen: T. Morita, Y. Nozawa, *J. Invest. Dermatol.* 85 (1985) 434; N. S. Ryder, I. Frank, M. C. Dupont, *Antimicrob. Agents Chemother.* 29 (1986) 858.
- [54] I. Schuster, *Xenobiotica* 15 (1985) 529.
- [55] G. Petranyi, J. G. Meingassner, H. Mieth, Proc. Int. Congr. Chemother., 13th, 6 (1983) 116/9; *Chem. Abstr.* 103 (1985) 119765p.
- [56] Y. M. Clayton, Proc. Int. Congr. Chemother., 13th, 6 (1983) 116/13.
- [57] S. Shadomy, A. Espinel-Ingroff, R. J. Gebhart, *Sabouraudia* 23 (1985) 125.
- [58] G. Petranyi, J. G. Meingassner, H. Mieth, Proc. Int. Congr. Chemother., 13th, 6 (1983) 116/15.
- [59] G. Petranyi, A. Stütz, U. Ganzinger, Proc. Int. Congr. Chemother., 13th, 6 (1983) 20/21.
- [60] F. Schatz, H. Haberl, R. Czok, Proc. Int. Congr. Chemother., 13th, 6 (1983) 116/33; *Chem. Abstr.* 104 (1986) 99e.
- [61] F. Battig, M. Nefzger, R. Czok, Proc. Int. Congr. Chemother., 13th, 6 (1983) 113/37; *Chem. Abstr.* 104 (1986) 14440w.
- [62] R. Grimus, I. Schuster, Proc. Int. Congr. Chemother., 13th, 6 (1983) 116/47; *Chem. Abstr.* 103 (1985) 205429p.
- [63] U. Ganzinger, A. Stephen, G. Hitzenberger, R. Baumgartner, M. Madoelein, P. H. Mekler, B. P. Richardson, S. Brüggemann, W. Suter, R. Racine, P. Donatsch, F. Schatz, H. Haberl, Proc. Int. Congr. Chemother., 13th, 6 (1983) 116/52; *Chem. Abstr.* 104 (1986) 14539k.
- [64] A. Stephen, U. Ganzinger, Proc. Int. Congr. Chemother., 13th, 6 (1983) 116/59.
- [65] U. Ganzinger, A. Stütz, G. Petranyi, A. Stephen, *Acta Derm.-Venereol. Suppl.* 121 (1986) 155.
- [66] A. Stephen, U. Ganzinger, R. Czok in J. Ishigami (Hrsg.): *Recent Advances in Chemotherapy*, University of Tokyo Press, Tokyo 1985, S. 1946.
- [67] U. Ganzinger, N. Zaias, persönliche Mitteilung.
- [68] Teile dieser Übersicht wurden am 28. Mai 1984 beim 6th International Symposium on Future Trends in Chemotherapy in Pisa (Italien) vorgelesen: A. Stütz, G. Petranyi, A. Georgopoulos, Abstr. 190.
- [69] D. Berney, DOS 2716943; *Chem. Abstr.* 88 (1978) 62215z.
- [70] H. Hamberger, A. Stephen, A. Stütz, P. Stütz, Eur. Pat.-Anm. 896 (1979).
- [71] A. Stütz, Eur. Pat.-Anm. 24587; *Chem. Abstr.* 95 (1981) 169006d.
- [72] M. Graßberger, G. Petranyi, Fr. Pat.-Anm. 2496103; *Chem. Abstr.* 97 (1982) 198114j.
- [73] A. Stütz, Fr. Pat.-Anm. 2498604; *Chem. Abstr.* 98 (1983) 54196k.
- [74] A. Stütz, DOS 3302814; *Chem. Abstr.* 99 (1983) 212414g.
- [75] A. Stütz, DOS 3316093; *Chem. Abstr.* 100 (1984) 85436c.
- [76] H. Hamberger, A. Stephen, A. Stütz, P. Stütz, DOS 3405332 (1985).
- [77] M. Graßberger, A. Stütz, G. Petranyi, DOS 3405334 (1985).
- [78] M. Graßberger, A. Stütz, DOS 3405333 (1985).
- [79] A. Stütz, DOS 3405329 (1985).
- [80] A. Stütz, DOS 3405330 (1985).