

Institut für Pharmazeutische Chemie¹ der Technischen Universität Braunschweig, Institut für Pharmazeutische Chemie² der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg und Biochemisches Institut³ der Universitätsklinik Gießen, Germany

Thieno[2,3-*c*]chinoline – Synthese und biologische Prüfung

K. GÖRLITZER¹, B. GABRIEL¹, P. FROHBERG², I. WOBST², G. DRUTKOWSKI², J. WIESNER,³ H. JOMAA³

Eingegangen am 6. August 2003, angenommen am 10. September 2003

Prof. Dr. K. Görlitzer, Institut für Pharmazeutische Chemie, Beethovenstraße 55, D-38106 Braunschweig
k.goerlitzer@tu-bs.de

Pharmazie 59: 439–442 (2004)

Der durch Suzuki-Kreuzkupplung von 3-Iodthiophen-2-carbonsäuremethylester (**2**) mit 2-Nitrophenylboronsäure erhaltene 3-(2-Nitrophenyl)thiophen-2-carbonsäuremethylester (**3**) liefert bei der pH-abhängigen Reduktion die cyclische Hydroxamsäure **4** bzw. das Lactam **5**. Das Lactam **5** ist auch durch Umsetzung der Verbindung **2** mit dem 2-Aminophenylboronsäurepinacolester direkt zugänglich. Beim Erhitzen des Lactams **5** mit POCl₃/PCl₅ entsteht das 4-Chlorthieno[2,3-*c*]chinolin **6**. Durch Reaktion von **6** mit der Novaldiamin-Base in einer Phenolschmelze wird das Chloroquin-Analoga **7** gebildet, während mit Phenol-Mannich-Basen die Amodiaquin- bzw. Cycloquin-Analoga **8** und **9** dargestellt werden. Die Hydroxamsäure **4** zeigt eine geringe Beeinflussung der Eicosanoidbiosynthese im menschlichen Vollblut. Das Wachstum des Chloroquin-resistenten *Plasmodium-falciparum*-Stamms Dd2 wird durch das Pyronaridin-Derivat **9** mit einem IC₅₀-Wert von 650 nM gehemmt.

Thieno[2,3-*c*]quinolines – synthesis and biological investigation

pH-Dependant reduction of the methyl 3-(2-nitrophenyl)thiophene-2-carboxylate (**3**), obtained by Suzuki cross-coupling of the methyl 3-iodothiophene-2-carboxylate with 2-nitrophenyl boronic acid yields the cyclic hydroxamic acid **4** and the lactam **5**, respectively. The lactam **5** is also formed by reacting the compound **2** with pinacolato 2-aminophenylboronate. The 4-chlorothieno[2,3-*c*]quinoline **6** is formed from the lactam **5** by heating with POCl₃/PCl₅. Melting of **6** with the novaldiamine base in phenol gives the chloroquine analogue **7**, whereas the amodiaquine and the cycloquine analogues **8** and **9** are obtained using phenol Mannich bases. The hydroxamic acid **4** has a moderate effect on eicosanoid biosynthesis in human whole blood. The growth of the chloroquine resistant *Plasmodium falciparum* strain Dd2 is inhibited by the pyronaridine derivative **9** with an IC₅₀-value of 650 nM.

1. Einleitung

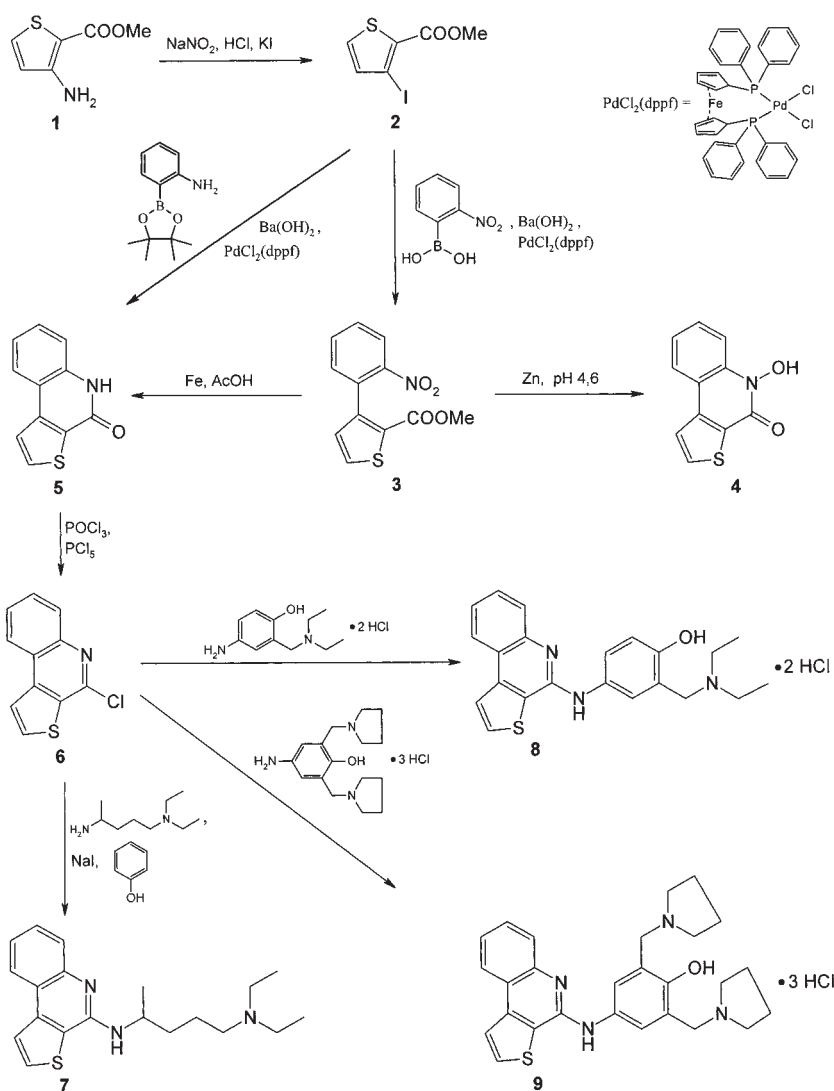
Die 3-Aryl-2-hydroxy-5-methyl-2,3-dihydrofuran-2,4-dicarbonsäureester (Görlitzer und Behrje 1996a; Görlitzer et al. 2002a) reagieren nach Ringöffnung des cyclischen Halbacetals zum 1,4-Diketon mit Aminem bzw. Hydrazin unter Recyclisierung zu Pyrrol- bzw. 1,4-Dihydropyridazin-Derivaten (Taylor et al. 1989; Görlitzer und Behrje 1996a; Görlitzer et al. 2002a; Görlitzer et al. 2002b; Görlitzer et al. 2002c). Die Darstellung der korrespondierenden Thiophene durch Umsetzung mit Lawesson's Reagenz ist dagegen nicht gelungen. Ausgehend von Furan-Derivaten mit einem 3-(2-Nitrophenyl)-Substituenten sind cyclische Hydroxamsäuren vom Furo-, Pyrrolo- und Pyridazinochinolin-Typ synthetisiert und auf Lipoxxygenase-Hemmung untersucht worden (Görlitzer und Behrje 1996b; Görlitzer et al. 2002a; Görlitzer et al. 2002b; Görlitzer et al. 2002c). Um zu Thienochinolinen zu gelangen, musste ein anderer Weg eingeschlagen werden.

2. Untersuchungen, Ergebnisse und Diskussion

2.1. Synthesen

Ausgehend vom kommerziell erhältlichen 3-Aminothiophen-2-carbonsäuremethylester (**1**) wurde durch Diazotierung und nachfolgende Umsetzung mit Kaliumiodid der 3-Iodthiophen-2-carbonsäuremethylester (**2**) (Corral et al. 1985) gebildet. Dieser wurde in einer Suzuki-Reaktion (Miyaura und Suzuki 1995) mit der käuflichen 2-Nitrophenylboronsäure gekuppelt. Die optimierte Kreuzkupplung erfolgte in wässriger Dimethylformamid-Lösung mit [1,1'-Bis-(diphenylphosphino)ferrocen]-palladium(II)-chlorid (Pddppf) als Katalysator und Bariumhydroxid als Base. Der in 72 % Ausbeute gewonnene 3-(2-Nitrophenyl)thiophen-2-carbonsäuremethylester (**3**) lieferte mit Zink im Acetatpuffer pH 4.6 durch Reduktion der Nitrogruppe zum Hydroxylamin und nachfolgendem Ringschluss mit dem Ester die Hydroxamsäure **4**; mit Eisen/Essigsäure cyclisierte das intermediär erzeugte Amin zum Lactam **5**. Das 2-Chinolon **5** war auch in einer Tandem-Reaktion durch Suzuki Kreuzkupplung des Iodthiophens **2**

Schema



mit dem kommerziell erhältlichen 2-Aminophenylboronsäurepinacolester, Pddppf sowie Bariumhydroxid und anschließenden Ringschluss direkt zugänglich. Die Synthese des Thieno[2,3-*c*]chinolin-4(5*H*)-ons **5** wurde bereits früher auf verschiedenen anderen Wegen beschrieben (Arcus und Barrett 1961; Karnaoka und Itoh 1972; Gronowitz und Timari 1990).

Das Lactam **5** ließ sich mit Phosphoroxychlorid/Phosphor-pentachlorid in das 4-Chlorthieno[2,3-*c*]chinolin **6** überführen. Durch nucleophilen Austausch des Chlor-Substituenten der Verbindung **6** mit *N,N*-Diethyl-1,4-pentandiamin (Novaldiamin-Base) in einer Phenolschmelze unter Zusatz von Natriumiodid (Andersag 1948) gelang die Darstellung der zu Chloroquin analogen tricyclischen Substanz **7**. Durch Einleiten von Chlorwasserstoff in die ätherische Lösung der Base wurde das Dihydrochlorid gebildet. Das Chlorchinolin-Derivat **6** reagierte mit den Phenol-Mannich-Basen 4-Amino-2-diethylaminophenol-dihydrochlorid (Burckhalter et al. 1948) und 4-Amino-2,6-bis-(1-pyrrolidinomethyl)-phenoltrihydrochlorid (Stout et al. 1983) beim Erhitzen in Ethylenglykolmonoethylether zu dem Amodiaquin-Analogen **8** bzw. dem Pyronaridin-analogen Derivat **9** (Schema).

2.2. Biologische Prüfung

2.2.1. Prüfung auf Lipoxygenase-Hemmung (Görlitzer et al. 2002c)

Die cyclische Hydroxamsäure **4** wurde zunächst *in vitro* an Sojabohnen-Lipoxygenase (15-LOX) getestet, wobei die Enzymaktivität nach Zugabe von Linolsäure als Substrat in einem polarographischen Messverfahren erfasst wurde (Clemens et al. 2001). Die Testsubstanz zeigte bei einer Konzentration von $100 \mu\text{M}$ nur eine geringe Hemmung ($< 25\%$) der Sojabohnen-LOX. Bei der Prüfung von **4** auf die Wirksamkeit im menschlichen Vollblut wurden Leukotrien B_4 (LTB_4) und 5-HETE als Arachidonsäure-Metabolite des 5-LOX-Weges sowie 12-HETE und 15-HETE als Metabolite des 12-LOX- bzw. 15-LOX-Weges quantifiziert. Die bei einer Konzentration von $10 \mu\text{M}$ ermittelten prozentualen Hemmwerte für LTB_4 ($40 \pm 10\%$), 5-HETE ($20 \pm 33\%$), 12-HETE ($37 \pm 15\%$) und 15-HETE ($13 \pm 3\%$) sind für die Eicosanoide 5-, 12-, 15-HETE nicht signifikant ($P < 0.05$). Im Falle des LTB_4 deutet der Hemmwert auf einen IC_{50} -Wert $> 10 \mu\text{M}$ hin. Im Vergleich zu dem 5-LOX-Inhibitor Zileuton, der die LTB_4 -Bildung mit einem IC_{50} -Wert von $0.7 \mu\text{M}$ hemmt (Carter et al. 1991), ist die Hemmwirkung von **4** zu

schwach, um eine Weiterentwicklung in dieser Substanzklasse zu betreiben.

2.2.2. Prüfung auf Wirksamkeit gegen Malaria

Die Verbindungen **7–9** wurden auf ihre Hemmwirkung gegen intraerythrocytäre Formen des *Plasmodium-falciparum*-Stammes Dd2 geprüft. Dazu wurde ein halbautomatisiertes Mikroverdünnungsverfahren benutzt, bei dem das Wachstum der Parasiten durch den Einbau Tritium-markierten Hypoxanthins bestimmt wird (Desjardins et al. 1979). Der Stamm Dd2 ist gegen verschiedene Malariamittel wie Chloroquin, Cycloguanil und Pyrimethamin resistent, aber voll empfindlich gegen Lumefantrin und Artemisinin. Die Chloroquin-analoge Substanz **7** inhibierte das Wachstum der Parasiten mit einer IC₅₀ von 8000 nM, die mit Amodiaquin verwandte Verbindung **8** war mit einer IC₅₀ von 2400 nM aktiv. Die beste Aktivität zeigte das Pyronaridin-Derivat **9** (IC₅₀ = 650 nM). Diese Werte deuten auf eine signifikante Wirksamkeit gegen Malaria hin. Allerdings sind die Aktivitäten im Vergleich zu den etablierten Antimalaria-Wirkstoffen aus der Klasse der 4-Aminochinoline, bei denen unter vergleichbaren Bedingungen IC₅₀-Werte ≤ 20 nM gemessen werden, gering.

3. Experimenteller Teil

3.1. Allgemeine Angaben

Schmp.: Linstrom-Gerät (SPA-1, Fa. Bühler), nicht korrigiert. Elementaranalysen: C–H–N–O Elemental Analyzer 1106, Carlo Erba; die Ergebnisse lagen bei den jeweiligen Verbindungen innerhalb der üblichen analytischen Grenzen. UV-Spektren: Philips Analytical PU 8730 Spektrophotometer. IR-Spektren: Philips Analytical PU 9800 FT-IR-Spektrometer. ¹H NMR (400.13 MHz) und ¹³C NMR (100.16 MHz): Bruker AM-400 und Bruker DRX-400 (NMR-Laboratorien der Chemischen Institute der TU Braunschweig; einschließlich der DEPT-Messungen). Die chemischen Verschiebungen sind in ppm nach der δ_{TMS}-Skala angegeben. MS: Finnigan-MAT 8430 und Finnigan-MAT 8400-MSS I (Institut für Organische Chemie der TU Braunschweig). Elektronenstoß Ionisation (EI)-MS: Ionisationsenergie 70 eV. HPLC: L-6200A Gradienten-Pumpe, AS-2000 A Autosampler, D-6000A Interface, L-7450 Dioden-Array-Detektor, D-7000 HPLC System Manager (alle Geräte Fa. Merck und Hitachi), Trennsäule: LiChroCart 125-4, LiChrospher 100 RP-18 (5 µm), isokratisch, Auftragevolumen: 20 µl, Detektion: 250 nm, Nettoretentionszeit (t_r): Totzeit (t_m) bestimmt mit Thioharnstoff. FC: Säule: 40 mm Durchmesser, 1000 mm Länge, Kieselgel 60 (Fa. Merck).

3.2. Methyl-3-(2-nitrophenyl)-2-thiophencarboxylat (**3**)

1.35 g (5 mmol) Methyl-3-iod-2-thiophencarboxylat (**2**), 1.25 g (7.5 mmol) 2-Nitrophenyl-boronsäure, 2.35 g (7.5 mmol) Ba(OH)₂ und 0.40 g (0.5 mmol) [1,1'-Bis(diphenylphosphino)-ferrocen]palladium(II)-chlorid (Komplex mit CH₂Cl₂ 1 : 1) werden in einer Mischung aus 30 ml DMF/10 ml H₂O gelöst und unter N₂ 8.5 h bei 80 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wird der Ansatz mit 300 ml Et₂O versetzt und der ausfallende Feststoff abgenutscht. Die organische Phase wird mit 150 ml einer gesättigten NaCl-Lösung und 150 ml H₂O gewaschen. Nach Trocknung über Na₂SO₄ wird das Lösemittel abdestilliert und der Rückstand einer FC (Eluent: EtOAc/Petroläther 1 : 6) unterworfen. Ausbeute: 0.94 g (71.5 %). Gelbliche Kristalle, Schmp.: 107 °C (EtOH). IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 1708 (C=O), 1611 (C=C), 1517, 1350 (NO₂). UV (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 204 nm (4.26), 217 (4.15), 257 (4.20). ¹H NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 3.70 (s, 3 H, CH₃), 7.05 (d, J = 5.1 Hz, 1 H, 4-H), 7.36 (dd, J = 1.4 Hz, J = 7.6 Hz, 1 H, 6'-H), 7.54 (dt, J = 1.4 Hz, J = 7.6 Hz, 1 H, 4'-H), 7.59 (d, J = 5.1 Hz, 1 H, 5-H), 7.64 (dt, J = 1.4 Hz, J = 7.6 Hz, 1 H, 5'-H), 8.10 (dd, J = 1.4 Hz, J = 7.6 Hz, 1 H, 3'-H). ¹³C NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 52.36 (CH₃), 124.58 (C-3'), 128.14 (C-2), 129.15 (C-4'), 130.52 (C-4), 131.26 (C-5), 131.82 (C-1'), 131.93 (C-6'), 132.85 (C-5'), 143.81 (C-3), 149.10 (C-2'), 162.26 (C=O). Zuordnung der Signale über HSQC- und HMBC-Spektren gesichert! MS (EI): m/z (%) = 263 [M]⁺ (1), 217 (100). HPLC: t_r = 1.07 min (FM: H₂O/MeCN 30 : 70; t_m = 1.00). C₁₂H₉NO₄ (263.2)

3.3. 4,5-Dihydro-5-hydroxythieno[2,3-c]chinolin-4-on (**4**)

0.58 g (2.2 mmol) **3** werden in 22.5 ml EtOH gelöst. Nach Zusatz von 6 ml Acetat-Pufferlösung pH 4.6 R (Ph. Eur. 1997) und sechs Zn-Grana-

lien (Zink, aktiviertes R; Ph. Eur. 1997) wird der Ansatz 2 h rückfließend erhitzt. Der entstandene Niederschlag wird abgenutscht, zweimal mit Et₂O gewaschen und unter Zusatz von wenigen Tropfen EtOH in HCl (0.1 mol/l) suspendiert. Der nach 1 h starken Rührens verbleibende Niederschlag wird abgenutscht. Ausbeute: 0.20 g (41.9 %). Fast farblose Kristalle, Schmp.: 236 °C (EtOH). IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3500–2500 (NOH, assoziiert), 1619 (C=O), 1604 (C=C). UV (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 232 nm (4.62), 240 (4.56), 274 (3.92), 327 (3.89). ¹H NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 7.39 (t, J = 7.3 Hz, 1 H, 7-H), 7.65 (t, J = 7.3 Hz, 1 H, 8-H), 7.82 (d, J = 7.3 Hz, 1 H, 9-H), 8.12 (d, J = 4.9 Hz, 1 H, 1-H), 8.21 (d, J = 4.9 Hz, 1 H, 2-H), 8.28 (d, J = 7.3 Hz, 1 H, 6-H), 11.47 (s, 1 H, OH). ¹³C NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 113.40 (C-6), 116.13 (C-9a), 122.58 (C-8), 123.31 (C-9), 124.00 (C-3a), 124.38 (C-1), 129.39 (C-7), 134.05 (C-2), 137.31 (C-5a), 140.49 (C-9b), 153.83 (C-4). MS (EI): m/z (%) = 217 [M]⁺ (26), 201 (100). HPLC: t_r = 1.44 min (FM: NEt₃ · HCOOH/MeCN 50 : 50; t_m = 0.91). C₁₁H₇NO₂S (217.2)

3.4. 4,5-Dihydrothieno[2,3-c]chinolin-4-on (**5**)

3.4.1. Methode A

1.60 g (6 mmol) **3** werden in einer Mischung aus 125 ml THF, 12.5 ml AcOH, und 12.5 ml H₂O gelöst, mit 4.47 g (8 mmol) Fe-Späne versetzt und 6 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Entfernen der Fe-Späne wird das Lösemittel i. Vak. abdestilliert und der verbleibende Rückstand in 200 ml H₂O aufgenommen. Die wässrige Lösung wird mit HCl (1 mol/l) angesäuert auf pH ~ 1 und der ausfallende Feststoff abgenutscht. Ausbeute: 1.12 g (92.8 %).

3.4.2. Methode B

0.22 g (0.8 mmol) **2**, 0.29 g (1.2 mmol) 2-Aminophenylboronsäurepinakolester, 0.41 g (1.2 mmol) Ba(OH)₂ und 0.07 g (0.08 mmol) [1,1'-Bis(diphenylphosphino)ferrocen]palladium(II)-chlorid-Komplex mit CH₂Cl₂ (1 : 1) werden in einer Mischung aus 60 ml DMF/20 ml H₂O gelöst und unter N₂ 5 h bei 80 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wird der Ansatz mit 100 ml Et₂O versetzt und der ausfallende Feststoff abgenutscht. Das Lösemittel wird i. Vak. abdestilliert und der verbleibende Rückstand in 100 ml H₂O aufgenommen. Die wässrige Lösung wird mit HCl (1 mol/l) angesäuert auf pH ~ 1 und der ausfallende Feststoff abgenutscht. Ausbeute: 0.02 g (12.4 %). Fast farblose Kristalle, Schmp.: 280 °C (EtOH). ¹³C-NMR([D₆]DMSO): δ (ppm) = 116.05 (C-6), 116.85 (C-9a), 122.13 (C-8), 123.41 (C-1), 124.14 (C-9), 128.94 (C-7), 129.95 (C-5a), 134.19 (C-2), 137.34 (C-3a), 143.01 (C-9b), 157.65 (C-4). HPLC: t_r = 0.48 min (FM: H₂O/MeCN 30 : 70; t_m = 1.00). C₁₁H₇NOS (201.2)

3.5. 4-Chlorthieno[2,3-c]chinolin (**6**)

0.50 g (2.5 mmol) **5** und 0.70 g (3.5 mmol) PCl₅ werden in 30 ml POCl₃ gelöst und 2.5 h rückfließend erhitzt. Nach dem Abkühlen wird der Ansatz in 300 ml Eiswasser eingerührt und mit festem NaHCO₃ neutralisiert. Der gebildete Schaum wird in Petroläther gelöst, zuerst mit ges. NaCl-Lösung, dann mit H₂O gewaschen und das Lösemittel i. Vak. abdestilliert. Der Rückstand wird einer FC (Eluent: EtOAc/Petroläther 1 : 9) unterworfen. Ausbeute: 0.50 g (91.3 %). Farblose Nadeln, Schmp.: 122 °C (EtOH). IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 1562 (C=N, C=C). UV (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 224 nm (4.53), 229 (4.56), 251 (4.12), 261 (3.93), 268 (3.93), 299 (3.87), 320 (3.84), 333 (3.91). ¹H NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.66 (dt, J = 1.3 Hz, J = 7.5 Hz, 1 H, 7-H), 7.73 (dt, J = 1.3 Hz, J = 7.5 Hz, 1 H, 8-H), 7.90 (d, J = 5.4 Hz, 1 H, 1-H), 7.99 (d, J = 5.4 Hz, 1 H, 2-H), 8.15 (dd, J = 1.3 Hz, J = 7.5 Hz, 1 H, 9-H), 8.24 (dd, J = 1.3 Hz, J = 7.5 Hz, 1 H, 6-H). ¹³C NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 122.41 (C-2), 123.39 (C-8), 123.69 (C-3a), 127.14 (C-1), 128.83 (C-9), 129.08 (C-6), 132.51 (C-9a), 132.86 (C-7), 143.87 (C-9b), 144.34 (C-5a), 144.75 (C-4). MS (EI): m/z (%) = 219 [M]⁺ (100). HPLC: t_r = 2.95 min (FM: H₂O/MeCN 30 : 70; t_m = 1.00). C₁₁H₆CINS (219.6)

3.6. (R,S)-N⁴-(Thieno[2,3-c]chinolin-4-yl)-N¹,N¹-diethyl-1,4-pentandiamin (**7**)

0.37 g (1.7 mmol) **6**, 0.19 g Phenol, 0.03 g NaI und 0.56 g (3.5 mmol) N¹,N¹-Diethyl-1,4-pentandiamin werden gemischt und 1 h auf 160 °C erhitzt. Der Ansatz wird in 100 ml 15 % iger H₂SO₄ aufgenommen und mit 150 ml CHCl₃ ausgeschüttelt. Nach Trocknung über Na₂SO₄ wird die organische Phase eingengt und der Rückstand einer FC (Eluent: EtOAc/Petroläther/HNEt₂ 5 : 15 : 1) unterworfen. Ausbeute: 0.22 g (38.4 %). Gelbes Öl. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3423 (NH), 1568 (C=N, C=C). UV (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 204 nm (4.32), 237 (4.70), 248 (4.42), 336 (3.88), 349 (3.84). ¹H NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 1.07 (t, J = 7.2 Hz, 6 H, CH₂CH₃), 1.36 (d, J = 5.7 Hz, 3 H, CH₃), 1.67–1.77 (m, 4H, CH₂CH₂), 2.67 (t, q, J = 7.2 Hz, 6 H, N(CH₂)₂), 4.66 (s, 1 H, NH), 4.66 (m_c, 1H, CH), 7.31 (dt, J = 1.5 Hz, J = 7.7 Hz, 1 H, 7'-H), 7.53 (dt, J = 1.5 Hz, J = 7.7 Hz, 1 H,

8'-H), 7.65 (d, J = 5.3 Hz, 1H, 1'-H), 7.82 (dd, J = 1.5 Hz, J = 7.7 Hz, 1H, 9'-H), 7.87 (d, J = 5.3 Hz, 1H, 2'-H), 8.05 (dd, J = 1.5 Hz, J = 7.7 Hz, 1H, 6'-H). ¹³C NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 11.62 (CH₂CH₃), 21.32 (CHCH₃), 23.78 (C-2), 35.35 (C-3), 46.50 (C-4), 46.92 (CH₂CH₃), 52.97 (C-1), 121.00 (C-3a'), 122.17 (C-8'), 122.84 (C-2'), 123.02 (C-6'), 126.99 (C-9'), 127.94 (C-1'), 128.03 (C-7'), 130.50 (C-9a'), 143.00 (C-9b'), 146.00 (C-5a'), 150.72 (C-4'). MS (EI): m/z (%) = 341 [M]⁺ (<1), 86 (100). HPLC: t_s = 0.64 min (FM: H₂O/MeCN 30:70; t_m = 1.00). C₂₀H₂₇N₃S (341.3)

3.7. (R,S)-N⁴-(Thieno[2,3-c]chinolin-4-yl)-N¹,N¹-diethyl-1,4-pentandiamin-dihydrochlorid (7 · 2 HCl)

0.14 g (0.4 mmol) 7 werden in 20 ml Et₂O gelöst und HCl eingeleitet. Der entstandene Niederschlag wird abgenutscht. Ausbeute: 0.1 g (64.6%). Fast farblose Kristalle, Schmp.: 238 °C (EtOH). IR (KBr): ν̄ (cm⁻¹) = 3414 (NH), 1638, 1609 (C=N, C=C). UV (MeOH): λ_{max}(lg ε) = 206 nm (4.37), 231 (4.72), 238 (4.73), 266 (4.12), 285 (3.90), 331 (4.10), 344 (4.07). ¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 1.19 (t, J = 7.2 Hz, 6H, CH₂CH₃), 1.37 (d, J = 6.3 Hz, 3H, CHCH₃), 1.71–1.89 (m, 4H, CH₂CH₂), 3.04–3.12 (m, 6H, N(CH₂)₃), 4.81 (s, 1H, CH), 7.57 (t, J = 7.5 Hz, 1H, 7'-H), 7.74 (t, J = 7.5 Hz, 1H, 8'-H), 8.31 (d, J = 5.3 Hz, 1H, 1'-H), 8.40 (d, J = 7.5 Hz, 2H, 6'-H, 9'-H), 8.51 (d, J = 5.3 Hz, 1H, 2'-H), 9.51 (s, 1H, N⁴-H), 10.23 (s, 1H, N¹-H), 13.45 (s, 1H, N⁵-H). ¹³C NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 8.29 (CH₂CH₃), 8.34 (C-5), 19.64 (C-2), 20.02 (CH₂CH₃), 32.10 (C-3), 45.91 (CH₂CH₃), 48.94 (C-4), 50.19 (C-1), 118.16 (C-9a'), 118.87 (C-6'), 121.61 (C-5a'), 123.41 (C-9'), 124.27 (C-7'), 125.02 (C-8'), 129.90 (C-1'), 134.85 (C-9b'), 137.94 (C-2'), 144.53 (C-3a'), 147.97 (C-4'). MS (EI): m/z (%) = 341 [M]⁺ (18), 86 (100). HPLC: t_s = 4.26 min (FM: NEt₃ · HCOOH/MeOH 50:50; t_m = 1.07). C₂₇H₂₉Cl₂N₃S (414.2)

3.8. 4-(Thieno[2,3-c]chinolin-4-yl)-amino-2-diethylaminomethylphenol-dihydrochlorid (8)

0.33 g (1.5 mmol) 6 werden unter Erwärmen in 30 ml Ethylenglycolmonoethyläther gelöst, mit 0.40 g (1.5 mmol) 4-Amino-2-diethylaminomethylphenol-dihydrochlorid versetzt und 9 h auf 120 °C erhitzt. Das Lösemittel wird i. Vak. abdestilliert und der verbleibende Rückstand mit einer Mischung aus n-Hexan/EtOAc/EtOH abs. (1:1:1) umkristallisiert. Die ausgefallenen Kristalle werden abgenutscht und mit n-Hexan gewaschen. Ausbeute: 0.17 g (25.2%). Gelbe Kristalle, Schmp.: 128 °C (EtOH/Et₂O). IR (KBr): ν̄ (cm⁻¹) = 3424 (OH, NH), 1637, 1553 (C=N, C=C). UV (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 202 nm (4.70), 233 (4.75), 265 (4.47), 292 (4.27), 345 (4.19). ¹H NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 1.29 (t, J = 7.3 Hz, 6H, CH₂CH₃), 3.11–3.22 (m, 4H, CH₂CH₃), 4.27 (s, 2H, ArCH₂), 7.12 (d, J = 8.6 Hz, 1H, 6-H), 7.54 (dd, J = 2.3 Hz, J = 8.6 Hz, 1H, 5-H), 7.61 (t, J = 7.4 Hz, 1H, 7'-H), 7.74 (t, J = 7.4 Hz, 1H, 8'-H), 7.84 (d, J = 2.3 Hz, 1H, 3-H), 7.99 (d, J = 7.4 Hz, 1H, 9'-H), 8.35 (d, J = 5.3 Hz, 1H, 1'-H), 8.47 (d, J = 7.4 Hz, 1H, 6'-H), 8.52 (d, J = 5.3 Hz, 1H, 2'-H), 10.04 (s, 1H, NH), 11.02 (s, 1H, NH_{tert. Amin.}), 11.22 (s, 1H, OH), 13.60 (s, 1H, N⁵-H). ¹³C NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 8.45 (CH₃), 46.04 (N(CH₂)₂), 48.87 (ArCH₂), 116.88 (C-9'), 117.57 (C-9a'), 118.50 (C-6'), 120.40 (C-5a'), 122.99 (C-6), 124.53 (C-3), 125.34 (C-7'), 125.79 (C-9b'), 130.27 (C-8'), 130.52 (C-5), 132.04 (C-1'), 134.03 (C-4), 138.64 (C-2), 139.71 (C-2'), 146.11 (C-1), 149.10 (C-3a'), 157.28 (C-4'). MS (EI): m/z (%) = 377 [M]⁺ (21), 201 (100). HPLC: t_s = 5.25 min (FM: NEt₃ · HCOOH/MeOH 50:50; t_m = 1.07). C₂₂H₂₅Cl₂N₃OS (450.2)

3.9. 4-(Thieno[2,3-c]chinolin-4-yl)-amino-2,6-bis-(dipyrrolidinomethyl)phenol-trihydrochlorid (9)

Darstellung analog 8 mit 0.58 g (1.5 mmol) 4-Amino-2,6-bis-(dipyrrolidinomethyl)phenol-trihydrochlorid; es wird 10 h auf 120 °C erhitzt. Ausbeute: 0.46 g (54.2%). Gelbe Kristalle, Schmp.: 208 °C (EtOH). IR (KBr): ν̄ (cm⁻¹) = 3342 (NH), 3182 (OH), 1632, 1610, 1561 (C=N, C=C). UV (MeOH): λ_{max} (lg ε) = 202 nm (4.67), 233 (4.57), 268 (4.35), 292 (4.15), 343 (4.07). ¹H NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 1.91 (s_{br.}, 4H, N(CH₂CH₂)₂), 2.04 (s_{br.}, 4H, N(CH₂CH₂)₂), 3.21 (s_{br.}, 4H, N(CH₂CH₂)₂), 3.51 (s_{br.}, 4H, N(CH₂CH₂)₂), 4.54 (s, 4H, ArCH₂), 7.61 (t, J = 7.4 Hz, 1H, 7'-H), 7.76 (t, J = 7.4 Hz, 1H, 8'-H), 7.89 (s, 2H, 3-H, 5-H), 8.08 (d, J = 8.4 Hz, 1H, 9'-H), 8.35 (d, J = 5.3 Hz, 1H, 1'-H), 8.46 (d, J = 7.4 Hz, 1H, 6'-H), 8.54 (d, J = 5.3 Hz, 1H, 2'-H), 10.51 (s, 1H, NH), 10.93 (s, 2H, NH_{dipyrrolidin.}), 11.40 (s, 1H, OH), 13.92 (s, 1H, N⁵-H). ¹³C-NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 22.41 (N(CH₂CH₂)₂), 51.05 (ArCH₂), 52.46 (N(CH₂CH₂)₂), 118.97 (C-6'), 119.84 (C-9a'), 121.04 (C-2, C-6), 121.56 (C-3, C-5), 123.15 (C-8'), 124.36 (C-7'), 125.22 (C-9'), 127.83 (C-5a'), 130.20 (C-1'), 131.93 (C-4), 132.12 (C-2'), 138.88 (C-9b'), 145.82 (C-1), 148.62 (C-3a'), 154.70 (C-4'). MS (EI): m/z (%) = 458 [M]⁺ (7), 43 (100). HPLC: t_s = 1.86 min (FM: NEt₃ · HCOOH/MeOH 50:50; t_m = 1.07). C₂₇H₃₃Cl₃N₄O (567.7)

3.10. In-vitro-Kultur von P. falciparum

Die Kultur von *P. falciparum* erfolgt in RPMI 1640-Medium, das mit 10 % humanem Serum und HEPES-Puffer supplementiert wird (Trager und Jensen 1976). Als Wirtszellen dienen humane Erythrozyten. Für die Erhaltungskultur werden Petrischalen mit 10 cm Durchmesser verwendet. Das Kulturvolumen pro Schale beträgt 10 ml bei einem Hämatokrit von 5%. Die Kulturen werden unter einer Atmosphäre von 5% O₂, 3% CO₂ und 92% N₂ bei 37 °C gehalten. Das Medium wird täglich gewechselt, und die Kulturen bei Erreichen einer Parasitämie von maximal 5% verdünnt. Die Parasitämie wird an Giemsa-gefärbten Ausstrichen mikroskopisch bestimmt.

3.11. Bestimmung der In-vitro-Antimalaria-Aktivität

Versuche zur Bestimmung der *In-vitro*-Antimalaria-Aktivität werden auf 96-well-Mikrotiterplatten durchgeführt (Desjardins et al. 1979; Ancelin et al. 1998). Die einzelnen Vertiefungen werden mit jeweils 0.2 ml einer Suspension der infizierten Erythrozyten (2% Hämatokrit, 0.4% Parasitämie) beschickt. Anschließend werden Verdünnungsserien der Testsubstanzen auf den Platten hergestellt. Die Substanzen werden zuvor in DMSO gelöst und mit komplettem Kulturmedium vorverdünnt. Die Platten werden zunächst für 48 h inkubiert. Dann werden zu jeder Vertiefung 0.8 μ Ci [³H]Hypoxanthin in 50 μl Medium zugesetzt, und die Platten für weitere 24 h inkubiert. Die Parasiten werden durch Filtration über Glasfaserfilter geerntet. Die inkorporierte Radioaktivität wird mit einem β-Zähler (Matrix 9600; Packard) gemessen.

Literatur

- Ancelin ML, Calas M, Bompard J, Cordina G, Martin D, Ben Bari M, Jé T, Druilhe P, Vial HJ (1998) Antimalarial activity of 77 phospholipid polar head analogs: close correlation between inhibition of phospholipid metabolism and *in vitro* *Plasmodium falciparum* growth. *Blood* 91: 1426–1437.
- Andersag H (1948) Antimalariamittel aus der Gruppe halogensubstituierter Chinolinverbindungen. *Chem Ber* 81: 499–507.
- Arcus CL, Barrett GC (1961) Reactions of Organic Azides. Part X. The Schmidt Reaction with 3'-Oxoindeno(2',1'-2,3)thiophen: the Structure of the Product. *J Chem Soc*: 1408–1409.
- Burckhalter JH, Tendick FH, Jones EM, Jones PA, Holcomb WF, Rawlins AL (1948) Amino-alkylphenols as antimalarials. II. (Heterocyclic-amino)-α-amino-*o*-cresols. The synthesis of camoquin. *J Am Chem Soc* 70: 1363–1373.
- Carter GW, Young PR, Albert DH, Bouska J, Dyer R, Bell RL, Summers JB, Brooks DW (1991) 5-Lipoxygenase inhibitory activity of zileuton. *J Pharmacol Exp Ther* 256: 929–937.
- Clemens F, Drutkowski G, Wiese M, Froberg P (2001) The inactivation of lipoxygenase-1 from soybeans by amidrazones. *Biochim Biophys Acta* 1549: 88–98.
- Corral C, Lasso A, Lissavetzky J, Alvarez-Insúa AS, Valdeolmillos AM (1985) The behaviour of vicinal alkyl aminothiophenecarboxylates in the Sandmeyer and Schiemann reactions. *Heterocycles* 23: 1431–1435.
- Desjardins RE, Canfield CJ, Haynes JD, Chulay JD (1979) Quantitative assessment of antimalarial activity in vitro by a semiautomated microdilution technique. *Antimicrob Agents Chemother* 16: 710–718.
- Görlitzer K, Behrje H (1996a) Nifedipin-analoga 1,4-Dihydropyridazine, Furan und Pyrrole mit ungleichen Estergruppen. *Pharmazie* 51: 523–527.
- Görlitzer K, Behrje H (1996b) Furo-, Pyrrolo- und Pyridazino[3,4-c]chinoline. *Pharmazie* 51: 528–534.
- Görlitzer K, Fabian J, Jones PG, Froberg P, Drutkowski G (2002a) Furo[2,3-c]chinoline und Furo[3,4-c]chinoline – Synthese und Prüfung auf Lipoxygenase-Hemmung. *Pharmazie* 57: 159–168.
- Görlitzer K, Fabian J, Froberg P, Drutkowski G (2002b) Pyrrolo[2,3-c]chinoline und Pyrrolo[3,4-c]chinoline – Synthese und Prüfung auf Lipoxygenase-Hemmung. *Pharmazie* 57: 243–247.
- Görlitzer K, Fabian J, Jones PG, Froberg P, Drutkowski G (2002c) Pyridazino[3,4-c]chinoline und Pyridazino[4,5-c]chinoline – Synthese und Prüfung auf Lipoxygenase-Hemmung. *Pharmazie* 57: 362–371.
- Gronowitz S, Timari G (1990) Some reactions of thieno-fused quinoline *N*-oxides. *J Heterocycl Chem* 27: 1501–1504.
- Kanaoka Y, Itoh K (1972) Synthesis of heterocyclic-condensed quinolones by oxidative photochemical cyclization of amide systems. *Synthesis*: 36.
- Miyaura N, Suzuki A (1995) Palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organoboron compounds. *Chem Rev* 95: 2457–2483.
- Stout DM, Matier WL, Barcelon-Yang C, Reynolds RD, Brown BS (1983) Synthesis and antiarrhythmic and parasympholytic properties of substituted phenols. I. Heteroarylamine derivatives. *J Med Chem* 26: 808–813.
- Taylor MD, Anderson KR, Badger EW (1989) Heterocyclic ring-analogs of dihydropyridine calcium antagonists. *J Heterocycl Chem* 26: 1353–1356.
- Trager W, Jensen JB (1976) Human malaria parasites in continuous culture. *Science* 193: 673–675.