

Chloroquin-Analoga aus Benzofuro- und Benzothieno[3,2-*b*]-4-pyridon-2-carbonsäureestern³K. GÖRLITZER¹, H. MEYER¹, H. JOMAA², J. WIESNER²

Eingegangen am 30. September 2003, angenommen am 5. November 2003

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

Pharmazie 59: 590–592 (2004)

Ausgehend von den anellierten 4-Pyridon-2-carbonsäuremethylestern **4** wurden über die Carbonsäuren **5** deren Säurechloride und daraus mit der Novaldiamin-Base **6** die Amide **7** dargestellt. Der durch DIBAH-Reduktion des Esters **4b** gebildete Alkohol **8b** wurde in das Chlormethyl-Derivat **9** überführt, das mit **6** und 18-Krone-6 zum 2-Novaldiaminomethyl-4-pyridon **10** reagierte. Verbindung **10** wurde mit höherer Ausbeute durch Reduktion des Amids **7b** mit DIBAH gewonnen. Die Substanzen **7** und **10** waren bei der Prüfung gegen den Chloroquin-resistenten *Plasmodium falciparum*-Stamm Dd2 wirkungslos.

Chloroquine analogues from benzofuro- and benzothieno[3,2-*b*]-4-pyridone-2-carboxylic acid esters

The amides **7** were synthesized from the annulated methyl 4-pyridone-2-carboxylates **4** via the carboxylic acids **5** and their acid chlorides by reacting with the novaldiamine base **6**. The alcohol **8b**, obtained from DIBAH reduction of the ester **4b**, was transformed to the chloromethyl derivative **9** which reacted with **6** and 18-crown-6 leading to the 2-novaldiaminomethyl-4-pyridone **10**. Compound **10** was obtained with higher yield from DIBAH reduction of the amide **7b**. The substances **7** and **10** were inactive when tested against the chloroquine resistant *Plasmodium falciparum* strain Dd2.

1. Einleitung

Aus den 4-Chlorpyrido[3,2-*b*]indol-, 4-Chlor-[1]benzofuro[3,2-*b*]pyridin- und 4-Chlor-[1]benzothieno[3,2-*b*]pyridin-3-carbonsäureethylestern **1a–c** wurden die Chloroquin-analogen Novaldiamin-Derivate synthetisiert und auf ihre Wirkung gegen Malaria geprüft (Görlitzer et al. 2004a–c). Von diesen Substanzen hemmte das Indol-Derivat **2a** das Wachstum von *Plasmodium falciparum* am stärksten. Am Chloroquin-sensitiven Stamm 3D7 wurde ein IC₅₀-Wert von 150 nM und am resistenten Stamm Dd2 ein IC₅₀-Wert von 210 nM ermittelt. Im Rahmen der Untersuchung von Struktur-Wirkungs-Beziehungen sollten auch die den bisherigen Testsubstanzen **2** entsprechenden Isomere mit einer 2-Carbonsäureester-Funktion dargestellt und auf Antimalaria-Wirkung geprüft werden. Über die in der Benzo-

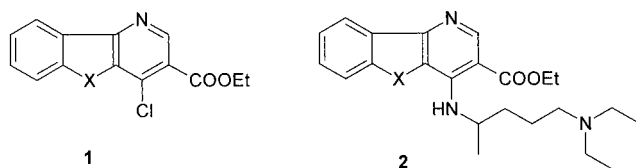
furo- und Benzothieno-pyridin-Reihe erzielten Ergebnisse wird im Folgenden berichtet.

2. Untersuchungen, Ergebnisse und Diskussion

2.1. Synthesen

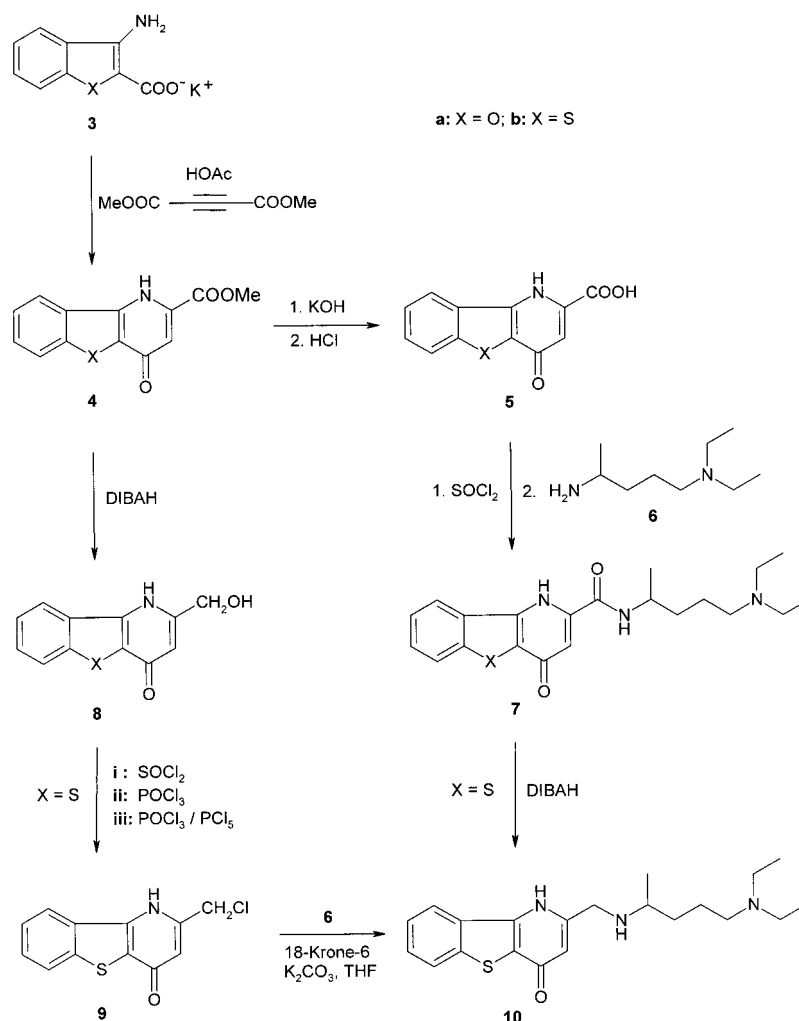
Die als Ausgangsverbindungen benötigten anellierten 4-Pyridon-2-carbonsäuremethylester **4** waren gut zugänglich. Sie wurden durch Umsetzung der heterocyclischen 3-Amino-2-carbonsäuren Kaliumsalze **3** mit Acetylendicarbonsäuredimethylester in Eisessig erhalten. Durch zweistündiges Erhitzen unter Rückfluss ließ sich die Ausbeute gegenüber den bisherigen Arbeiten bei Raumtemperatur drastisch steigern, und zwar bei **4a** von 21% auf 49% und bei **4b** von 19% auf 80% (Görlitzer und Kramer 2000a,b).

Die Umwandlung der 4-Pyridone **4** in die 4-Chlorpyridin-Derivate gelang jedoch weder durch Umsetzung mit überschüssigem Thionylchlorid oder Phosphorylchlorid noch durch die Verwendung eines Gemisches aus Phosphorylchlorid und Phosphorpentachlorid. Möglicherweise wurde diese Resistenz durch eine intra- oder intermolekulare H-Brückenbindung der Pyridon-NH-Gruppe mit der 2-Ester-Funktion bewirkt. Auch die direkte Umsetzung der 4-Pyridone **4** mit einem primären aliphatischen Amin wie der Novaldiamin-Base, Hexamethyldisilazan (HMDS) und



1, 2	a	b	c
X =	NH	O	S

Schema 1



4-Toluolsulfonsäure zu einem Pyridin-4-yl-amin schlug trotz Variation der Reaktionstemperatur und -zeit fehl.

Deshalb wurden die durch alkalische Verseifung der Ester **4** erhaltenen 3-Carbonsäuren **5** mit Thionylchlorid in die reaktiveren Carbonsäurechloride überführt und diese mit der Novaldiamin-Base **6** zu den Säureamiden **7** umgesetzt.

Andererseits wurden die Ester **4** mit Diisobutylaluminiumhydrid (DIBALH) in Tetrahydrofuran (THF) bei 0 °C zu den Carbinolen **8** reduziert. Nach dieser Methode ließen sich gegenüber Natriumborhydrid in Methanol (Görlitzer und Kramer 2000a,b) bei kürzerer Reaktionszeit höhere Ausbeuten erzielen. Die Reaktion des Alkohols **8b** mit verschiedenen Chlorierungsmitteln führte stets unter Erhalt der 4-Pyridon-Struktur zur 2-Chlormethyl-Verbindung **9**. Die höchste Ausbeute wurde beim Erhitzen von **8b** mit Phosphoroxytrichlorid erzielt. Eine Umsetzung von **9b** mit der Novaldiamin-Base **6**, auch im Überschuss und in Gegenwart einer Hilfsbase, fand nicht statt. Erst nach Zugabe eines Kronenethers trat die nucleophile Substitution unter Bildung des 3-Novaldiaminomethyl-4-pyridons **10** mit 19% Ausbeute ein. Durch Reduktion des Amids **7b** mit DIBALH konnte **10** dagegen mit 72% Ausbeute zugänglich gemacht werden. Charakteristisch für die anellierte, in 2-Stellung substituierte 4-Pyridone war das deutlich separierte Singulett des 3-H im ¹H-NMR-Spektrum, das in Abhängigkeit vom Elektronenzug des 2-Substituenten zwischen δ = 6.5 und 7.2 auftrat.

Tabelle: Wachstumshemmung des Chloroquin-resistenten Plasmodium falciparum-Stammes Dd2

Substanz	7a	7b	10	Chloroquin
IC ₅₀ [nM]	>10000	10000	10000	80

2.2. Prüfung auf Wirkung gegen Malaria (Görlitzer et al. 2004a)

Die Verbindungen **7a**, **7b** und **10** wurden in vitro am Chloroquin-resistenten *P. falciparum*-Stamm Dd2 geprüft. **7b** und **10** ergaben eine IC₅₀ von 10 µM; **7a** zeigte bei der höchsten getesteten Konzentration von 10 µM keine Wirkung (Tabelle). Aufgrund dieser geringen Aktivitäten wurden die Untersuchungen an 2-substituierten Benzofuro- und Benzothieno[3,2-*b*]-4-pyridonen eingestellt.

3. Experimenteller Teil

3.1. Allgemeine Angaben

Vgl. (Görlitzer et al. 2004a).

3.2. 2-Chlormethyl-1,4-dihydro-benzothieno[3,2-*b*]pyridin-4-on-Monohydrat (**9**)

3.2.1. Methode A

1.15 g (5 mmol) **8b** (Görlitzer und Kramer 2000b) werden in 50 ml POCl₃ unter Zugabe eines Tropfens DMF 2 h erhitzt. Das Lösungsmittel wird

i. Vak. entfernt und das schwarze, ölige Rohprodukt mit 50 ml Eis/H₂O versetzt. Das Öl wird durch Anreiben zur Kristallisation gebracht, abgesaugt, mit H₂O halogen- und säurefrei gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 1.12 g (84%).

3.2.2. Methode B

0.58 g (2.5 mmol) Substanz **8b** werden in 200 ml trockenem THF suspendiert, mit 5 ml frisch destilliertem SOCl₂ und einem Tropfen DMF 30 min unter Rückfluss und Feuchtigkeitsschluss erhitzt. Dann destilliert man das Lösungsmittel und den Überschuss an SOCl₂ ab, kühlt und nimmt den öligen Rückstand mit trockenem Et₂O auf. Man lässt den Ansatz über Nacht im Kühlschrank stehen und saugt das ausgefällte Rohprodukt ab. Ausbeute: 0.53 g (79%).

3.2.3. Methode C

0.81 g (3.5 mmol) **8b** werden mit 30 ml POCl₃ sowie 1 g PCl₅ versetzt und 15 h rückfließend erhitzt. Nach dem Erkalten wird der Reaktionsansatz i. Vak. zur Trockne eingengt, der Rückstand mit 150 ml Eis/H₂O versetzt und mit Na₂CO₃ neutralisiert. Man extrahiert dreimal mit 150 ml CHCl₃, trocknet die organische Phase über Na₂SO₄ und entfernt das organische Lösungsmittel i. Vak. Ausbeute: 0.60 g (64%). Gelbes Pulver, Schmp.: 244–246 °C (Zers.) (EtOH). IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3500–3400 (NH), 1644 (C=O), 1599, 1580 (C=N, C=C). UV (Dioxan): λ_{\max} (lg ϵ) = 239 nm (4.16), 257 (4.01), 276 (3.91), 302 (3.91), 321 (3.73), 350 (3.78). ¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 4.91 (s, 2H, CH₂Cl), 6.75 (s, 1H, 3-H), 7.55 (mc, 2H, 7-H, 8-H), 8.08 (d, J = 8 Hz, 1H, 6-H), 8.41 (d, J = 8 Hz, 1H, 9-H). MS (EI): m/z (%) = 249 (100) [M]⁺. HPLC (2): t_s = 0.35 min. C₁₂H₈NOSCl · H₂O (267.7)

3.3. 4-Oxo-1,4-dihydro-benzofuro[3,2-b]pyridin-2-(4-diethylamino-1-methyl-butyl)-carboxamid-Monohydrat (7a)

Darstellung gemäß 3.2.2. aus **5b** (Görlitzer und Kramer 2000a). 0.25 g (1 mmol) des ausgefällten Rohproduktes werden mit 0.32 g (2 mmol) N¹,N¹-Diethyl-1,4-pentandiamin in 10 ml Dioxan 30 min bei 90 °C erhitzt und noch heiß filtriert. Nach dem Abkühlen wird vorsichtig mit 10 ml Et₂O überschichtet und über Nacht gekühlt. Das ausgefällte Produkt wird abgesaugt und getrocknet. Ausbeute: 0.35 g (90%). Gelbe Kristalle, Schmp.: 205 °C (Dioxan/H₂O). IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3424, 3288 (NH), 1648, 1630 (C=O), 1587 (C=C). UV (Dioxan): λ_{\max} (lg ϵ) = 242 nm (4.12), 303 (3.78), 338 (4.03). ¹H NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 0.97 (t, J = 7 Hz, 6H, N(CH₂CH₃)₂), 1.19 (d, J = 7 Hz, 3H, CHCH₃), 1.43–1.60 (m, 4H, CH₂CH₂), 2.52 (t, q, J = 7 Hz, 6H, CH₂N, N(CH₂CH₃)₂), 4.05 (mc, 1H, CH), 6.73 (s, 1H, 3-H), 7.45 (t, J = 8 Hz, 1H, 8-H), 7.60 (dt, J = 8 Hz, J = 1 Hz, 1H, 7-H), 7.73 (d, J = 8 Hz, 1H, 6-H), 8.04 (d, J = 8 Hz, 1H, 9-H), 8.49 (d, J = 8 Hz, 1H, Amid-NH). ¹³C NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 11.26 (CHCH₃), 20.66 (NCH₂CH₃), 22.85 (CH₂CH₂CH₂), 33.62 (CH₂CH₂CH₂), 44.96 (NCH), 46.23 (NCH₂CH₃), 51.79 (NCH₂CH₂), 112.47 (CH), 120.58 (CH), 123.67 (CH), 128.83 (CH), 156.13 (C-3), 161.50 (CO, Pyridon), 161.85 (Amid). MS (EI): m/z (%) = 369 (3) [M]⁺, 86 (100). HPLC (1): t_s = 1.75 min. C₂₁H₂₇N₃O₃ · H₂O (387.5)

3.4. 4-Oxo-1,4-dihydro-benzothieno[3,2-b]pyridin-2-(4-diethylamino-1-methyl-butyl)carboxamid-Hemihydrat (7b)

Darstellung gemäß 3.2.2. aus **5b** (Görlitzer und Kramer 2000b) mit 250 ml THF. 0.26 g (1 mmol) des ausgefällten Rohproduktes wird, wie bei 3.3. beschrieben, umgesetzt. Ausbeute: 0.34 g (86%). Gelbe Kristalle, Schmp.: 229–231 °C (Dioxan/H₂O). IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3700, 3284 (NH), 1655, 1635 (C=O), 1578 (C=C). UV (Dioxan): λ_{\max} (lg ϵ) = 239 nm (4.34), 258 (3.98), 277 (3.83), 314 (3.78). ¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 0.94 (t, J = 7 Hz, 6H, N(CH₂CH₃)₂), 1.18 (d, J = 7 Hz, 3H, Alkyl-CH₃), 1.35–1.62 (m, 4H, CH₂CH₂), 2.46 (t, q, J = 7 Hz, 6H, CH₂N, N(CH₂CH₃)₂), 4.05 (mc, 1H, CH), 7.22 (s, 1H, 3-H), 7.48 (t, J = 8 Hz, 1H, 8-H), 7.54 (t, J = 8 Hz, 1H, 7-H), 8.01 (d, J = 8 Hz, 1H, 6-H), 8.40 (d, J = 8 Hz, 1H, 9-H), 8.72 (d, J = 8 Hz, 1H, Amid-NH). ¹³C-NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 11.17 (CHCH₃), 20.58 (NCH₂CH₃), 22.93 (CH₂CH₂CH₂), 33.49 (CH₂CH₂CH₂), 45.16 (NCH), 46.20 (NCH₂CH₃), 51.73 (NCH₂CH₂), 122.03 (CH), 123.16 (CH), 124.56 (CH), 127.76 (CH), 139.33 (qC), 141.57 (C-3), 162.89 (CO, Pyridon), 163.36 (CO, Amid). MS (EI): m/z (%) = 385 (8) [M]⁺, 86 (100). HPLC (1): t_s = 1.80 min. C₂₁H₂₇N₃O₂S · ½ H₂O (394.5)

3.5. 2-[(4-Diethylamino-1-methyl-butylamino)-methyl]-1,4-dihydro-benzothieno[3,2-b]pyridin-4-on-Hemihydrat (10)

3.5.1. Methode A

1.34 g (5 mmol) **9**, 0.79 g (5 mmol) N¹,N¹-Diethyl-1,4-pentandiamin, 0.70 g (5 mmol) K₂CO₃ und eine Spatelspitze 18-Krone-6 werden in 200 ml trockenem THF 8 h bei 60–70 °C gerührt. Nach dem Filtrieren wird eingengt und der Ansatz mit 50 ml H₂O versetzt. Anschließend wird mehrfach mit CHCl₃ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert, eingengt und abgesaugt. Ausbeute: 0.35 g (19%).

3.5.2. Methode B

1.18 g (3 mmol) **7b** werden in 50 ml THF suspendiert. Unter Eiskühlung werden 15 ml 1.0 M-Diisobutylaluminiumhydrid in THF tropfenweise zur gerührten Suspension gegeben. Während des Zutropfens entsteht eine klare, braune Lösung. Nach 30 min wird unter Eiskühlung solange tropfenweise MeOH/1N HCl (2:1) zugegeben, bis keine Gasentwicklung mehr zu erkennen ist. Man rührt weitere 30 min bei RT und verdünnt mit 200 ml THF, gibt 4.83 g Na₂SO₄ · 10 H₂O hinzu, rührt weitere 30 min und destilliert i. Vak. ab. Der Rückstand wird mit einer Mischung aus H₂O/EtOAc aufgenommen. Die wässrige Phase wird mehrfach mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert, i. Vak. auf 1/3 eingengt und abgesaugt. Ausbeute: 0.82 g (72%). Farblose Kristalle, Schmp.: 132 °C (EtOH/H₂O). IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3483 (NH), 1634 (C=O), 1582, 1540 (C=N, C=C). UV (Dioxan): λ_{\max} (lg ϵ) = 238 nm (4.01), 251 (3.95), 277 (3.84), 301 (3.85), 321 (3.61), 345 (3.65), 361 (3.63). ¹H NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 0.88 (t, J = 7 Hz, 6H, N(CH₂CH₃)₂), 1.03 (d, J = 6 Hz, 3H, Alkyl-CH₃), 1.26–1.43 (m, 4H, CH₂CH₂), 2.29 (t, J = 7 Hz, 2H, CH₂N), 2.37 (q, J = 7 Hz, 4H, N(CH₂CH₃)₂), 2.60 (mc, 1H, CH), 3.84 (dd, J = 15 Hz, J = 12 Hz, 2H, CH₂N), 6.53 (s, 1H, 3-H), 7.47 (t, J = 7 Hz, 1H, 8-H), 7.51 (t, J = 7 Hz, 1H, 7-H), 7.99 (d, J = 8 Hz, 1H, 6-H), 8.39 (d, J = 8 Hz, 1H, 9-H), 12.34 (br. s, 1H, 1-NH). MS (CI pos., NH₃): m/z (%) = 372 (16) [M+H]⁺, 159 (100). HPLC (2): t_s = 0.59 min. C₂₁H₂₉N₃OS · ½ H₂O (380.6)

3.6. In-vitro-Kultur von P. falciparum

(Trager und Jensen 1976; Görlitzer et al. 2004a)

3.7. Bestimmung der Antimalaria-Aktivität in vitro

(Ancelin et al. 1998; Desjardins et al. 1979; Görlitzer et al. 2004a)

³Aus der Dissertation Holger Meyer, TU Braunschweig 2003.

Literatur

- Ancelin ML, Calas M, Bompard J, Cordina G, Martin D, Ben Bari M, Jé T, Druille 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.
- 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, Kramer C (2000a) Potenzielle Antiallergika – Darstellung und Reaktionen von 1,4-Dihydro-4-oxo-[1]benzofuro[3,2-b]pyridin-2-carbonsäureestern. *Pharmazie* 55: 587–594.
- Görlitzer K, Kramer C (2000b) Potenzielle Antiallergika 3. Mitt.: Synthese und Transformations von 1,4-Dihydro-4-oxo-[1]benzothieno[3,2-b]pyridin-2-carbonsäureestern. *Pharmazie* 55: 645–650.
- Görlitzer K, Kramer C, Meyer H, Walter RD, Jomaa H, Wiesner J (2004a) Pyrido[3,2-b]indol-4-yl-amine – Synthese und Prüfung auf Wirksamkeit gegen Malaria. *Pharmazie* 59: 243–250.
- Görlitzer K, Meyer H, Walter RD, Jomaa H, Wiesner J (2004b) [1]Benzothieno[3,2-b]pyridin-4-yl-amine – Synthese und Prüfung auf Wirksamkeit gegen Malaria. *Pharmazie* 59: 506–512.
- Görlitzer K, Meyer H, Jomaa H, Wiesner J (2004c) [1]Benzofuro[3,2-b]pyridin-4-yl-amine – Synthese und Prüfung auf Wirksamkeit gegen Malaria. *Pharmazie* 59: 443–445.
- Trager W, Jensen JB (1976) Human malaria parasites in continuous culture. *Science* 193: 673–675.