

Institut für Pharmazeutische Chemie¹ und Institut für Anorganische und Analytische Chemie² der Technischen Universität Braunschweig und Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie³ des Universitätsklinikums Gießen und Marburg, Germany

Benzo[c][2,7]naphthyridin-2-yl-, 5-yl- und 2,5-diyl-novaldiamine – Synthese und Prüfung auf Wirksamkeit gegen Malaria

K. GÖRLITZER¹, CH. ENGE¹, P. G. JONES², H. JOMAA³, J. WIESNER³

Eingegangen am 20. Februar 2006, angenommen am 10. März 2006

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

Pharmazie 61: 975–980 (2006)

Ausgehend von dem 2-Pyridon **1** wurde das 2,5-Dichlorbenzo[c][2,7]naphthyridin **6** in vier bzw. fünf Stufen synthetisiert. Bei der Umsetzung der Substanz **6** mit der Novaldiamin-Base wurden das 5-yl-Amin **7** sowie die 2,5-diyl-Amine **8** und **9** isoliert. Beginnend mit der Reaktion des 6-Chlorpyridins **3** mit der Novaldiamin-Base wurde über das 6-Aminopyridin **11** das zu **7** isomere 2-yl-Amin **13** erhalten. Zur Prüfung auf Wirksamkeit gegen Malaria wurden die Substanzen **7–13** gegen einen Chloroquin-sensitiven und -resistenten *Plasmodium falciparum*-Stamm *in vitro* getestet. Die höchste Aktivität zeigte **8** mit IC₅₀-Werten von 90 nM bzw. 190 nM.

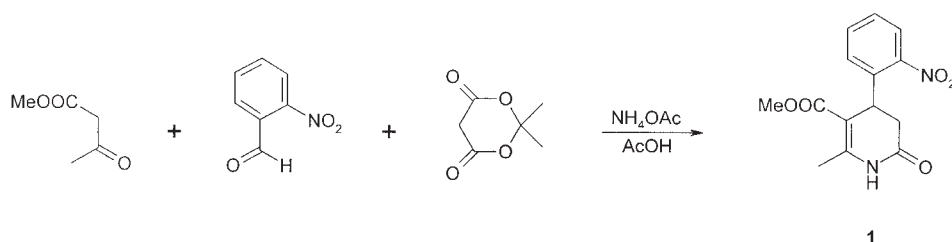
Benzo[c][2,7]naphthyridine-2-yl-, 5-yl- and 2,5-diyl novaldiamines – synthesis and investigation of anti-malarial activity

The 2,5-dichlorobenzo[c][2,7]naphthyridine **6** was synthesized starting from the 2-pyridone **1** in four or five steps, respectively. The 5-yl amine **7** and the 2,5-diyl amines **8** and **9** were isolated by the reaction of compound **6** with the novaldiamine base. Starting with the reaction of the 6-chloropyridine **3** with the novaldiamine base to yield the 6-aminopyridine **11**, the 2-yl amine **13**, isomeric to **7**, was obtained. Compounds **7–13** were tested for *in vitro* antimalarial activity using a chloroquine sensitive and resistant *Plasmodium falciparum* strain. The highest activity was shown by **8** with IC₅₀ values of 90 nM and 190 nM, respectively.

1. Einleitung

In einer der Hantzsch-Dihydropyridin-Synthese verwandten Vierkomponentenreaktion war es Světlík et al. (1990) gelungen, auf elegante Art Tetrahydropyridone darzustellen. So wurde durch Erhitzen von 2,2-Dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion (Meldrum's Säure), Acetessigsäuremethylester, 2-Nitrobenzaldehyd und Ammoniumacetat in Ethanol mit 26 % Ausbeute Methyl-1,4,5,6-tetrahydro-2-methyl-4-(2-nitrophenyl)-6-oxo-pyridin-3-carboxylat (**1**) erhalten. Mit Eisessig als Lösungsmittel konnte die Ausbeute auf 57 % gesteigert werden (Morales et al. 1996) (Schema 1).

Schema 1



Aufgrund einer retrosynthetischen Analyse schien das Pyridon **1** ein besonders geeignetes Ausgangsmaterial für potenzielle Antimalariamittel zu sein, die das angular anellierte Benzo[c][2,7]naphthyridin-Gerüst enthalten und einen Amin-Substituenten in 2- und/oder 5-Position besitzen.

2. Untersuchungen, Ergebnisse und Diskussion

2.1. Synthesen

Das Tetrahydropyridon **1** ließ sich durch Ammoniumcer(IV)-nitrat (CAN) zum Dihydropyridon **2** dehydrieren.

Das α -Pyridon **2** reagierte mit Phosphoroxyltrichlorid zum Chlorpyridin **3**. Die Reduktion der Nitrogruppe von **3** mit Zink im Acetattpuffer pH 4,6 führte über das nicht isolierbare Hydroxylamin unter Aminolyse zur Hydroxamsäure **4**. Diese wurde durch Phosphortrichlorid, vermutlich aus der tautomeren *N*-Oxid-Form von **4**, zum Lactam **5** desoxygeniert. Das Lactam **5** war auch durch Reduktion der Nitrogruppe von **3** mit Eisen in Eisessig zum Amin und intramolekulare Cyclisierung zugänglich. Erneute Behandlung des Lactams **5** mit Phosphoroxyltrichlorid ergab das 2,5-Dichlorbenzo[*c*][2,7]naphthyridin **6**.

Bei der Aufreinigung von **6** fielen Einkristalle an, mit denen eine Röntgenstrukturanalyse durchgeführt wurde. Die asymmetrische Einheit besteht aus zwei unabhängigen, aber sehr ähnlichen Molekülen. Molekül 1 ist bis auf die Substituenten planar [mittlere Abweichung von der besten Ebene 0,03 Å; Abweichungen C11 0,09, C12 0,30, C13 –0,21 Å], während Molekül 2 (mit gestrichenen Zahlen) auch mit Substituenten eine mittlere Abweichung von nur 0,025 Å aufweist. Ein Least-Squares-Fit der beiden Moleküle ergab eine rms-Abweichung von 0,035 Å. In der Kristallpackung bilden beide Moleküle topologisch identische Ketten parallel zur *x*-Achse über schwache Wasserstoffbrücken C8–H8 \cdots N3; benachbarte Ketten assoziieren über C–H \cdots Cl-Wechselwirkungen, wobei Schichten parallel zu (0 1 –1) entstehen. In den Schichten wird nur Translationsasymmetrie beobachtet; benachbarte Schichten werden mittels kurzer Cl \cdots Cl-Kontakte von 3,31 Å über Inversionszentren verknüpft. (Abb. 1 und 2) (Schema 2).

Das 5-Chlor der tricyclischen Verbindung **6** ist wesentlich reaktionsfähiger als das 2-Chlor. Denn beim Erhitzen mit der Novaldiamin-Base fiel ein Gemisch der 5-Amino- und 2,5-Diamino-Substitutionsprodukte **7** und **8** an, wobei der Anteil des 5-Aminoderivats **7** etwa 70 % betrug. Dass es sich beim Monosubstitutionsprodukt **7** um das 5-Isomer und nicht um das 2-Isomer handelt, wird durch das NOE-Differenzspektrum bewiesen. Bei Einstrahlung in das 4-Methylsingulett wird das Dublett der NH-Gruppe verstärkt.

Um die Ausbeute des 2,5-Diamin-Derivats **8** zu erhöhen, wurde das geschlossene Gefäß unter Druck erhitzt. Dabei

resultierte ein durch SC trennbares Gemisch aus **7**, **8** und einer Verbindung, die durch den Verlust von einem Molekül Diethylamin unter Cyclisierung entstanden sein musste. Das ^1H NMR-Spektrum dieser Substanz **9** ist nämlich

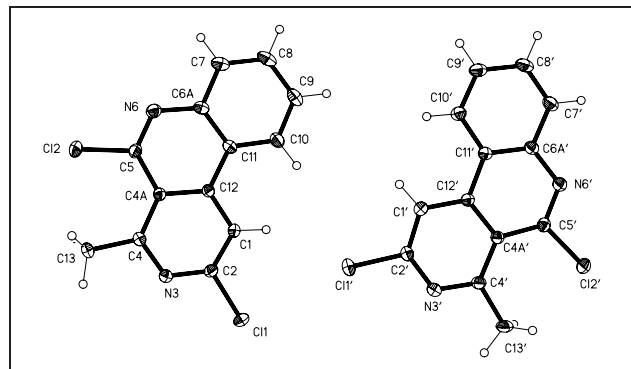


Abb. 1: Die zwei unabhängigen Moleküle von Verbindung **6** im Kristall. Ellipsoide entsprechen 50 %-iger Aufenthaltswahrscheinlichkeit

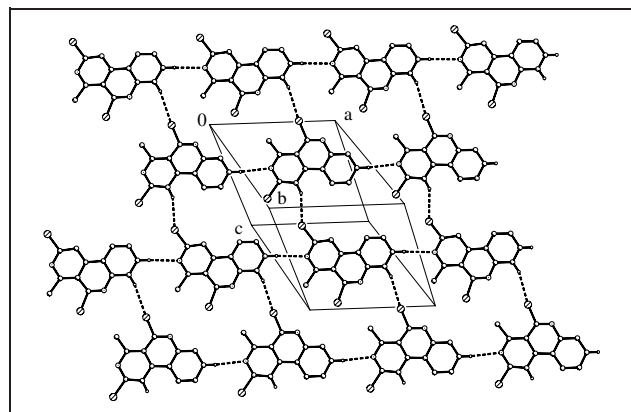
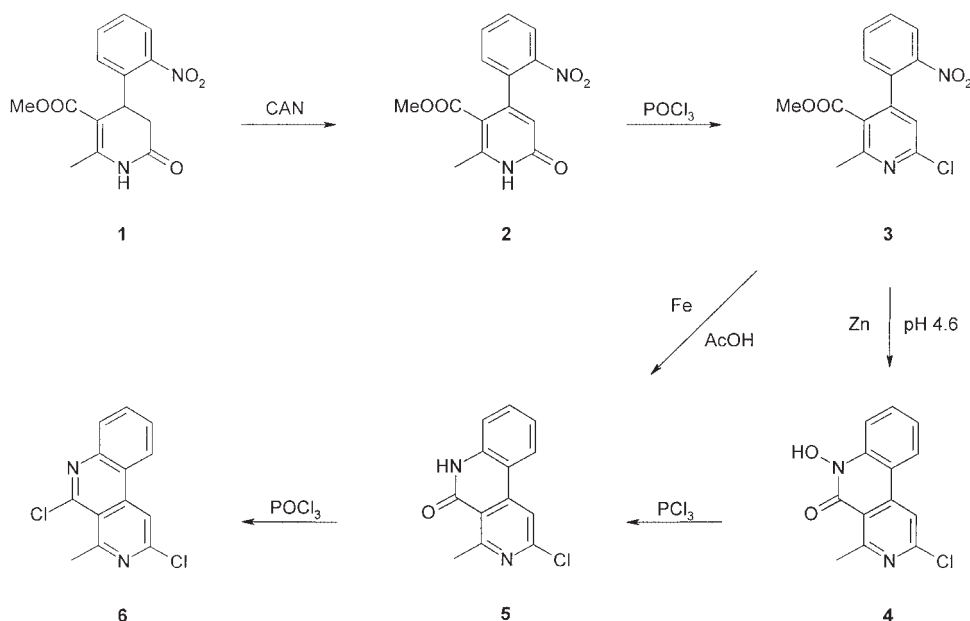


Abb. 2: Packungsdiagramm der Verbindung **6**. Gestrichelte Bindungen stellen H-Brücken dar. Waagerechte Molekülketten bestehen je nur aus einem der beiden unabhängigen Moleküle (von oben nach unten: Mol. 2, 1, 2, 1)

Schema 2

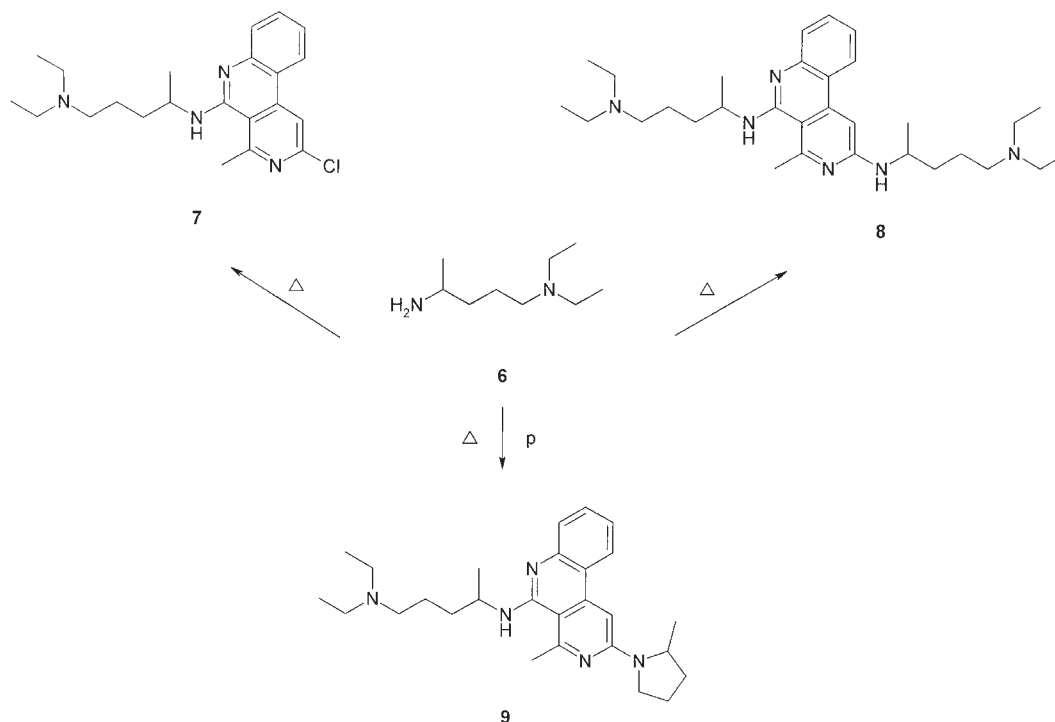


demjenigen von **8** sehr ähnlich, nur dass ein NH-Signal sowie die Resonanz für zwei *N*-Ethyl-Gruppen fehlen. Bei Einstrahlung auf die Absorption der 4-Methyl-Gruppe wird nur ein NH-Signal im NOE-Differenzspektrum verstärkt. Danach muss die 5-Amin-Seitenkette erhalten geblieben sein und in 2-Position ein 2-Methylpyrrolidin als Substituent stehen.

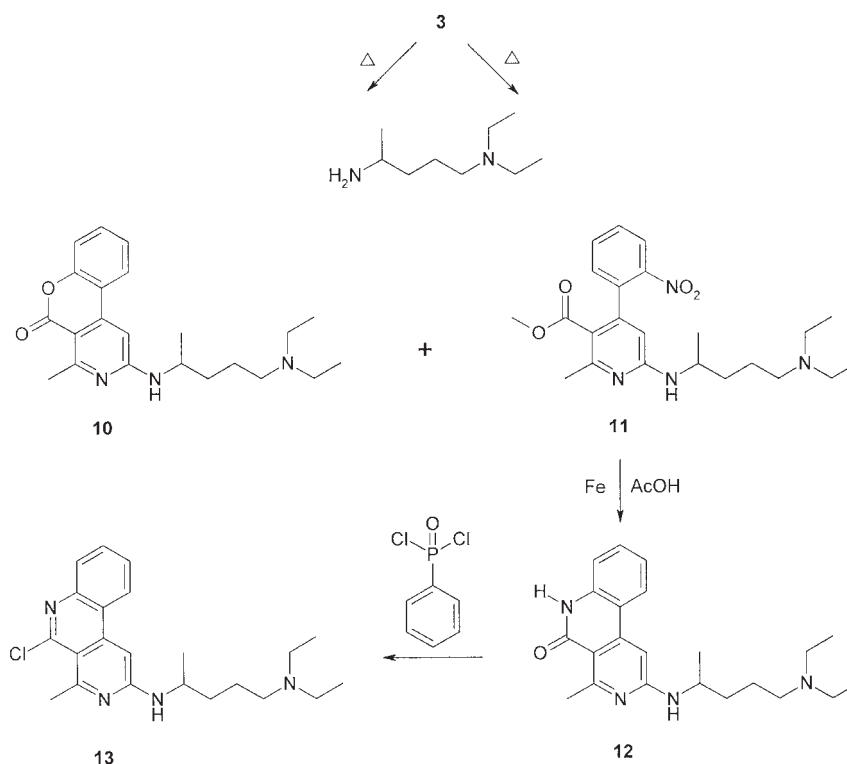
Die Diamine **8** und **9** werden in Form eines Diastereomers isoliert, da in den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren keine Signalverdopplungen registriert werden (Schema 3).

Um das 2-Isomer **13** in die Hand zu bekommen, wurde das 6-Chlorpyridin-Derivat **3** mit der Novaldiamin-Base umgesetzt. Dabei resultierte ein Gemisch aus dem Lacton **10** und dem 6-Aminopyridin **11**.

Schema 3



Schema 4



Im IR-Spektrum von **10** fehlen die Zwillingsbanden für die Nitro-Gruppe bei etwa 1550 und 1350 cm⁻¹, die Carbonylvalenzschwingung tritt bei 1692 cm⁻¹ auf. Im ¹H-NMR-Spektrum fehlt das Singulett für die Protonen des Methylesters. Nach dem MS enthält die Substanz eine ungerade Zahl von Stickstoffatomen. Dies steht im Einklang mit der Struktur des Lactons **10**.

Durch Reduktion der Nitro-Gruppe von **11** mit Eisen in Essigsäure wurde das Lactam **12** erhalten. Das Lactam **12** reagierte mit Phenylphosphonsäuredichlorid (Janin et al. 1993) zum Chlorimin **13**.

Im ¹H-NMR-Spektrum von **13** wird das 1-H, verglichen mit dem von **7** ($\delta = 8,1$), aufgrund des (+)-M-Effekts des Amin-Substituenten bei deutlich höherem Feld ($\delta = 7,0$) registriert. Die chemische Verschiebung des Pyridin-H der Verbindungen **8–10** sowie **12** liegt im gleichen Bereich (Schema 4).

2.2. Prüfung auf Wirksamkeit gegen Malaria

Plasmodium falciparum, der Erreger der Malaria tropica, wurde in Serum-supplementiertem RPMI-1640-Medium mit humanen Erythrozyten als Wirtszellen kultiviert (modifizierte Methode nach Trager und Jensen 1976). Die Kultur erfolgte unter einer kontrollierten Atmosphäre aus 92 % N₂, 5 % O₂ und 3 % CO₂. Für die *In-vitro*-Prüfung auf Antimalaria-Aktivität wurde der Chloroquin-sensitive Stamm 3D7 und der Chloroquin-resistente Stamm Dd2 verwendet. Die Wachstumshemmung der Parasiten wurde über die Inkorporation von ³H-markiertem Hypoxanthin bestimmt (modifizierte Methode nach Desjardins et al. 1979). Dazu wurden Verdünnungsserien der Testsubstanzen auf Mikrotiterplatten mit der Parasitenkultur inkubiert. Nach Inkubation für 48 h wurde [³H]-Hypoxanthin zugefügt und für weitere 24 h inkubiert. Die durch die Parasiten inkorporierte Radioaktivität wurde anschließend in dem nach Filtration über Glasfaserfilter erhaltenen Retenat gemessen.

Alle Substanzen führten im getesteten Konzentrationsbereich zu einer Hemmung des Parasitenwachstums. Für die meisten Verbindungen (**7**, **10**, **11**, **12**, **13**) wurden IC₅₀-Werte im unteren mikromolaren Bereich ermittelt (Tabelle 1). Dabei zeigte von dem Isomerenpaar **7** und **13** die Verbindung **13** eine höhere Aktivität. Als besonders wirksam erwies sich das Bis-Novaldiamin-Derivat **8** mit einer IC₅₀ von 90 nM gegen den Dd2- und 190 nM gegen den 3D7-Stamm. Vergleichsweise hohe Aktivität zeigte auch das Pyrrolidin-Derivat **9** mit IC₅₀-Werten von 310 nM bzw. 1800 nM. Interessanterweise war bei diesen beiden wirksamsten Verbindungen ein Trend hin zu höherer Aktivität gegen den Chloroquin-resistenten Stamm Dd2 zu beobachten.

Tabelle 1: IC₅₀ [nM]-Werte für die Hemmung des Wachstums der *P. falciparum*-Stämme Dd2 und 3D7

Substanz	Dd2	3D7
7	4700	2600
8	90	190
9	310	1800
10	1100	3400
11	6200	7000
12	3400	4400
13	900	1300
Chloroquin	140	55

3. Experimenteller Teil

3.1. Allgemeine Angaben

Vgl. Görlitzer et al. (2006).

3.2. 2-Methyl-4-(2-nitrophenyl)-6-oxo-1,6-dihydropyridin-3-carbonsäuremethylester (2)

8,12 g (28 mmol) **1** werden in 500 ml Me₂CO gelöst. Unter Rühren werden 61,36 g (112 mmol) CAN, gelöst in 80 ml H₂O, hinzugefügt. Nach einer Reaktionszeit von 5 min wird das Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert und gekühlt. Anschließend werden 100 ml H₂O zum Rückstand gegeben und zweimal mit jeweils 200 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert. Der Rückstand wird mit wenig MeOH gewaschen. Ausbeute: 4,71 g (58 %). Gelbliche Kristalle, Schmp. 227 °C (EtOH). IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3000–2500 (NH), 1728 (COOR), 1661 (CO), 1604 (C=C), 1530, 1359 (NO₂). UV (MeOH): λ_{\max} (lg ϵ) = 203 nm (4,64), 222 (4,36), 261 (4,25), 301 (3,86). ¹H NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 2,65 (s, 3 H, CH₃), 3,48 (s, 3 H, COOCH₃), 6,29 (s, 1 H, 5-H), 7,28 (dd, J = 1,6 Hz, J = 7,8 Hz, 1 H, 6'-H), 7,56 (dt, J = 1,5 Hz, J = 7,8 Hz, 1 H, 4'-H), 7,66 (dt, J = 1,3 Hz, J = 7,5 Hz, 1 H, 5'-H), 8,16 (dd, J = 1,2 Hz, J = 8,2 Hz, 1 H, 3'-H), 13,32 (s, 1 H, NH). ¹³C NMR (CDCl₃) + DEPT: δ (ppm) = 20,09 (CH₃), 52,00 (COOCH₃), 110,79 (C-3), 117,23 (C-5), 124,57 (C-6'), 129,35 (C-4'), 130,45 (C-5'), 133,49 (C-3'), 135,62 (C-1'), 147,35 (C-2'), 151,02 (C-4), 153,59 (C-2), 164,56 (C-6), 165,83 (COOCH₃). MS (EI): m/z (%) = 288 [M]⁺ (20), 242 (100). HPLC (MeCN/H₂O 70:30): t_s = 0,16 min. C₁₄H₁₂N₂O₅ (288,3)

3.3. 6-Chlor-2-methyl-4-(2-nitrophenyl)-pyridin-3-carbonsäuremethylester (3)

2,88 g (10 mmol) **2** werden in 5 ml POCl₃ für 0,5 h zum Rückfluss erhitzt. Anschließend lässt man abkühlen und rührt die Lösung in 300 ml Eis-H₂O ein. Nach etwa 1 h Rühren bildet sich ein sandartiger, hellbeigefarbener Niederschlag, der abgetrennt und umkristallisiert wird. Ausbeute: 2,72 g (89 %). Bernsteinfarbene Kristalle, Schmp. 123 °C (EtOH). IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 1733 (C=O, Ester), 1573, 1349 (NO₂). UV (MeOH): λ_{\max} (lg ϵ) = 203 nm (4,55), 269 (3,90). ¹H NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 2,66 (s, 3 H, CH₃), 3,55 (s, 3 H, COOCH₃), 7,13 (s, 1 H, 5-H), 7,27 (dd, J = 1,5 Hz, J = 7,5 Hz, 1 H, 6'-H), 7,61 (dt, J = 1,4 Hz, J = 7,8 Hz, 1 H, 4'-H), 7,68 (dt, J = 1,3 Hz, J = 7,5 Hz, 1 H, 5'-H), 8,17 (dd, J = 1,3 Hz, J = 8,1 Hz, 1 H, 3'-H). ¹³C NMR (CDCl₃) + DEPT: δ (ppm) = 23,50 (CH₃), 52,30 (COOCH₃), 121,39 (C-5), 124,59 (C-6'), 125,58 (C-3), 129,85 (C-4'), 130,79 (C-5'), 132,54 (C-1'), 133,20 (C-3'), 147,44 (C-2'), 149,09 (C-4), 151,34 (C-2), 158,04 (C-6), 166,77 (COOCH₃). MS (CI, NH₃): positiv: m/z (%) = 307 [M + H]⁺ (60), 245 (100). HPLC (MeCN/H₂O 70:30): t_s = 1,12 min. C₁₄H₁₁ClN₂O₄ (306,5)

3.4. 2-Chlor-6-hydroxy-4-methylbenzo[c][2,7]naphthyridin-5(6H)-on (4)

0,31 g (1 mmol) **3** werden in 15 ml Me₂CO und 3 ml H₂O suspendiert und mit 0,4 g NH₄Cl und 5 Zn-Granalien (aktiviert) versetzt. Anschließend wird der Ansatz 6 h zum Rückfluss erhitzt. Ein hellgelber Niederschlag wird abgetrennt und mit H₂O gewaschen. Er wird mit 6 Tropfen EtOH 96 % in 0,1 N-HCl suspendiert und 1 h stark gerührt. Der verbleibende Rückstand wird abgesaugt und i. Vak. getrocknet. Ausbeute: 0,05 g (19 %). Fast farblose Kristalle, Zers. ab 125 °C (DMSO/H₂O), + Fe³⁺: tiefviolett. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3450–2900 (NOH, assoziiert), 1624 (CO), 1604 (C=N, C=C). UV (MeOH): λ_{\max} (lg ϵ) = 202 nm (4,21), 241 (4,54), 266 (4,12), 346 (3,70). ¹H NMR ([D₅]Pyridin): δ (ppm) = 3,34 (s, 3 H, CH₃), 7,35 (dt, J = 1,0 Hz, J = 7,2 Hz, 1 H, 8-H), 7,75 (dt, J = 1,0 Hz, J = 7,8 Hz, 1 H, 9-H), 8,20 (d, J = 8,3 Hz, 1 H, 10-H), 8,31 (s, 1 H, 1-H), 8,39 (d, J = 7,8 Hz, 1 H, 7-H). ¹³C NMR ([D₅]Pyridin) + DEPT: δ (ppm) = 26,77 (CH₃), 113,43 (C-8), 114,28 (C-9), 132,62 (C-10), 135,51 (C-7), 149,90 (C-1). MS (EI): m/z (%) = 260 [M]⁺ (50), 244 (100). HPLC (MeCN/H₂O 70:30): t_s = 1,07 min. C₁₃H₉ClN₂O₂ (260,7)

3.5. 2-Chlor-4-methylbenzo[c][2,7]naphthyridin-5(6H)-on (5)

3.5.1. 0,62 g (2 mmol) **3** werden unter Erwärmen in 20 ml AcOH gelöst. Man fügt 0,2 g Fe-Pulver hinzu und erhitzt 15 min unter Rückfluss. Anschließend entfernt man das Fe-Pulver, lässt abkühlen und versetzt mit 30 ml H₂O. Das ausflockende Lactam wird abgesaugt und mit CH₂Cl₂ und EtOH gewaschen. Ausbeute: 0,21 g (43 %).

3.5.2. 0,03 g (0,12 mmol) **4** werden in 120 ml CH₂Cl₂ gelöst und mit 0,5 ml (5 mmol) PCl₃ 30 min unter Rückfluss erhitzt. Der Ansatz wird auf 300 ml Eis-H₂O gegossen und mit NaHCO₃ neutralisiert. Die organische Phase wird abgetrennt, die wässrige Phase wird zweimal mit je 100 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, und das Lösungsmittel wird i. Vak. abdestilliert. Ausbeute: 0,02 g (68 %).

Feine, weiße Nadeln, Schmp. 300 °C (Zers., Pyridin). IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3449 (NH), 1683 (Lactam), 1625, 1604 (C=N, C=C). UV (MeOH): λ_{max} (lg ϵ) = 234 nm (5,61), 240 (5,66), 267 (5,14), 337 (4,82). ¹H NMR (F₃CCOOD): δ (ppm) = 3,49 (s, 1 H, CH₃), 7,60 (d, J = 8,3 Hz, 1 H, 8-H), 7,67 (t, J = 7,7 Hz, 1 H, 10-H), 8,00 (t, J = 7,7 Hz, 1 H, 9-H), 8,45 (d, J = 8,3 Hz, 1 H, 7-H), 8,76 (s, 1 H, 1-H). ¹³C NMR (F₃CCOOD) + DEPT: δ (ppm) = 21,36 (CH₃), 120,01 (C-8), 121,11 (C-10), 128,14 (C-9), 128,73 (C-7), 140,15 (C-1). MS (EI): m/z (%) = 244 [M]⁺⁺ (100), 216 (40). HPLC (MeCN/H₂O 70:30): t_s = 1,00 min. C₁₃H₉ClN₂O (244,7)

3.6. 2,5-Dichlor-4-methylbenzo[c][2,7]naphthyridin (6)

0,24 g (1 mmol) **5** werden in 15 ml POCl₃ gelöst und für 1 h bei 130 °C zum Rückfluss erhitzt. Anschließend lässt man den Ansatz abkühlen, gießt ihn auf 300 ml Eis-H₂O und lässt einige Stunden rühren. Der Niederschlag wird abgesaugt und i. Vak. getrocknet und einer kontinuierlichen Extraktion unterworfen (Vorlage: 200 ml Petroläther). Das Lösungsmittel wird i. Vak. abdestilliert. Ausbeute: 0,21 g (80 %). Blassgelbe Kristalle, Schmp. 150 °C (EtOAc). IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 1580 (C=N, C=C). UV (MeOH): λ_{max} (lg ϵ) = 209 nm (4,31), 229 (4,23), 253 (4,59). ¹H NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 3,35 (s, 1 H, CH₃), 7,73 (m, J = 1,3 Hz, J = 7,7 Hz, 1 H, 9-H), 7,86 (m, J = 1,3 Hz, J = 7,7 Hz, 1 H, 8-H), 8,08 (dd, J = 1,0 Hz, J = 8,2 Hz, 1 H, 7-H), 8,31 (s, 1 H, 1-H), 8,42 (dd, J = 1,1 Hz, J = 8,3 Hz, 1 H, 10-H). ¹³C NMR (CDCl₃) + DEPT: δ (ppm) = 29,48 (CH₃), 113,87 (C-1), 118,80 (C-4a), 121,32 (C-10a), 122,94 (C-10), 128,22 (C-9), 129,13 (C-7), 132,05 (C-8), 143,9 (C-10b), 144,11 (C-6a), 148,94 (C-5), 150,26 (C-4), 161,38 (C-2). Zuordnungen durch HSQC und HMBC gesichert! MS (EI): m/z (%) = 262 [M]⁺⁺ (100), 227 (35). HPLC (MeCN/H₂O 70:30): t_s = 4,05 min. C₁₃H₈Cl₂N₂ (263,1)

3.7. (R,S)-N⁴-(2-Chlor-4-methylbenzo[c][2,7]naphthyridin-5-yl)-N¹,N¹-diethyl-1,4-pentandiamin (7)

1,5 mmol (0,39 g) **6** und 20 mmol (3,16 g) N¹,N¹-Diethyl-1,4-pentandiamin werden zusammengegeben und unter N₂ 5 h rückfließend bei 150 °C erhitzt. Anschließend lässt man abkühlen, säuert mit H₂SO₄ (15 %) an und extrahiert mit CHCl₃. Die organische Phase wird verworfen, die wässrige Phase mit NaOH (12 %) alkalisiert und zweimal mit jeweils 25 ml CHCl₃ extrahiert. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wird das Lösemittel größtenteils i. Vak. abdestilliert. Abschließend erfolgt eine SC (FM: Petroläther/EtOAc/HNEt₂ 10:2:1), wobei die Substanz in CHCl₃ gelöst aufgetragen wird. Ausbeute: 0,41 g (71 %). Gelbes Öl. IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3503 (NH), 1589 (C=N, C=C). UV (MeOH): λ_{max} (lg ϵ) = 206 nm (4,41), 247 (4,63), 276 (4,14), 338 (3,79). ¹H NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 1,00 (t, J = 7,2 Hz, 6 H, N(CH₂CH₃)₂), 1,35 (d, J = 6,5 Hz, 3 H, 5-H), 1,58–1,76 (m, 4 H, 2-H, 3-H), 2,48 (t, J = 6,8 Hz, 2 H, 1-H), 2,52 (q, J = 7,2 Hz, 4 H, N(CH₂CH₃)₂), 3,11 (s, 3 H, Aryl-CH₃), 4,60 (m, 1 H, 4-H), 5,42 (d, J = 7,1 Hz, 1 H, NH), 7,27 (ddd, J = 1,4 Hz, J = 7,0 Hz, J = 8,0 Hz, 1 H, 9'-H), 7,60 (ddd, J = 1,3 Hz, J = 6,9 Hz, J = 8,2 Hz, 1 H, 8'-H), 7,66 (dd, J = 1,1 Hz, J = 8,2 Hz, 1 H, 7'-H), 8,11 (s, 1 H, 1'-H), 8,12 (dd, J = 0,9 Hz, J = 9,0 Hz, 1 H, 10'-H). NOE-Differenzspektrum: gesättigtes ¹H-Signal (verstärktes ¹H-Signal): Aryl-CH₃ (NH), 5-H (4-H), 1'-H und 10'-H (9'-H). ¹³C NMR (CDCl₃) + DEPT: δ (ppm) = 11,81 (N(CH₂CH₃)₂), 21,12 (C-5), 24,16 (C-2), 28,36 (Aryl-CH₃), 35,12 (C-3), 47,10 (N(CH₂CH₃)₂), 47,20 (C-4), 53,15 (C-1), 114,23 (C-1'), 114,37 (C-10a'), 118,06 (C-4a'), 122,80 (C-10'), 123,01 (C-9'), 127,13 (C-7'), 131,71 (C-8'), 144,17 (C-10b'), 146,81 (C-2'), 149,08 (C-5'), 152,87 (C-6a'), 157,16 (C-4'). MS (EI): m/z (%) = 384 [M]⁺⁺ (20), 86 (100). HPLC (MeOH/TEAF 50:50): t_s = 3,09 min. C₂₂H₂₉ClN₄ (385,0)

3.8. N²,N⁵-Bis[4-(diethylamino)-1-methylbutyl]-4-methylbenzo[c][2,7]-naphthyridin-2,5-diamin (8)

1 mmol (0,26 g) **6** und 10 mmol (1,58 g) N¹,N¹-Diethyl-1,4-pentandiamin werden in ein verschließbares Reagenzglas gegeben und 9 h bei 180 °C erhitzt. Anschließend wird i. Vak. eingengt und durch SC (Eluent: Petroläther/HNEt₂ 10:1) gereinigt. Ausbeute: 0,22 g (43 %). Gelbes Öl. IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 1598 (C=N, C=C). UV (MeOH): λ_{max} (lg ϵ) = 234 nm (4,24), 268 (4,49), 314 (4,03), 364 (3,61). ¹H NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 1,00 (t, J = 7,1 Hz, 6 H, N(CH₂CH₃)₂), 1,02 (t, J = 7,1 Hz, 6 H, N(CH₂CH₃)₂), 1,29 (d, J = 6,4 Hz, 3 H, 1'-CH₃), 1,32 (d, J = 6,5 Hz, 3 H, 1''-CH₃), 1,55–1,72 (m, 8 H, 2'-H, 2''-H, 3'-H, 3''-H), 2,44–2,56 (m, 12 H, 4'-H, 4''-H, N(CH₂CH₃)₂), 2,95 (s, 3 H, Aryl-CH₃), 3,84 (m, 1 H, 1'-H), 4,59 (m, 1 H, 1''-H), 4,80 (d, J = 8,3 Hz, 1 H, 2-NH), 5,21 (d, J = 7,3 Hz, 1 H, 5-NH), 6,98 (s, 1 H, 1-H), 7,17 (ddd, J = 1,3 Hz, J = 6,9 Hz, J = 8,1 Hz, 1 H, 9-H), 7,50 (ddd, J = 1,3 Hz, J = 6,9 Hz, J = 8,2 Hz, 1 H, 8-H), 7,57 (dd, J = 1,2 Hz, J = 8,2 Hz, 1 H, 7-H), 8,09 (dd, J = 1,0 Hz, J = 8,2 Hz, 1 H, 10-H). ¹³C NMR (CDCl₃) + DEPT: δ (ppm) = 11,58 (N(CH₂CH₃)₂), 11,60 (N(CH₂CH₃)₂), 20,80 (1'-CH₃), 21,03 (1''-CH₃), 23,68 (C-3'), 23,74 (C-3''), 28,10 (Aryl-CH₃), 35,02 (C-2'), 35,09 (C-2''), 46,42 (C-1'), 46,79 (N(CH₂CH₃)₂), 46,84 (N(CH₂CH₃)₂), 47,52 (C-1''), 52,81 (C-4'), 52,98 (C-4''), 92,00 (C-1), 108,29 (C-4a), 119,10 (C-10a), 121,33 (C-9), 122,49

(C-10), 126,55 (C-7), 130,14 (C-8), 143,79 (C-10b), 146,58 (C-6a), 153,70 (C-5), 155,65 (C-4), 156,18 (C-2). Zuordnungen der Signale durch HSQC und HMBC gesichert! MS (EI): m/z (%) = 506 [M]⁺⁺ (15), 86 (100). HPLC (MeOH/TEAF 50:50): t_s = 2,32 min. C₃₁H₅₀N₆ (506,8)

3.9. N¹,N¹-Diethyl-N⁴-[4-methyl-2-(2-methylpyrrolidin-1-yl)benzo[c][2,7]-naphthyridin-5-yl]-1,4-pentandiamin (9)

Darstellung s. 3.8. Reinigung durch mehrfache SC (Eluent: zweimal Petroläther/EtOAc/HNEt₂ 10:2:1, dann einmal Petroläther/HNEt₂ 10:1) gereinigt. Ausbeute: 0,12 g (28 %). Braunes Öl. IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3505 (NH), 1589 (C=N, C=C). UV (MeOH): λ_{max} (lg ϵ) = 235 nm (4,31), 257 (4,42), 266 (4,48), 272 (4,50), 284 (4,34), 318 (4,20), 364 (3,60), 384 (3,53). ¹H NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 1,01 (t, J = 7,1 Hz, 6 H, N(CH₂CH₃)₂), 1,30 (d, J = 6,3 Hz, 3 H, 2''-CH₃), 1,32 (d, J = 6,5 Hz, 3 H, 5-H), 1,58–1,78 (m, 6 H, 2-H, 3-H, 3''-H), 1,99–2,17 (m, 2 H, 4''-H), 2,51 (t, J = 7,2 Hz, 2 H, 1-H), 2,52 (q, J = 7,2 Hz, 4 H, N(CH₂CH₃)₂), 2,98 (s, 3 H, Aryl-CH₃), 3,45–3,53 (m, 1 H, 5''-H), 3,63–3,72 (m, 1 H, 5''-H), 4,35 (m, 1 H, 2''-H), 4,60 (m, 1 H, 4-H), 5,23 (d, J = 7,2 Hz, 1 H, NH), 6,93 (s, 1 H, 1'-H), 7,16 (dt, J = 1,4 Hz, J = 7,5 Hz, 1 H, 9'-H), 7,48 (dt, J = 1,4 Hz, J = 7,5 Hz, 1 H, 8'-H), 7,55 (dd, J = 1,1 Hz, J = 8,2 Hz, 1 H, 7'-H), 8,11 (dd, J = 1,1 Hz, J = 8,2 Hz, 1 H, 10'-H). NOE-Differenzspektrum: gesättigtes ¹H-Signal (verstärktes ¹H-Signal): Aryl-CH₃ (NH). ¹³C NMR (CDCl₃) + DEPT: δ (ppm) = 11,61 (NCH₂CH₃), 11,72 (NCH₂CH₃), 19,58 (2''-CH₃), 21,06 (C-5), 23,39 (C-4''), 23,73 (C-2), 28,44 (Aryl-CH₃), 32,96 (C-3''), 35,13 (C-3), 46,34 (C-4), 46,76 (NCH₂CH₃), 46,85 (NCH₂CH₃), 47,20 (C-5''), 53,01 (C-1), 53,15 (C-2''), 92,71 (C-1'), 107,04, 119,39, 121,15 (C-10'), 122,41 (C-9'), 126,46 (C-7'), 129,84 (C-8'), 143,03, 146,51, 153,99, 154,87, 155,08. MS (EI): m/z (%) = 433 [M]⁺⁺ (20), 359 (100); MS (CI, NH₃): positiv: m/z (%) = 434 [M + H]⁺ (100), 74 (30). HPLC (MeOH/TEAF 50:50): t_s = 33,14 min. C₂₇H₃₉N₅ (433,6)

3.10. (R,S)-2-[[4-(Diethylamino)-1-methylbutyl]amino]-4-methyl-5H-chromeno[3,4-c]pyridin-5-on (10)

2 mmol (0,62 g) **3** werden in 10 mmol (1,58 g) N¹,N¹-Diethyl-1,4-pentandiamin 5 h bei 160 °C unter N₂ erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit H₂SO₄ (15 %) angesäuert und dreimal mit je 30 ml CHCl₃ extrahiert. Die organische Phase wird verworfen, die wässrige Phase mit NaOH (12 %) alkalisiert und viermal mit je 30 ml CHCl₃ extrahiert. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wird i. Vak. eingengt und durch SC (Eluent: Petroläther/EtOAc/HNEt₂ 10:2:1) gereinigt. Die zuerst eluierte Fraktion ist **11**, anschließend erhält man **10**. Ausbeute: 0,24 g (33 %). Hellbraunes Öl. IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3313 (NH), 1692 (Lacton). UV (MeOH): λ_{max} (lg ϵ) = 213 nm (4,44), 262 (4,48), 294 (4,35). ¹H NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 1,03 (t, J = 7,2 Hz, 6 H, N(CH₂CH₃)₂), 1,30 (d, J = 6,4 Hz, 3 H, 1'-CH₃), 1,58–1,66 (m, 4 H, 2'-H, 3'-H), 2,46 (t, J = 6,5 Hz, 2 H, 4'-H), 2,55 (q, J = 7,0 Hz, 4 H, N(CH₂CH₃)₂), 2,89 (s, 3 H, Aryl-CH₃), 3,94 (s (br), 1 H, 1'-H), 5,51 (d, J = 8,2 Hz, 1 H, NH), 6,66 (s, 1 H, 1-H), 7,27 (m, 1 H, 10-H), 7,28 (dd, J = 1,0 Hz, J = 7,9 Hz, 1 H, 8-H), 7,49 (dt, J = 1,5 Hz, J = 7,8 Hz, 1 H, 9-H), 7,91 (dd, J = 1,1 Hz, J = 7,4 Hz, 1 H, 7-H). ¹³C NMR (CDCl₃) + DEPT: δ (ppm) = 11,49 (N(CH₂CH₃)₂), 20,71 (1'-CH₃), 23,58 (C-3'), 26,89 (Aryl-CH₃), 34,91 (C-2'), 46,72 (N(CH₂CH₃)₂), 47,37 (C-1'), 52,70 (C-4'), 92,70 (C-1), 104,89 (C-4a), 117,00 (C-10a), 117,57 (C-7), 123,20 (C-10), 123,82 (C-9), 131,69 (C-8), 144,03, 152,63 (C-6a), 159,51, 160,09, 166,17 (C-5). Zuordnungen der Signale durch HSQC und HMBC gesichert! MS (ESI): m/z (%) = 390 [M + Na]⁺⁺ (60), 295 (100). Präzisionsmasse: theoretisch: 367,22598, experimentell: 367,22546. HPLC (MeOH/TEAF 50:50): t_s = 6,88 min. C₂₂H₂₉N₃O₂ (367,2)

3.11. (R,S)-6-[[4-(Diethylamino)-1-methylbutyl]amino]-2-methyl-4-(2-nitrophenyl)-nicotinsäuremethylester (11)

Darstellung s. 3.10. Ausbeute: 0,18 g (42 %). Gelbbraunes Öl. IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3389 (NH), 2968, 2870, 2806 (C-H), 1713 (C=O), 1528, 1351 (NO₂). UV (MeOH): λ_{max} (lg ϵ) = 280 (4,27). ¹H NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 0,98 (t, J = 7,1 Hz, 6 H, N(CH₂CH₃)₂), 1,20 (d, J = 6,4 Hz, 3 H, 1''-CH₃), 1,53 (m, 4 H, 2''-H, 3''-H), 2,40 (t, J = 6,5 Hz, 2 H, 4''-H), 2,49 (q, J = 7,2 Hz, 4 H, N(CH₂CH₃)₂), 2,57 (s, 3 H, Aryl-CH₃), 3,45 (s, 3 H, COOCH₃), 3,74 (s (br), 1 H, NH), 4,98 (m, 1 H, 1''-H), 6,00 (s, 1 H, 5-H), 7,24 (dd, J = 1,3 Hz, J = 7,6 Hz, 1 H, 6'-H), 7,50 (dt, J = 1,5 Hz, J = 7,5 Hz, 1 H, 4'-H), 7,60 (dt, J = 1,0 Hz, J = 7,5 Hz, 1 H, 5'-H), 8,07 (dd, J = 1,1 Hz, J = 8,1 Hz, 1 H, 3'-H). ¹³C NMR (CDCl₃) + DEPT: δ (ppm) = 11,42 (N(CH₂CH₃)₂), 20,71 (1''-CH₃), 23,43 (C-3''), 24,73 (Aryl-CH₃), 34,91 (C-2''), 46,66 (N(CH₂CH₃)₂), 47,11 (C-1''), 51,29 (COOCH₃), 52,64 (C-4''), 103,49 (C-5), 114,33 (C-1), 124,00 (C-3'), 128,45 (C-4'), 130,61 (C-6'), 132,56 (C-5'), 136,29 (C-1'), 147,80 (C-2'), 149,14 (C-6), 157,62 (C-4), 159,15 (C-2), 167,87 (COOCH₃). Zuordnung der Signale durch HSQC und HMBC gesichert! MS (EI): m/z (%) = 428 [M]⁺⁺ (20), 411 (100). HPLC (MeOH/TEAF 50:50): t_s = 2,62 min. C₂₃H₃₂N₄O₄ (428,5)

3.12. (*R,S*)-2-[[4-(Diethylamino)-1-methylbutyl]amino]-4-methylbenzo[c][2,7]naphthyridin-5(6H)-on (12)

0,66 g (1,5 mmol) **11** werden in 20 ml Me₂CO gelöst. Nach Zugabe von 11 ml AcOH, 3 ml H₂O und 0,42 g Fe-Pulver wird 4 h zum Rückfluss erhitzt. Das Fe-Pulver wird durch Filtration entfernt und das Lösungsmittel i. Vak. abgezogen. Die Reinigung erfolgt durch SC (Eluent: EtOAc/HNEt₂ 10:1). Ausbeute: 0,50 g (91 %). Braunes Öl. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3239 (NH), 1655 (C=O). UV (MeOH): λ_{max} (lg ϵ) = 224 (4,39), 247 (4,37), 264 (4,58), 300 (4,24), 346 (3,74). ¹H NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 1,06 (t, J = 7,2 Hz, 6H, N(CH₂CH₃)₂), 1,30 (d, J = 6,4 Hz, 3H, 1'-CH₃), 1,59–1,70 (m, 4H, 2'-H, 3'-H), 2,56 (t, J = 7,0 Hz, 2H, 4'-H), 2,63 (q, J = 7,2 Hz, 4H, N(CH₂CH₃)₂), 3,06 (s, 3H, Aryl-CH₃), 3,91 (m, 1H, 1'-H), 5,66 (s, 1H, NH), 6,83 (s, 1H, 1-H), 7,19 (dt, J = 1,0 Hz, J = 7,6 Hz, 1H, 8-H), 7,26 (d, J = 9,1 Hz, 1H, 10-H), 7,48 (dt, J = 1,1 Hz, J = 7,6 Hz, 1H, 9-H), 8,04 (d, J = 7,6 Hz, 1H, 7-H), 10,82 (s, 1H, 6-H). ¹³C NMR (CDCl₃) + DEPT: δ (ppm) = 10,78 (N(CH₂CH₃)₂), 20,83 (1'-CH₃), 22,85 (C-3'), 27,02 (Aryl-CH₃), 34,74 (C-2'), 46,36 (N(CH₂CH₃)₂), 47,28 (C-1'), 52,23 (C-4'), 92,63 (C-1), 110,14 (C-4a), 116,00 (C-7), 117,10 (C-10a), 122,55 (C-9), 123,49 (C-10), 130,95 (C-8), 138,00 (C-6a), 144,57 (C-10b), 158,47, 163,34, 164,07 (C-5). Zuordnungen der Signale durch HSQC und HMBC gesichert! MS (EI): m/z (%) = 366 [M]⁺⁺ (5), 86 (100). HPLC (MeOH/TEAF 50:50): t_R = 2,51 min. C₂₂H₃₀N₄O (366,5)

3.13. (*R,S*)-N⁴-(5-Chlor-4-methylbenzo[c][2,7]naphthyridin-2-yl)-N¹,N¹-diethyl-1,4-pentandiamin (13)

1,5 mmol (0,55 g) **12** werden in 13,37 mmol (2,59 g) Dichlorphenylphosphinoxid bei 170 °C unter N₂ 3 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird auf 200 ml Eis-H₂O gegeben, 1 h gerührt und mit konz. NH₃ alkalisiert. Ein dunkelbrauner Niederschlag wird abgetrennt, das Filtrat zweimal mit jeweils 200 ml CHCl₃ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und i. Vak. eingedunstet. Die Aufreinigung erfolgt durch mehrfache SC (Eluent: Petroläther/EtOAc/HNEt₂ 10:2:1). Ausbeute: 0,10 g (17 %). Braunes Öl. IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3412 (NH), 1595 (C=N, C=C). UV (MeOH): λ_{max} (lg ϵ) = 255 nm (4,59), 285 (3,87), 298 (3,89), 346 (4,22). ¹H NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 1,04 (t, J = 7,2 Hz, 6H, N(CH₂CH₃)₂), 1,32 (d, J = 6,4 Hz, 3H, 5-H), 1,60–1,70 (m, 4H, 2-H, 3-H), 2,49 (t, J = 6,7 Hz, 2H, 1-H), 2,56 (q, J = 7,2 Hz, 4H, N(CH₂CH₃)₂), 3,13 (s, 3H, Aryl-CH₃), 3,90 (m, 1H, 4-H), 5,33 (d, J = 8,2 Hz, 1H, NH), 7,01 (s, 1H, 1'-H), 7,52 (dt, J = 1,2 Hz, J = 7,6 Hz, 1H, 9'-H), 7,67 (dt, J = 1,2 Hz, J = 7,6 Hz, 1H, 8'-H), 7,88 (dd, J = 1,0 Hz, J = 8,2 Hz, 1H, 7'-H), 8,25 (d, J = 7,7 Hz, 1H, 10'-H). ¹³C NMR (CDCl₃) + DEPT: δ (ppm) = 11,49 (N(CH₂CH₃)₂), 20,63 (C-5), 23,63 (C-2), 29,43 (Aryl-CH₃), 34,85 (C-3), 46,72 (N(CH₂CH₃)₂), 47,54 (C-4), 52,70 (C-1), 91,10 (C-1'), 112,89 (C-4a'), 122,42 (C-10a'), 122,73 (C-10'), 126,53 (C-9'), 128,64 (C-7'), 130,60 (C-8'), 144,10 (C-10b'), 144,24 (C-6a'), 149,99 (C-5'), 156,67 (C-4'), 160,55 (C-2'). Zuordnungen der Signale durch HSQC und HMBC gesichert! MS (EI): m/z (%) = 384 [M]⁺⁺ (<5), 86 (100). HPLC (MeOH/TEAF): t_R = 15,83 min. C₂₂H₂₉ClN₄ (385,0)

3.14. Röntgenstrukturanalysen

Datensammlung: Der Kristall wird in Inertöl auf einen Glasfaden montiert, in den Kaltgasstrom des Diffraktometers gebracht (Bruker SMART 1000 CCD) und mit monochromatisierter Mo-K α -Strahlung gemessen. Eine Absorptionskorrektur erfolgte mit der Multi-Scan-Methode (Programm SADABS). Strukturlösung: direkte Methoden. Strukturverfeinerung: anisotrop gegen F², Programm SHELXL-97, G. M. Sheldrick, Universität Göttingen. Wasserstoffatome wurden wie folgt berücksichtigt: Methylgruppen als starre Gruppen, ansonsten mit Riding-Modell. Vollständige Daten (außer Struktur Faktoren) werden unter der Nummer CCDC 292439 (**6**) beim Cambridge Crystallographic Data Centre deponiert und können kostenlos angefordert werden vom Direktor, CCDC, 12 Union Rd., Cambridge CB2 1EZ, UK (e-mail: deposit@chemcrs.cam.ac.uk).

3.15. 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.

Tabelle 2: Röntgenographische Daten

Verbindung	6
Summenformel	C ₁₃ H ₈ Cl ₂ N ₂
M _r	263,11
Kristallgröße (mm)	0,40 × 0,30 × 0,13
Kristallhabitus	Farbloses Prisma
Kristallsystem	triklin
Raumgruppe	P(-1)
Gitterkonstanten:	
a (Å)	10.5403(11)
b (Å)	11.0827(11)
c (Å)	11.2829(11)
α (°)	75.294(4)
β (°)	75.526(4)
γ (°)	62.653(4)
V (Å ³)	1118.64(19)
Z	4
D _x (Mg m ⁻³)	1.562
μ (mm ⁻¹)	0.554
F (000)	536
T (K)	133(2)
Zahl der Reflexe:	
gemessen	23954
unabhängig	6771
R _{int}	0.0244
Parameter	309
Goodness-of-fit (F ²)	1.043
R-Werte [I > 2 σ (I)]	R1 = 0.0320, wR2 = 0.0839
R-Werte (alle Daten)	R1 = 0.0426, wR2 = 0.0915
max. $\Delta\rho$ (eÅ ⁻³)	0,495 und -0,274

3.16. 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, 0,3 bis 0,4 % Parasitämie) beschickt. Anschließend werden Verdünnungsreihen 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 μ l Medium zugesetzt, und die Platten für weitere 24 h inkubiert. Die Parasiten werden durch Filtration über Glasfaserfilter mit einer Zellernteapparatur (Micromate 196, Packard) 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, Jei 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.
- 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.
- Görlitz K, Enge CH, Jones PG (2006) Anellierte Heterocyclen aus 6-Chlor-5-formyl-2-methyl-4-(2-nitrophenyl)-1,4-dihydropyridin-3-carbonsäuremethylester. *Pharmazie* 60: 4–9.
- Janin YL, Bisagni E, Carrez D (1993) Synthesis of some benzo[h]quinoline derivatives. *J Heterocycl Chem* 30: 1129–1131.
- Morales A, Ochoa E, Suárez M, Verdecia Y, Gonzáles L, Martin N, Quinteiro M, Seoane C, Soto JL (1996) Novel hexahydrofuro[3,4-b]-2(1H)-pyridones from 4-aryl substituted 5-alkoxycarbonyl-6-methyl-3,4-dihydropyridones. *J Heterocycl Chem* 33: 103–107.
- Svčlik J, Goljer I, Tureček F (1990) Oxygen-bridged tetrahydropyridines, hexahydro-pyridines, and dihydropyridones via a Hantzsch-like synthesis with 4-(2-hydroxyphenyl)but-3-en-2-one. *J Chem Soc Perkin Trans 1*: 1315–1318.
- Trager W, Jensen JB (1976) Human malaria parasites in continuous culture. *Science* 193: 673–675.