

Institut für Pharmazeutische Chemie<sup>1</sup> der Technischen Universität Braunschweig und Biochemisches Institut<sup>2</sup> der Justus-Liebig-Universität Gießen, Germany

## Thieno[3,2-*c*]chinolin-4-yl-amine – Synthese und Prüfung auf Wirksamkeit gegen Malaria

K. GÖRLITZER<sup>1</sup>, B. GABRIEL<sup>1</sup>, H. JOMAA<sup>2</sup>, J. WIESNER<sup>2</sup>

Eingegangen am 14. April 2005, angenommen am 2. Mai 2005

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

Pharmazie 61: 278–284 (2006)

Der durch Suzuki-Kupplung von 2-Iodthiophen-3-carbonsäuremethylester (**2**) mit 2-Nitrophenylboronsäure erhaltene 2-(2-Nitrophenyl)thiophen-3-carbonsäureester **3** lieferte bei der pH-abhängigen Reduktion die cyclische Hydroxamsäure **4** bzw. das Lactam **5**. Beim Erhitzen des Lactams **5** mit POCl<sub>3</sub>/PCl<sub>5</sub> entstand das 4-Chlorthieno[3,2-*c*]chinolin **6**. Durch Reaktion von **6** mit der Novaldiamin-Base in einer Phenolschmelze wurde das Chloroquin-Analoge **7** gebildet, während mit Phenol-Mannich-Basen die Amodiaquin- bzw. Pyronaridin-Analoga **8** und **9** dargestellt wurden. **6** lieferte mit Putrescin und *N,N'*-Bis(3-aminopropyl)piperazin als Verbindungselement die Bis-Chinolin-Derivate **10** und **11** sowie das monosubstituierte Chinolin **12**. In gleicher Weise reagierte das isomere 4-Chlorthieno[2,3-*c*]chinolin **13** zu den Chinolin-4-yl-aminen **14–16**. Die Substanzen **7–12** und **14–16** wurden *in vitro* auf ihre Aktivität gegen das Wachstum des Malaria-Parasiten *Plasmodium falciparum* getestet. Stärkste Hemmwirkung zeigte das Pyronaridin-Derivat **9** mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 210 nM gegen den Chloroquin-sensitiven *P. falciparum*-Stamm 3D7 und 750 nM gegen den Chloroquin-resistenten *P. falciparum*-Stamm Dd2. Das *N,N'*-Bis(3-aminopropyl)piperazin-Derivat **11** zeigte nach i.p. Applikation in *Plasmodium vinckei*-infizierten Mäusen signifikante *in vivo* Aktivität mit einem ED<sub>50</sub>-Wert von 30 mg/kg.

### Thieno[3,2-*c*]quinoline-4-yl-amines – synthesis and investigation of activity against malaria

pH-Dependant reduction of the methyl 2-(2-nitrophenyl)thiophene-3-carboxylate **3**, formed by Suzuki coupling of methyl 2-iodothiophene-3-carboxylate (**2**) with 2-nitrophenylboronic acid, yielded the cyclic hydroxamic acid **4** and the lactam **5**, respectively. The 4-chlorothieno[3,2-*c*]quinoline **6** was formed from the lactam **5** by heating with POCl<sub>3</sub>/PCl<sub>5</sub>. Melting of **6** with the novaldiamine base in phenol gave the chloroquine analogue **7**, whereas the amodiaquine and the pyronaridine analogues **8** and **9** were obtained using phenol Mannich bases. The reaction of **6** with putrescine and *N,N'*-bis(3-aminopropyl)piperazine as spacer formed the bisquinoline derivatives **10** and **11** as well as the monosubstituted quinoline **12**. In the same manner the isomeric 4-chlorothieno[2,3-*c*]quinoline **13** reacted to yield the quinoline-4-yl-amines **14–16**. The compounds **7–12** and **14–16** were tested for *in vitro* growth inhibition of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. As most active compound the pyronaridine derivative **9** displayed an IC<sub>50</sub> value of 210 nM with the chloroquine sensitive *P. falciparum* strain 3D7 and 750 nM with the chloroquine resistant *P. falciparum* strain Dd2. The *N,N'*-bis(3-aminopropyl)piperazine derivative **11** displayed *in vivo* activity in *Plasmodium vinckei* infected mice with an ED<sub>50</sub> value of 30 mg/kg after i.p. administration.

### 1. Einleitung

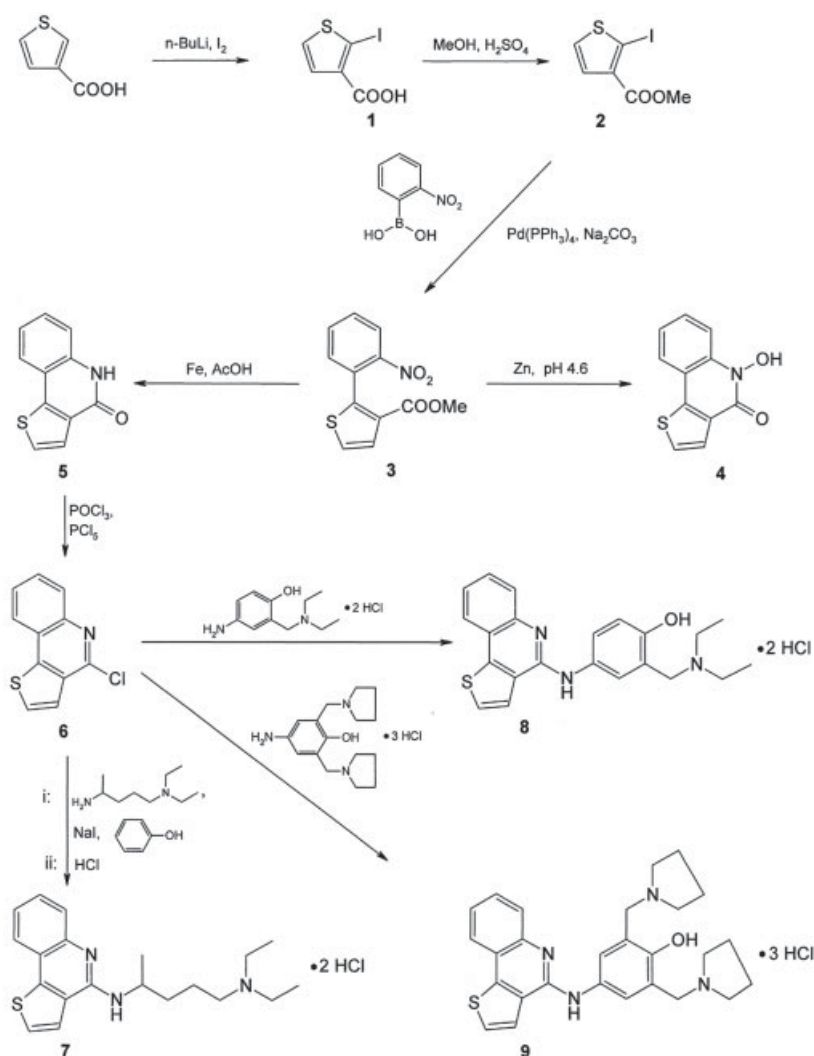
Der durch Suzuki-Kreuzkupplung erhaltene 3-(2-Nitrophenyl)thiophen-2-carbonsäuremethylester wurde nach reduktiver Cyclisierung zum Lactam in das 4-Chlorthieno[2,3-*c*]chinolin überführt. Daraus wurden Analoga der Antimalariamittel Chloroquin, Amodiaquin und Pyronaridin hergestellt. Die beste Wirkung zeigte das Pyronaridin-Derivat, welche das Wachstum eines Chloroquin-resistenten *Plasmodium falciparum*-Stammes mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 650 nM hemmte (Görlitzer et al. 2004a).

Hier wird über die Synthese und biologische Prüfung der isomeren Thieno[3,2-*c*]chinolin-4-yl-amine berichtet. Die Untersuchungen wurden auf Verbindungen ausgedehnt, bei denen ein Verbindungselement zwei der Tricyclen miteinander verknüpft.

### 2. Untersuchungen, Ergebnisse und Diskussion

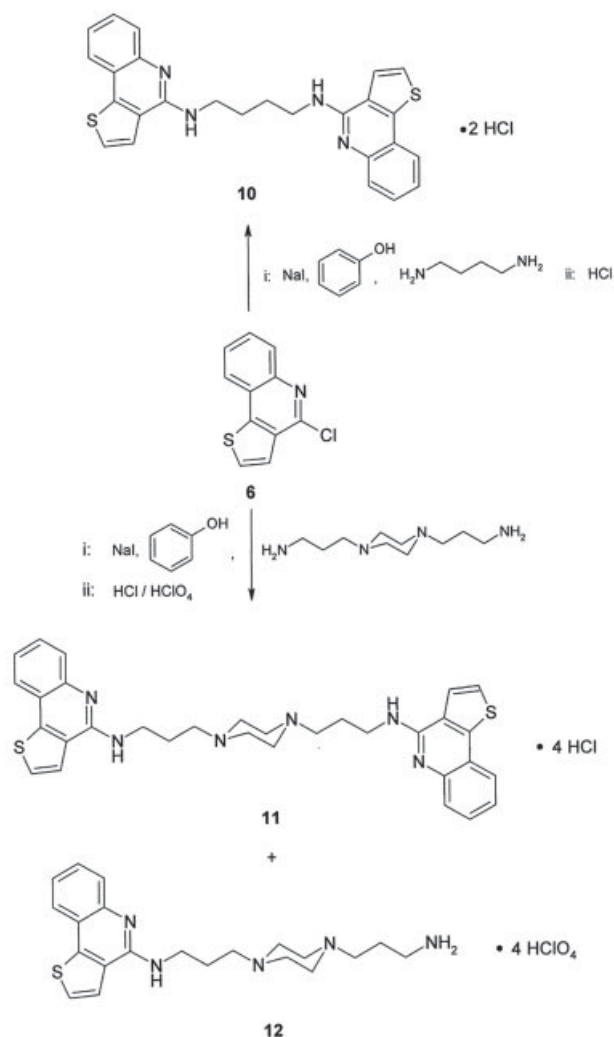
#### 2.1. Synthesen

Ausgehend von der kommerziell erhältlichen Thiophen-3-carbonsäure wurde nach Metallierung mit *n*-Butyllithium

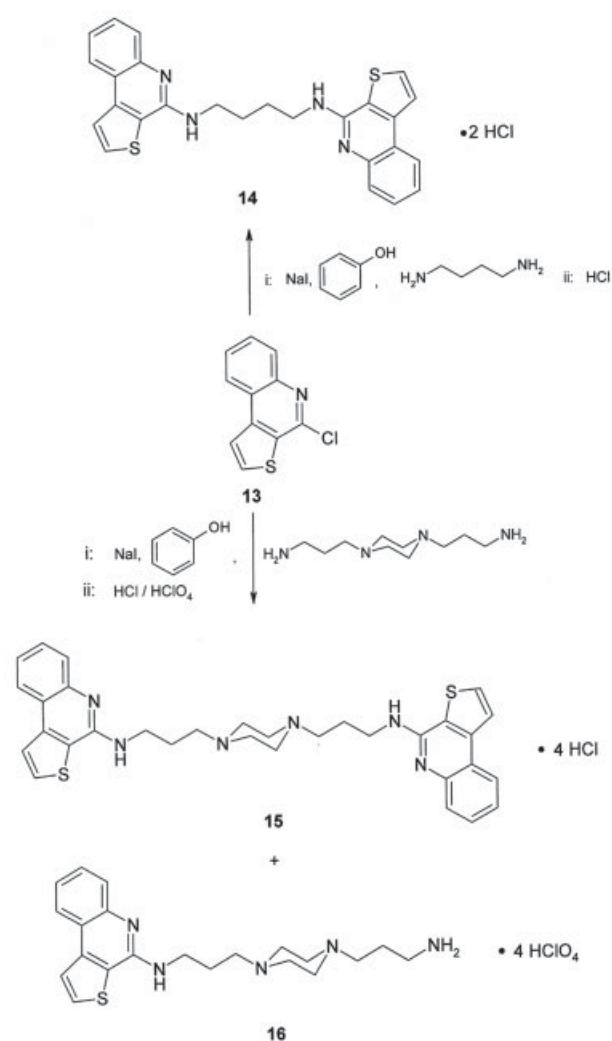


*Plasmodium falciparum*, der Erreger der Malaria tropica, wurde in RPMI-1640-Medium, das mit humanem Serum supplementiert wurde, kultiviert. Dabei wurden humane Erythrozyten als Wirtszellen verwendet (Trager und Jensen 1976). Die Kultur erfolgte bei 37 °C in einer kontrollierten

Schema 2



Schema 3



Atmosphäre bestehend aus 92% N<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub> und 3% CO<sub>2</sub>. Zunächst wurde mit den Testsubstanzen 7–12 und 14–16 ein orientierender Hemmversuch über einen großen Konzentrationsbereich mit mikroskopischer Auswertung durchgeführt. Dabei wurden die Substanzen in 1 zu 10-Verdünnungsschritten über einen Konzentrationsbereich von 1 nM bis 100 µM mit einer Kultur des *P. falciparum*-Stamms 3D7 inkubiert. Die Parasitämie der Kultur betrug zu Beginn des Versuchs 0,3% bei einem Hämatokrit von 2%. Das Parasitenwachstum wurde nach einer Inkubation für 72 h an Giemsa-gefärbten Ausstrichen mikroskopisch bestimmt. Die beste Wirkung zeigten die Verbindungen 10 und 11. Sie hemmten bei diesem Test das Parasitenwachstum in einer Konzentration unter 10 nM (Tabelle 1). Die Verbindung 11 führte bei 100 µM zur Lyse der Erythrozyten. Der verwendete 3D7-Stamm ist Chloroquin-sensitiv und gilt als internationaler Referenzstamm.

Um besser quantifizierbare Ergebnisse zu erhalten, wurde in einem weiteren Test die Wachstumshemmung der Parasiten über die Inkorporation von <sup>3</sup>H-markiertem Hypoxanthin bestimmt (modifizierte Methode nach Desjardins et al. 1979). Dabei wurden die Testsubstanzen in einer 1 zu 3-Verdünnungsserie mit der Parasitenkultur inkubiert. Nach einer Inkubation über 48 h wurde [<sup>3</sup>H]-Hypoxanthin zugefügt und für weitere 24 h inkubiert. Anschließend wurden die Parasiten auf Glasfaserfiltern geerntet, und die inkorporierte

Tabelle 1: *In vitro*-Aktivität gegen den *P. falciparum*-Stamm 3D7 (mikroskopischer Test)

	Substanz									
µM	7	8	9	10	11	12	14	15	16	
100	–	–	–	–	Lyse	–	–	–	–	
10	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
1	+	+	–	–	–	–	–	–	–	
0,1	+	+	–	–	–	+	–	+/–	–	
0,01	+	+	+	–	–	+	–	+/–	+/–	
0,001	+	+	+	+/–	+/–	+	+	+/–	+	

(–) keine lebensfähigen Parasiten

(+) keine Beeinträchtigung des Parasitenwachstums

(+/-) Parasitämie geringer als in unbehandelten Kontrollen und/oder Morphologie der Parasiten anomal

Radioaktivität gemessen. Dieser Test wurde zusätzlich mit dem Chloroquin-resistenten Stamm Dd2 durchgeführt.

Die mit Hilfe des <sup>3</sup>H-Inkorporationstests erhaltenen IC<sub>50</sub> Werte waren insgesamt deutlich höher als die mit dem mikroskopischen Test bestimmten Hemmkonzentrationen (Tabelle 2). Dies spiegelt frühere Beobachtungen wider, dass mit einer 1 zu 10-Verdünnungsserie niedrigere inhibitorische Konzentrationen bestimmt werden als mit einer 1 zu 3-Verdünnungsserie (Wiesner, unveröffentlichte Ergeb-

**Tabelle 2: IC<sub>50</sub>-Werte für die Hemmung des Wachstums der *P. falciparum*-Stämme 3D7 und Dd2 (<sup>3</sup>H-Inkorporationstest)**

Substanz	3D7 IC <sub>50</sub> [nM]	Dd2
<b>7</b>	2100	4100
<b>8</b>	1900	2000
<b>9</b>	210	750
<b>10</b>	480	1400
<b>11</b>	420	3300
<b>12</b>	800	3400
<b>14</b>	630	2100
<b>15</b>	630	2000
<b>16</b>	950	—
Chloroquin	21	210

**Tabelle 3: *In vivo*-Aktivität gegen *P. vinckei***

Substanz	ED <sub>50</sub> (mg/kg)
<b>10</b>	80
<b>11</b>	30
<b>14</b>	100

nisse). Die Ursache dafür ist unbekannt; möglicherweise spielt das Adsorptionsverhalten der Substanzen an dem verwendeten Plastikmaterial eine Rolle. Weiterhin auffällig war, dass für den Dd2-Stamm durchweg höhere IC<sub>50</sub>-Werte gemessen wurden als für den 3D7-Stamm. Die Unterschiede waren jedoch nicht so ausgeprägt wie bei Chloroquin, das als Kontrolle mitgeführt wurde. Eine derartige verminderte Sensitivität des Dd2-Stamms wurde auch in früheren Versuchen mit strukturell unverwandten Inhibitoren beobachtet und scheint nicht auf einen spezifischen Resistenzmechanismus hinzuweisen (Wiesner et al. 2002). Als aktivste Substanz zeigte das Pyronaridin-Derivat **9** einen IC<sub>50</sub>-Wert von 210 nM für den 3D7-Stamm, während sich die Bis-Chinolin-Derivate **10** und **11** nur als etwa halb so wirksam erwiesen. Gegenüber dem Chloroquin-resistenten *P. falciparum*-Stamm Dd2 zeigte die Verbindung **9** mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 750 nM ebenfalls die größte Hemmwirkung (Tabelle 2). Die Aktivität von **9** ist mit dem entsprechenden isomeren Thieno[2,3-*c*]chinolin-Derivat (IC<sub>50</sub> = 650 nM) vergleichbar (Görlitzer et al. 2004b). Um zu untersuchen, ob die ungewöhnlich hohen im mikroskopischen Test beobachteten Aktivitäten der Substanzen **10**, **11** und **14** mit einer *In-vivo*-Aktivität korrelieren, wurde eine Wirksamkeitsprüfung an *Plasmodium-vinckei*-infizierten Mäusen durchgeführt. Beginnend vom Tag nach der Infektion wurden den Versuchstieren unterschiedliche Dosen (10, 30, 100 mg/kg) der Substanzen durch intraperitoneale Injektion einmal täglich für drei Tage appliziert. Am vierten Tag wurde den Tieren Blut entnommen, die vorhandenen Parasiten ausgezählt und die ED<sub>50</sub>-Werte ermittelt (Tabelle 3). Die Substanzen **10** und **14** zeigten schwache *in vivo*-Aktivität mit ED<sub>50</sub>-Werten von 80 bzw. 100 mg/kg. Als relativ gut wirksam erwies sich die Verbindung **11** (ED<sub>50</sub> = 30 mg/kg). Dieses Ergebnis ist in Hinblick auf die moderate Aktivität im <sup>3</sup>H-Inkorporationstest bemerkenswert. Eine mögliche Erklärung für die vergleichsweise hohe *In-vivo*-Aktivität von **11** könnte in einem günstigen pharmakokinetischen Verhalten aufgrund der relativ hohen Wasserlöslichkeit bedingt durch die *N,N'*-Bis(3-aminopropyl)piperazin-Gruppe bestehen. Einschränkung ist festzustellen, dass bei den drei getesteten Verbindungen toxische Effekte bei den wirksamen Konzentrationen beobachtet wurden. Eine Verbesserung der therapeutischen Breite ist daher notwendig.

### 3. Experimenteller Teil

#### 3.1. Allgemeine Angaben

Vgl. Görlitzer et al. (2004a).

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

0.27 g (1 mmol) Methyl-2-iod-3-thiophencarboxylat (**2**) werden in 30 ml 1,2-Dimethoxyethan gelöst, 0.06 g (0.05 mmol) Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) zugefügt und 15 min bei RT gerührt. Nach Zusatz von 4.0 ml 2 M-Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung und 0.24 g (1.4 mmol) 2-Nitrophenylboronsäure wird der Reaktionsansatz 5 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird der Ansatz mit 150 ml H<sub>2</sub>O versetzt und mit insgesamt 100 ml Et<sub>2</sub>O extrahiert. Die organische Phase wird mit 150 ml einer gesättigten NaCl-Lösung und dann mit 150 ml H<sub>2</sub>O gewaschen. Nach Trocknung über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösemittel i. Vak. abgezogen und der Rückstand einer FC (Eluent: EtOAc/Petroläther 1:3) unterworfen. Ausbeute: 0.20 g (76.0%). Gelbliche Kristalle, Schmp.: 117 °C (EtOH). IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 1711 (C=O), 1613 (C=C), 1522, 1358 (NO<sub>2</sub>). UV (MeOH):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 250 nm (4.11). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 3.65 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>), 7.35 (d, J = 5.3 Hz, 1 H, 5-H), 7.45 (dd, J = 1.4 Hz, J = 7.7 Hz, 1 H, 6'-H), 7.51 (d, J = 5.3 Hz, 1 H, 4-H), 7.57 (dt, J = 1.4 Hz, J = 7.7 Hz, 1 H, 4'-H), 7.63 (dt, J = 1.4 Hz, J = 7.7 Hz, 1 H, 5'-H), 8.09 (dd, J = 1.4 Hz, J = 7.7 Hz, 1 H, 3'-H). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) + DEPT:  $\delta$  (ppm) = 51.65 (CH<sub>3</sub>), 124.41 (C-3'), 125.14 (C-5), 128.63 (C-1'), 129.10 (C-3, C-4), 129.60 (C-4'), 132.35 (C-5'), 132.76 (C-6'), 145.41 (C-2), 149.27 (C-2'), 162.81 (C=O). Zuordnung der Signale über HSQC- und HMBC-Spektren gesichert! MS (EI): m/z (%) = 263 [M]<sup>+</sup> (10), 204 (100). HPLC: t<sub>s</sub> = 1.00 min (FM: H<sub>2</sub>O/MeCN 30:70; t<sub>m</sub> = 1.00). C<sub>12</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub>S (263.3)

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

0.47 g (1.8 mmol) **3** werden in 30 ml EtOH abs. gelöst. Nach Zusatz von 6 ml Acetat-Pufferlösung pH 4,6 R (Ph. Eur. 1997) und sechs Zn-Granalien (Zink, aktiviertes R; Ph. Eur. 1997) wird der Ansatz 2 h rückfließend erhitzt. Der entstandene Niederschlag wird abgesaugt, zweimal mit Et<sub>2</sub>O gewaschen und unter Zusatz von wenigen Tropfen EtOH in HCl (0.1 mol/l) suspendiert. Der nach 1 h starken Rührens verbleibende Niederschlag wird abgesaugt. Ausbeute: 0.17 g (43.5%). Fast farblose Kristalle, Schmp.: 228 °C (EtOH). IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3434 (OH), 1661 (C=O), 1623 (C=C). UV (MeOH):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 237 nm (4.55), 241 (4.54), 284 (3.70), 295 (3.70), 332 (3.88), 345 (3.86). <sup>1</sup>H NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO):  $\delta$  (ppm) = 7.34 (t, J = 7.7 Hz, 1 H, 7-H), 7.64 (t, J = 7.7 Hz, 1 H, 8-H), 7.67 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 3-H), 7.79 (d, J = 7.7 Hz, 1 H, 6-H), 7.84 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 2-H), 7.93 (d, J = 7.7 Hz, 1 H, 9-H), 11.37 (s, 1 H, OH). <sup>13</sup>C NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO) + DEPT:  $\delta$  (ppm) = 113.47 (C-6), 115.37 (C-5a), 122.80 (C-7), 123.61 (C-9), 125.35 (C-3), 127.14 (C-2), 129.75 (C-8), 130.43 (C-3a), 136.15 (C-9a), 142.83 (C-9b), 154.26 (C-4). MS (EI): m/z (%) = 217 [M]<sup>+</sup> (100). HPLC: t<sub>s</sub> = 4.94 min (FM: NEt<sub>3</sub> · HCOOH/MeOH 50:50; t<sub>m</sub> = 1.08). C<sub>11</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>S (217.2)

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

0.53 g (2 mmol) **3** werden in einer Mischung aus 42 ml THF, 4.2 ml AcOH und 4.2 ml H<sub>2</sub>O gelöst, mit 1.50 g (27 mmol) Fe-Späne versetzt und 6 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Entfernen der Fe-Späne wird das Lösemittel i. Vak. abgezogen und der verbleibende Rückstand in 300 ml H<sub>2</sub>O gelöst. Die wässrige Lösung wird mit HCl (1 mol/l) versetzt (pH ~ 1) und der ausfallende Feststoff abgesaugt. Ausbeute: 0.39 g (97.0%). Fast farblose Kristalle, Schmp.: 274 °C (EtOH). IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3434 (NH), 1669, 1590 (C=O, C=C). UV (MeOH):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 232 (4.57), 281 (3.70), 291 (3.71), 328 (3.96), 342 (3.92). <sup>1</sup>H NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO):  $\delta$  (ppm) = 7.23 (t, J = 7.4 Hz, 1 H, 8-H), 7.43 (d, J = 7.4 Hz, 1 H, 6-H), 7.48 (t, J = 7.4 Hz, 1 H, 7-H), 7.60 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 3-H), 7.76 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 2-H), 7.82 (d, J = 7.4 Hz, 1 H, 9-H), 11.75 (s, 1 H, NH). <sup>13</sup>C NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO) + DEPT:  $\delta$  (ppm) = 116.09 (C-6), 116.21 (C-9a), 122.24 (C-8), 123.18 (C-9), 125.13 (C-3), 126.34 (C-2), 129.14 (C-7), 131.03 (C-3a), 136.12 (C-9a), 145.49 (C-9b), 158.09 (C-4). Zuordnung der Signale über NOE-, HSQC- und HMBC-Spektren gesichert! MS (EI): m/z (%) = 201 [M]<sup>+</sup> (100). HPLC: t<sub>s</sub> = 0.67 min (FM: H<sub>2</sub>O/MeCN 30:70; t<sub>m</sub> = 1.00). C<sub>11</sub>H<sub>7</sub>NOS (201.2)

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

0.90 g (4.5 mmol) **5** und 1.26 g (6.3 mmol) PCl<sub>5</sub> werden in 75 ml POCl<sub>3</sub> gelöst und 4 h rückfließend erhitzt. Nach dem Abkühlen wird der Ansatz in 300 ml Eiswasser eingerührt und mit festem NaHCO<sub>3</sub> neutralisiert. Der gebildete Schaum wird in Petroläther gelöst, mit ges. NaCl-Lösung sowie H<sub>2</sub>O gewaschen und das Lösemittel i. Vak. abgezogen. Der Rückstand wird einer FC (Eluent: EtOAc/Petroläther 1:9) unterworfen. Ausbeute: 0.65 g (66.0%). Farblose Kristalle, Schmp.: 126 °C (EtOH). IR (KBr):  $\tilde{\nu}$



( $\text{cm}^{-1}$ ) = 1562 (C=N, C=C). UV (MeOH):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 240 nm (4.54), 259 (4.58), 275 (3.89), 311 (3.27), 324 (3.53), 339 (3.57).  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 7.58 (d, J = 5.4 Hz, 1H, 3-H), 7.61 (dt, J = 1.5 Hz, J = 7.7 Hz, 1H, 7-H), 7.66 (d, J = 5.4 Hz, 1H, 2-H), 7.70 (dt, J = 1.5 Hz, J = 7.7 Hz, 1H, 8-H), 8.05 (dd, J = 1.5 Hz, J = 7.7 Hz, 1H, 6-H), 8.12 (dd, J = 1.5 Hz, J = 7.7 Hz, 1H, 9-H).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) + DEPT:  $\delta$  (ppm) = 123.22 (C-6), 123.64 (C-5a), 124.27 (C-7), 126.58 (C-9), 127.36 (C-3), 129.19 (C-2), 129.38 (C-8), 132.11 (C-3a), 143.45 (C-9a), 145.70 (C-9b), 146.74 (C-4). MS (EI):  $m/z$  (%) = 219  $[\text{M}]^{++}$  (100). HPLC:  $t_s$  = 3.18 min (FM:  $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$  30 : 70;  $t_m$  = 1.00).  $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{ClNS}$  (219.7)

### 3.6. (R,S)- $N^d$ -(Thieno[3,2-c]chinolin-4-yl)- $N^l$ , $N^l$ -diethyl-1,4-pentandiamin (7-Base)

0.44 g (2 mmol) **6**, 0.19 g Phenol, 0.03 g NaI und 0.67 g (4.2 mmol)  $N^l$ , $N^l$ -Diethyl-1,4-pentandiamin werden gemischt und 1 h auf 160 °C erhitzt. Der Ansatz wird in 100 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  15% aufgenommen und mit 150 ml  $\text{CHCl}_3$  ausgeschüttelt. Die wässrige Phase wird mit NaOH 10% alkalisiert und mit  $\text{CHCl}_3$  extrahiert. Nach Trocknung über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird die organische Phase eingeeengt und der Rückstand einer FC (Eluent: Toluol/Petroläther/EtOAc/HNEt<sub>2</sub> 24 : 8 : 2 : 1) unterworfen. Ausbeute: 0.22 g (32.3%). Gelbes Öl. IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3433 (NH), 1565 (C=N, C=C). UV (MeOH):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 228 nm (4.25), 250 (4.54), 258 (4.52), 270 (4.25), 286 (4.02), 343 (3.72), 358 (3.73).  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 0.99 (t, J = 7.2 Hz, 6H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1.33 (d, J = 6.4 Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.55–1.64 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 2.51 (t, q, J = 7.2 Hz, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_2)_3$ ), 4.58 (m, 1H, CH), 4.97 (d, J = 7.9 Hz, 1H, NH), 7.23 (dt, J = 1.5 Hz, J = 7.7 Hz, 1H, 7'-H), 7.32 (d, J = 5.4 Hz, 1H, 3'-H), 7.42 (d, J = 5.4 Hz, 1H, 2'-H), 7.49 (dt, J = 1.5 Hz, J = 7.7 Hz, 1H, 8'-H), 7.78 (dd, J = 1.5 Hz, J = 7.7 Hz, 1H, 6'-H), 7.86 (dd, J = 1.5 Hz, J = 7.7 Hz, 1H, 9'-H).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) + DEPT:  $\delta$  (ppm) = 12.82 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 22.47 ( $\text{CH}_3$ ), 25.06 (C-2), 36.51 (C-3), 47.42 (C-4), 48.12 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 54.21 (C-1), 121.63 (C-5a'), 121.93 (C-6'), 123.42 (C-7'), 124.17 (C-9'), 125.66 (C-3a'), 126.12 (C-3'), 128.33 (C-2'), 129.69 (C-8'), 146.39 (C-9a'), 146.65 (C-9b'), 152.74 (C-4'). MS (EI):  $m/z$  (%) = 341  $[\text{M}]^{++}$  (16), 86 (100). HPLC:  $t_s$  = 2.87 min (FM:  $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$  30 : 70;  $t_m$  = 1.00).  $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{S}$  (341.5)

### 3.7. (R,S)- $N^d$ -(Thieno[3,2-c]chinolin-4-yl)- $N^l$ , $N^l$ -diethyl-1,4-pentandiamin-dihydrochlorid (7)

0.15 g (0.44 mmol) 7-Base werden in 20 ml Et<sub>2</sub>O gelöst und HCl durchgeleitet. Der entstandene Niederschlag wird abgesaugt. Ausbeute: 0.13 g (71.3%). Fast farblose Kristalle, Schmp.: 143 °C (EtOH). IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3417 (NH), 1641, 1609 (C=N, C=C). UV (MeOH):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 236 nm (4.40), 250 (4.55), 257 (4.46), 270 (4.10), 285 (3.82), 316 (3.54), 330 (3.84), 345 (3.91), 358 (3.46).  $^1\text{H}$  NMR ( $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ ):  $\delta$  (ppm) = 1.21 (t, J = 7.1 Hz, 6H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1.40 (d, J = 6.1 Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.74–2.05 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 3.09 (q, J = 7.1 Hz, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_2)_3$ ), 5.07 (s, 1H, CH), 7.51 (t, J = 7.5 Hz, 1H, 7'-H), 7.71 (t, J = 7.5 Hz, 1H, 8'-H), 8.05 (d, J = 7.5 Hz, 1H, 6'-H), 8.09 (d, J = 5.4 Hz, 1H, 3'-H), 8.68 (d, J = 7.5 Hz, 1H, 9'-H), 8.73 (d, J = 5.4 Hz, 1H, 2'-H), 9.91 (d, J = 8.2 Hz, 1H,  $\text{N}^4\text{-H}$ ), 10.35 (s, 1H,  $\text{N}^1\text{-H}$ ), 13.43 (s, 1H,  $\text{N}^5\text{-H}$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ ) + DEPT:  $\delta$  (ppm) = 8.34 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 19.82 (C-2), 19.88 ( $\text{CH}_3$ ), 31.82 (C-3), 46.11 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 48.59 (C-4), 50.34 (C-1), 117.47 (C-5a'), 118.75 (C-6'), 123.01 (C-3a'), 123.49 (C-7'), 124.54 (C-9'), 125.61 (C-3'), 129.06 (C-2'), 130.44 (C-8'), 133.07 (C-9a'), 147.06 (C-9b'), 147.72 (C-4'). MS (EI):  $m/z$  (%) = 341  $[\text{M}]^{++}$  (30), 86 (100). HPLC:  $t_s$  = 6.62 min (FM:  $\text{NEt}_3 \cdot \text{HCOOH}/\text{MeOH}$  50 : 50;  $t_m$  = 1.08).  $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{S}$  (414.4)

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

0.29 g (1.3 mmol) **6** werden unter Erwärmen in 30 ml Ethylenglycolmonoethylether gelöst, mit 0.35 g (1.3 mmol) 4-Amino-2-diethylaminomethylphenol-dihydrochlorid versetzt und 9.5 h auf 120 °C erhitzt. Das Lösemittel wird i. Vak. abgezogen und der verbleibende Rückstand einer FC (Eluent: MeOH/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  1 : 4) unterworfen. Ausbeute: 0.20 g (34.2%). Gelbe Kristalle, Schmp.: 223 °C (EtOH). IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3404 (OH, NH), 1630, 1603 (C=N, C=C). UV (MeOH):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 237 nm (4.44), 249 (4.47), 279 (4.23), 306 (4.01), 346 (3.85).  $^1\text{H}$  NMR ( $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ ):  $\delta$  (ppm) = 1.31 (t, J = 7.1 Hz, 6H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 3.17–3.22 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 4.27 (s, 2H,  $\text{ArCH}_2$ ), 7.26 (d, J = 8.6 Hz, 1H, 6-H), 7.53 (dd, J = 2.5 Hz, J = 8.6 Hz, 1H, 5-H), 7.59 (d, J = 7.4 Hz, 1H, 6'-H), 7.72 (t, J = 7.4 Hz, 1H, 7'-H), 7.81 (d, J = 2.5 Hz, 1H, 3-H), 8.08 (d, J = 7.4 Hz, 1H, 9'-H), 8.13 (t, J = 7.4 Hz, 1H, 8'-H), 8.17 (d, J = 5.5 Hz, 1H, 3'-H), 8.48 (d, J = 5.5 Hz, 1H, 2'-H), 10.32 (s, 1H, NH), 11.00 (s, 1H,  $\text{NH}_{\text{tert. Amin}}$ ), 11.88 (s, 1H, OH), 12.75 (s, 1H,  $\text{N}^5\text{-H}$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ ) + DEPT:  $\delta$  (ppm) = 8.37 ( $\text{CH}_3$ ), 46.15 ( $\text{N}(\text{CH}_2)_2$ ), 49.25 ( $\text{ArCH}_2$ ), 116.95 (C-6'), 117.70 (C-5a'), 118.14 (C-3a'), 119.35 (C-6), 123.17 (C-4), 123.64 (C-7'), 124.18 (C-9'), 125.77 (C-9a'), 125.91 (C-3'), 129.01 (C-2'), 129.67 (C-8'), 130.48 (C-3), 130.65 (C-5), 132.83 (C-2),

147.98 (C-9b'), 148.26 (C-1), 156.40 (C-4'). MS (EI):  $m/z$  (%) = 377  $[\text{M}]^{++}$  (66), 275 (100). HPLC:  $t_s$  = 12.97 min (FM:  $\text{NEt}_3 \cdot \text{HCOOH}/\text{MeOH}$  50 : 50;  $t_m$  = 1.08).  $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{OS}$  (450.4)

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

0.37 g (1.7 mmol) **6** werden unter Erwärmen in 30 ml Ethylenglycolmonoethylether gelöst, mit 0.65 g (1.7 mmol) 4-Amino-2,6-bis-(pyrrolidinomethyl)phenol-trihydrochlorid versetzt und 9 h auf 120 °C erhitzt. Das Lösemittel wird i. Vak. abgezogen und der verbleibende Rückstand mit einer Mischung aus *n*-Hexan/EtOAc/EtOH abs. (1 : 1 : 1) umkristallisiert. Die ausfallenden Kristalle werden abgesaugt und mit *n*-Hexan gewaschen. Ausbeute: 0.70 g (72.6%). Gelbe Kristalle, Schmp.: ab 239 °C (EtOH). IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3392 (NH), 3195 (OH), 1630, 1606 (C=N, C=C). UV (MeOH):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 249 nm (4.54), 280 (4.35), 304 (4.19), 345 (3.93), 361 (3.82).  $^1\text{H}$  NMR ( $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ ):  $\delta$  (ppm) = 1.93 ( $\text{Sbr.}$ , 4H,  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2$ ), 2.07 ( $\text{Sbr.}$ , 4H,  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2$ ), 3.22 ( $\text{Sbr.}$ , 4H,  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2$ ), 3.56 ( $\text{Sbr.}$ , 4H,  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2$ ), 4.52 (s, 4H,  $\text{ArCH}_2$ ), 7.57 (t, J = 7.5 Hz, 1H, 7'-H), 7.72 (t, J = 7.5 Hz, 1H, 8'-H), 7.91 (s, 2H, 3-H, 5-H), 8.13–8.16 (m, 2H, 6'H, 9'-H), 8.16 (d, J = 5.4 Hz, 1H, 3'-H), 8.46 (d, J = 5.4 Hz, 1H, 2'-H), 10.35 (s, 1H, NH), 10.76 (s, 2H,  $\text{NH}_{\text{Pyrrolidin}}$ ), 11.99 (s, 1H, OH), 13.18 (s, 1H,  $\text{N}^5\text{-H}$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ ):  $\delta$  (ppm) = 22.37 ( $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2$ ), 51.12 ( $\text{ArCH}_2$ ), 52.49 ( $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2$ ), 118.47 (C-5a'), 121.73 (C-2, C-6), 123.50 (C-3, C-5), 124.50 (C-6'), 125.52 (C-7'), 129.39 (C-3a'), 129.45 (C-9a'), 130.32 (C-9'), 131.19 (C-3'), 131.28 (C-2'), 131.37 (C-8'), 131.94 (C-4), 147.96 (C-4'). Keine separierten Signale für C-1 und C-9b' im erwarteten Bereich von 138–145 ppm. MS (EI):  $m/z$  (%) = 458  $[\text{M}]^{++}$  (23), 318 (100) HPLC:  $t_s$  = 21.22 min (FM:  $\text{NEt}_3 \cdot \text{HCOOH}/\text{MeOH}$  50 : 50;  $t_m$  = 1.08).  $\text{C}_{27}\text{H}_{33}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{OS}$  (568.0)

### 3.10. $N^l$ , $N^d$ -Bis(thieno[3,2-c]chinolin-4-yl)butan-1,4-diamin (10-Base)

0.44 g (2 mmol) **6**, 0.19 g Phenol, 0.03 g NaI und 0.19 g (2.1 mmol) 1,4-Butandiamin werden gemischt und 1 h auf 160 °C erhitzt. Der Ansatz wird in 350 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  15% aufgenommen und mit 400 ml  $\text{CHCl}_3$  ausgeschüttelt. Die wässrige Phase wird mit NaOH 10% alkalisiert und mit  $\text{CHCl}_3$  extrahiert. Nach Trocknung über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird die organische Phase eingeeengt und der Rückstand einer FC (Eluent: EtOAc/Petroläther/HNEt<sub>2</sub> 16 : 8 : 1) unterworfen. Ausbeute: 0.20 g (22%). Gelbe Kristalle, Schmp.: 212 °C (EtOH). IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3430, 3252 (NH), 1574 (C=N, C=C). UV (MeOH):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 251 nm (4.82), 257 (4.79), 270 (4.51), 285 (4.28), 343 (4.01), 357 (3.99).  $^1\text{H}$  NMR ( $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ ):  $\delta$  (ppm) = 1.83 (s, 4H, 2-H, 3-H), 3.66 (d, J = 4.9 Hz, 4H, 1-H, 4-H), 7.18 (t, J = 7.5 Hz, 2H, 7'-H, 7''-H), 7.42 (t, J = 7.5 Hz, 4H, 8'-H, 8''-H,  $\text{N}^1\text{-H}$ ,  $\text{N}^4\text{-H}$ ), 7.60 (d, J = 7.5 Hz, 2H, 6'-H, 6''-H), 7.77 (d, J = 5.4 Hz, 2H, 3'-H, 3''-H), 7.82 (d, J = 7.5 Hz, 2H, 9'-H, 9''-H), 7.87 (d, J = 5.4 Hz, 2H, 2'-H, 2''-H).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ ) + DEPT:  $\delta$  (ppm) = 26.69 (C-2, C-3), 40.26 (C-1, C-4), 119.52 (C-5a'), 121.61 (C-6', C-6''), 122.67 (C-7', C-7'', C-9', C-9''), 124.67 (C-3a', C-3a''), 125.77 (C-3', C-3''), 126.34 (C-2', C-2''), 128.21 (C-8', C-8''), 144.06 (C-9a', C-9a''), 144.76 (C-9b', C-9b''), 152.02 (C-4', C-4''). MS (EI):  $m/z$  (%) = 454  $[\text{M}]^{++}$  (12), 200 (100). HPLC:  $t_s$  = 5.13 min (FM:  $\text{NEt}_3 \cdot \text{HCOOH}/\text{MeOH}$  50 : 50;  $t_m$  = 1.08).  $\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{S}_2$  (454.6)

### 3.11. $N^l$ , $N^d$ -Bis(thieno[3,2-c]chinolin-4-yl)butan-1,4-diamin-dihydrochlorid (10)

0.13 g (0.28 mmol) **10**-Base werden in 60 ml DMF gelöst und HCl durchgeleitet. Der entstandene Niederschlag wird abgesaugt. Ausbeute: 0.06 g (40.7%). Gelbe Kristalle, Schmp.: ab 260 °C (EtOH). IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3417 (NH), 1647, 1611 (C=N, C=C). UV (MeOH):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 250 nm (4.86), 285 (4.16), 330 (4.13), 345 (4.19).  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3 + \text{F}_3\text{CCOOH}$ ):  $\delta$  (ppm) = 2.17 (s, 4H, 2-H, 3-H), 3.93 (s, 4H, 1-H, 4-H), 7.53 (t, J = 7.5 Hz, 2H, 7'-H, 7''-H), 7.66 (d, J = 5.4 Hz, 2H, 3'-H, 3''-H), 7.68 (t, J = 7.5 Hz, 2H, 8'-H, 8''-H), 7.94 (d, J = 7.5 Hz, 2H, 6'-H, 6''-H), 8.04 (d, J = 5.4 Hz, 2H, 2'-H, 2''-H), 8.17 (d, J = 7.5 Hz, 2H, 9'-H, 9''-H), 8.15 (s, 2H,  $\text{N}^1\text{-H}$ ,  $\text{N}^4\text{-H}$ ), 11.08 (s, 2H,  $\text{N}^5\text{-H}$ ,  $\text{N}^5''\text{-H}$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3 + \text{F}_3\text{CCOOH}$ ) + DEPT:  $\delta$  (ppm) = 25.12 (C-2, C-3), 42.48 (C-1, C-4), 118.29 (C-5a', C-5a''), 118.80 (C-6', C-6''), 122.08 (C-3a', C-3a''), 122.88 (C-7', C-7''), 123.75 (C-9', C-9''), 126.61 (C-3', C-3''), 128.53 (C-2', C-2''), 131.37 (C-8', C-8''), 132.34 (C-9a', C-9a''), 148.70 (C-9b', C-9b''), 149.00 (C-4', C-4''). MS (EI):  $m/z$  (%) = 454  $[\text{M}]^{++}$  (13), 254 (100). HPLC:  $t_s$  = 5.13 min (FM:  $\text{NEt}_3 \cdot \text{HCOOH}/\text{MeOH}$  50 : 50;  $t_m$  = 1.08).  $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{S}_2$  (527.5)

### 3.12. 1,4-Bis((3-thieno[3,2-c]chinolin-4-yl)aminopropyl)piperazin (11-Base)

0.20 g (0.9 mmol) **6**, 0.09 g Phenol, 0.02 g NaI und 0.18 g (0.9 mmol)  $N,N'$ -Bis(3-aminopropyl)piperazin werden gemischt und 1 h auf 160 °C er-

hitzt. Der Ansatz wird in 100 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15% aufgenommen und mit 400 ml CHCl<sub>3</sub> ausgeschüttelt. Die wässrige Phase wird mit NaOH 10% alkalisiert und mit CHCl<sub>3</sub> extrahiert. Nach Trocknung über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird die organische Phase eingedunstet und der Rückstand einer FC (Eluent: MeOH/EtOAc/HNEt<sub>2</sub> 14:2:1) unterworfen. Als 1. Fraktion wird **11**-Base, als 2. Fraktion **12**-Base eluiert. Ausbeute: 0.10 g (19.6%). Gelbe Kristalle, Schmp.: 235 °C (EtOH). IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3437 (NH), 1569, 1530 (C=N, C=C). UV (MeOH):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 251 nm (4.78), 257 (4.75), 269 (4.47), 285 (4.23), 342 (3.94), 356 (3.93). <sup>1</sup>H NMR ([D<sub>5</sub>]Pyridin):  $\delta$  (ppm) = 1.21–1.27 (m, 12H, 2-H, 2'-H, H<sub>Piperazin</sub>), 1.37 (t, J = 7.3 Hz, 4H, 1-H, 1'-H), 3.16 (q, J = 7.3 Hz, 4H, 3-H, 3'-H), 5.40 (s, 2H, NH), 7.23 (t, J = 7.8 Hz, 2H, 7''-H, 7'''-H), 7.51 (t, J = 7.8 Hz, 2H, 8''-H, 8'''-H), 7.59 (d, J = 5.4 Hz, 2H, 3''-H, 3'''-H), 7.82 (d, J = 7.8 Hz, 2H, 6''-H, 6'''-H), 8.17 (d, J = 7.8 Hz, 2H, 9''-H, 9'''-H), 8.37 (d, J = 5.4 Hz, 2H, 2''-H, 2'''-H). MS (EI): m/z (%) = 566 [M]<sup>++</sup> (12), 270 (100). HPLC: t<sub>s</sub> = 5.11 min (FM: NEt<sub>3</sub> · HCOOH/MeOH 50:50; t<sub>m</sub> = 1.08). C<sub>32</sub>H<sub>34</sub>N<sub>6</sub>S<sub>2</sub> (566.8)

### 3.13. 1,4-Bis((3-thieno[3,2-c]chinolin-4-yl)aminopropyl)piperazin-tetrahydrochlorid (11)

0.10 g (0.18 mmol) **11**-Base werden in 50 ml CHCl<sub>3</sub> gelöst und HCl-Gas durchgeleitet. Der entstandene Niederschlag wird abgesaugt. Ausbeute: 0.07 g (54.6%). Gelbe Kristalle, Schmp.: 255 °C (EtOH). IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3400 (NH), 1647, 1611 (C=N, C=C). UV (MeOH):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 236 nm (4.64), 250 (4.75), 284 (3.97), 317 (3.88), 329 (4.12), 345 (4.15). <sup>1</sup>H NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO):  $\delta$  (ppm) = 2.24 (s, 4H, 2-H, 2'-H), 3.32 (s, 4H, 1-H, 1'-H), 3.64 (s, 8H, H<sub>Piperazin</sub>), 3.93 (s, 4H, 3-H, 3'-H), 7.51 (t, J = 7.6 Hz, 2H, 7''-H, 7'''-H), 7.71 (t, J = 7.6 Hz, 2H, 8''-H, 8'''-H), 8.06 (d, J = 7.6 Hz, 2H, 6''-H, 6'''-H), 8.09 (d, J = 5.4 Hz, 2H, 3''-H, 3'''-H), 8.46 (d, J = 5.4 Hz, 2H, 2''-H, 2'''-H), 8.56 (d, J = 7.6 Hz, 2H, 9''-H, 9'''-H), 10.28 (s, 2H, NH), 11.76 (s, 2H, NH<sub>Piperazin</sub>), 13.31 (s, 2H, N<sup>5''</sup>-H, N<sup>5'''</sup>-H). <sup>13</sup>C NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO) + DEPT:  $\delta$  (ppm) = 22.50 (C-2, C-2'), 39.75 (C-1, C-1'), 40.25 (C-Piperazin), 48.75 (C-3, C-3'), 117.72 (C-5a'', C-5a'''), 119.50 (C-6'', C-6'''), 123.42 (C-3a'', C-3a'''), 123.59 (C-7'', C-7'''), 123.61 (C-9a'', C-9a'''), 124.27 (C-9'', C-9'''), 125.48 (C-3'', C-3'''), 129.22 (C-2'', C-2'''), 130.38 (C-8'', C-8'''), 147.00 (C-9b'', C-9b'''), 148.66 (C-4'', C-4'''). MS (EI): m/z (%) = 566 [M]<sup>++</sup> (<1), 270 (100). HPLC: t<sub>s</sub> = 0.11 min (FM: NEt<sub>3</sub> · HCOOH/MeOH 50:50; t<sub>m</sub> = 1.08). C<sub>32</sub>H<sub>38</sub>Cl<sub>4</sub>N<sub>6</sub>S<sub>2</sub> (712.6)

### 3.14. N-[3-[4-(3-aminopropyl)-1-piperazinyl]propyl]-N-thieno[3,2-c]chinolin-4-ylamin (12-Base)

Darstellung: 3.12. Ausbeute: 0.14 g (13.5%). Gelbliche Kristalle, Schmp.: 223 °C (EtOH). IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3321 (NH<sub>2</sub>, NH), 1661 (C=N, C=C). UV (MeOH):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 228 (4.16), 250 (4.43), 258 (4.40), 269 (4.12), 285 (3.88), 342 (3.59), 356 (3.60). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 1.64–1.72 (m, 2H, 2'-H), 1.86 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 1.88–1.94 (m, 4H, 2-H, 3'-H), 2.48 (t, J = 7.1 Hz, 2H, 1'-H), 2.52–2.61 (m, 8H, H<sub>Piperazin</sub>), 2.80 (t, J = 6.7 Hz, 2H, 3-H), 3.80 (t, J = 6.7 Hz, 2H, 1-H), 6.78, 6.86 (s, 2:1, 1H, NH), 7.24 (dt, J = 1.2 Hz, J = 7.5 Hz, 1H, 7''-H), 7.45 (d, J = 5.3 Hz, 1H, 3''-H), 7.48 (d, J = 5.3 Hz, 1H, 2''-H), 7.49 (dt, J = 1.2 Hz, J = 7.5 Hz, 1H, 8''-H), 7.79 (dd, J = 1.2 Hz, J = 7.5 Hz, 1H, 6''-H), 7.86 (dd, J = 1.2 Hz, J = 7.5 Hz, 1H, 9''-H). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) + DEPT:  $\delta$  (ppm) = 24.79 (C-2'), 29.94 (C-2), 40.80 (C-1'), 41.91 (C-3), 53.39, 53.49 (C-Piperazin), 56.65 (C-3'), 58.44 (C-1), 120.27 (C-5a''), 121.24 (C-6''), 122.03 (C-7''), 122.86 (C-9''), 124.55 (C-3a''), 124.66 (C-3''), 126.78 (C-2''), 128.38 (C-8''), 145.13 (C-9a''), 152.29 (C-9b''), 160.10 (C-4''). MS (CI, NH<sub>3</sub>): positiv: m/z (%) = 384 [M+H]<sup>+</sup> (19), 201 (100). HPLC: t<sub>s</sub> = 5.56 min (FM: H<sub>2</sub>O/MeCN 30:70; t<sub>m</sub> = 1.00). C<sub>21</sub>H<sub>29</sub>N<sub>5</sub>S (383.6)

### 3.15. N-[3-[4-(3-aminopropyl)-1-piperazinyl]propyl]-N-thieno[3,2-c]chinolin-4-ylamin-tetraperchlorat (12)

0.12 g (0.3 mmol) **12**-Base werden in 20 ml EtOH abs. gelöst und 1 ml HClO<sub>4</sub> 70% zugefroren. Die entstehende Fällung wird durch Zusatz von 60 ml Et<sub>2</sub>O intensiviert und danach der Niederschlag abgesaugt. Ausbeute: 0.13 g (55.2%). Gelbe Kristalle, Schmp.: 199 °C (EtOH). IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3431 (NH), 1648, 1613 (C=N, C=C). UV (MeOH):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 236 nm (4.43), 249 (4.57), 284 (3.80), 329 (3.84), 345 (3.89). <sup>1</sup>H NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO):  $\delta$  (ppm) = 1.86–1.92 (m, 2H, 2'-H), 2.15 (s, 2H, 2-H), 2.88 (t, J = 7.2 Hz, 2H, 3'-H), 3.03 (s, 2H, 1'-H), 3.23–3.29 (m, 2H, 3-H), 3.33–3.48 (m, 8H, H<sub>Piperazin</sub>), 3.78 (t, J = 7.2 Hz, 2H, 1-H), 3.95–5.07 (s<sub>br.</sub>, 3H, NH<sub>3</sub>), 7.60 (t, J = 7.6 Hz, 1H, 7''-H), 7.69 (s, 2H, NH<sub>Piperazin</sub>), 7.78 (t, J = 7.6 Hz, 1H, 8''-H), 8.07 (d, J = 7.6 Hz, 1H, 6''-H), 8.10 (d, J = 5.6 Hz, 1H, 3''-H), 8.12 (d, J = 5.6 Hz, 1H, 2''-H), 8.14 (d, J = 7.6 Hz, 1H, 9''-H), 9.67 (s, 1H, NH), 12.47 (s, 1H, N<sup>5''</sup>-H). <sup>13</sup>C NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO) + DEPT:  $\delta$  (ppm) = 22.17 (C-2'), 22.84 (C-2), 36.55 (C-1'), 39.49 (C-3), 42.18 (C-Piperazin), 44.00 (C-3'), 53.46 (C-1), 117.73 (C-5a''), 118.73 (C-6''), 123.23 (C-3a''), 123.62 (C-7''), 123.86 (C-9''), 125.88 (C-3''), 129.79 (C-2''), 130.85 (C-8''), 133.08 (C-9a''), 147.13 (C-

9b''), 148.72 (C-4''). MS (ESI): m/z (%) = 384 [M+H]<sup>+</sup> (100). HPLC: t<sub>s</sub> = 2.80 min (FM: NEt<sub>3</sub> · HCOOH/MeOH 50:50; t<sub>m</sub> = 1.08). C<sub>21</sub>H<sub>33</sub>Cl<sub>4</sub>N<sub>5</sub>O<sub>16</sub>S (785.4)

### 3.16. N',N'-Bis(thieno[2,3-c]chinolin-4-yl)butan-1,4-diamin (14-Base)

Darstellung aus **13**, wie bei 3.10. beschrieben. Reinigung durch FC (Eluent: EtOAc/Petroläther/HNEt<sub>2</sub> 16:8:1). Ausbeute: 0.31 g (34.1%). Gelbe Kristalle, Schmp.: 200 °C (EtOH). IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3411 (NH), 1563, 1525 (C=N, C=C). UV (MeOH):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 237 nm (4.99), 249 (4.70), 336 (4.22), 348 (4.18). <sup>1</sup>H NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO):  $\delta$  (ppm) = 1.84 (s, 4H, 2-H, 3-H), 3.68 (d, J = 5.4 Hz, 4H, 1-H, 4-H), 7.21 (t, J = 5.4 Hz, 2H, N<sup>1</sup>-H, N<sup>4</sup>-H), 7.26 (dt, J = 1.2 Hz, J = 7.5 Hz, 2H, 7'-H, 7''-H), 7.47 (dt, J = 1.2 Hz, J = 7.5 Hz, 2H, 8'-H, 8''-H), 7.67 (dd, J = 1.2 Hz, J = 7.5 Hz, 2H, 9'-H, 9''-H), 8.04 (d, J = 5.3 Hz, 2H, 2'-H, 2''-H), 8.11 (d, J = 5.3 Hz, 2H, 1'-H, 1''-H), 8.21 (dd, J = 1.2 Hz, J = 7.5 Hz, 2H, 6'-H, 6''-H). <sup>13</sup>C NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO) + DEPT:  $\delta$  (ppm) = 26.72 (C-2, C-3), 40.43 (C-1, C-4), 120.18 (C-5a', C-5a''), 121.42 (C-8', C-8''), 122.70 (C-7', C-7''), 122.91 (C-3a', C-3a''), 123.38 (C-2', C-2''), 126.06 (C-6', C-6''), 127.76 (C-9', C-9''), 130.27 (C-1', C-1''), 142.31 (C-9a', C-9a''), 145.33 (C-9b', C-9b''), 151.15 (C-4', C-4''). MS (EI): m/z (%) = 454 [M]<sup>++</sup> (6), 254 (100). HPLC: t<sub>s</sub> = 3.68 min (FM: NEt<sub>3</sub> · HCOOH/MeOH 50:50; t<sub>m</sub> = 1.07). C<sub>26</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>S<sub>2</sub> (454.6)

### 3.17. N',N'-Bis(thieno[2,3-c]chinolin-4-yl)butan-1,4-diamin-dihydrochlorid (14)

0.16 g (0.35 mmol) **14**-Base werden in 40 ml DMF gelöst und HCl durchgeleitet. Der entstandene Niederschlag wird abgesaugt. Ausbeute: 0.13 g (70.5%). Fast farblose Kristalle, Schmp.: ab 261 °C (EtOH). IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3392 (NH), 1643, 1613 (C=N, C=C). UV (MeOH):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 231 nm (4.90), 236 (4.89), 265 (4.28), 331 (4.26), 344 (4.24). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub> + F<sub>3</sub>CCOOH):  $\delta$  (ppm) = 2.13 (s, 4H, 2-H, 3-H), 3.95 (s, 4H, 1-H, 4-H), 7.58 (t, J = 7.5 Hz, 2H, 7'-H, 7''-H), 7.72 (t, J = 7.5 Hz, 2H, 8'-H, 8''-H), 7.87 (s, 2H, N<sup>1</sup>-H, N<sup>4</sup>-H), 7.95 (d, J = 5.2 Hz, 2H, 2'-H, 2''-H), 8.03 (s, 2H, 9'-H, 9''-H), 8.12 (d, J = 7.5 Hz, 2H, 6'-H, 6''-H), 8.14 (d, J = 5.2 Hz, 2H, 1'-H, 1''-H), 11.25 (s, 2H, N<sup>5'</sup>-H, N<sup>5''</sup>-H). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub> + F<sub>3</sub>CCOOH) + DEPT:  $\delta$  (ppm) = 25.43 (C-2, C-3), 43.02 (C-1, C-4), 109.00 (C-5a', C-5a''), 111.96 (C-3a', C-3a''), 118.59 (C-8', C-8''), 121.00 (C-9a', C-9a''), 123.13 (C-7', C-7''), 124.17 (C-2', C-2''), 126.54 (C-6', C-6''), 131.31 (C-9', C-9''), 133.74 (C-9b', C-9b''), 137.36 (C-1', C-1''), 149.00 (C-4', C-4''). MS (EI): m/z (%) = 454 [M]<sup>++</sup> (6), 254 (100). HPLC: t<sub>s</sub> = 3.68 min (FM: NEt<sub>3</sub> · HCOOH/MeOH 50:50; t<sub>m</sub> = 1.07). C<sub>26</sub>H<sub>24</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>S<sub>2</sub> (527.5)

### 3.18. 1,4-Bis((3-thieno[2,3-c]chinolin-4-yl)aminopropyl)piperazin (15-Base)

Darstellung aus **13**, wie bei 3.12. beschrieben. Die Reinigung durch FC (Eluent: MeOH/EtOAc/HNEt<sub>2</sub> 14:2:1). Als 1. Fraktion wird **15**-Base, als 2. Fraktion **16**-Base eluiert. Ausbeute: 0.14 g (41.2%). Gelbe Kristalle, Schmp.: 225 °C (EtOH). IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3434 (NH), 1570, 1519 (C=N, C=C). UV (MeOH):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 237 nm (4.89), 247 (4.62), 274 (4.14), 295 (3.71), 336 (4.11), 347 (4.07). <sup>1</sup>H NMR ([D<sub>5</sub>]Pyridin):  $\delta$  (ppm) = 1.27 (s, 4H, 2-H, 2'-H), 2.00 (t, J = 6.5 Hz, 4H, 1-H, 1'-H), 2.52–2.59 (m, 8H, H<sub>Piperazin</sub>), 4.05 (q, J = 6.5 Hz, 4H, 3-H, 3'-H), 7.39 (dt, J = 1.2 Hz, J = 7.8 Hz, 2H, 7''-H, 7'''-H), 7.66 (dt, J = 1.2 Hz, J = 7.8 Hz, 2H, 8''-H, 8'''-H), 7.82 (t, J = 5.0 Hz, 2H, NH), 7.89 (d, J = 5.3 Hz, 2H, 2''-H, 2'''-H), 8.08 (d, J = 5.3 Hz, 2H, 1''-H, 1'''-H), 8.24 (dd, J = 1.2 Hz, J = 7.8 Hz, 2H, 9''-H, 9'''-H), 8.29 (dd, J = 1.2 Hz, J = 7.8 Hz, 2H, 6''-H, 6'''-H). <sup>13</sup>C NMR ([D<sub>5</sub>]Pyridin) + DEPT:  $\delta$  (ppm) = 26.38 (C-2, C-2'), 41.64 (C-1, C-1'), 53.89 (C-Piperazin), 57.89 (C-3, C-3'), 121.64 (C-5a'', C-5a'''), 122.49 (C-8'', C-8'''), 123.37 (C-7'', C-7'''), 124.24 (C-2'', C-2'''), 124.35 (C-3a'', C-3a'''), 127.56 (C-6'', C-6'''), 128.64 (C-9'', C-9'''), 129.78 (C-1'', C-1'''), 143.42 (C-9a'', C-9a'''), 147.04 (C-9b'', C-9b'''), 152.41 (C-4'', C-4'''). MS (EI): m/z (%) = 566 [M]<sup>++</sup> (7), 270 (100). HPLC: t<sub>s</sub> = 3.07 min (FM: NEt<sub>3</sub> · HCOOH/MeOH 50:50; t<sub>m</sub> = 1.07). C<sub>32</sub>H<sub>34</sub>N<sub>6</sub>S<sub>2</sub> (566.8)

### 3.19. 1,4-Bis((3-thieno[2,3-c]chinolin-4-yl)aminopropyl)piperazin-tetrahydrochlorid (15)

0.14 g (0.25 mmol) **15**-Base werden in 50 ml Nitrobenzol: Benzol (1:1) gelöst und HCl-Gas durchgeleitet. Der entstandene Niederschlag wird abgesaugt. Ausbeute: 0.13 g (73.0%). Gelbe Kristalle, Schmp.: 246 °C (EtOH). IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  (cm<sup>-1</sup>) = 3421 (NH), 1647, 1616 (C=N, C=C). UV (MeOH):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 230 nm (4.75), 244 (4.56), 265 (4.16), 285 (3.98), 329 (4.17), 344 (4.14). <sup>1</sup>H NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO):  $\delta$  (ppm) = 2.26 (s, 4H, 2-H, 2'-H), 3.42 (s, 4H, 1-H, 1'-H), 3.62 (s, 8H, H<sub>Piperazin</sub>), 3.98 (s, 4H, 3-H, 3'-H), 7.58 (t, J = 7.7 Hz, 2H, 7''-H, 7'''-H), 7.74 (t, J = 7.7 Hz, 2H, 8''-H, 8'''-H), 8.29 (d, J = 5.0 Hz, 2H, 2''-H, 2'''-H), 8.39 (d, J = 7.7 Hz, 2H, 9''-H, 9'''-H), 8.43 (d, J = 7.7 Hz, 2H, 6''-H, 6'''-H), 8.52 (d, J = 5.0 Hz, 2H, 1''-H, 1'''-H), 10.00 (s, 2H, NH), 12.06 (s, 2H, NH<sub>Piperazin</sub>), 13.51 (s, 2H, N<sup>5''</sup>-H, N<sup>5'''</sup>-H). <sup>13</sup>C NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO) + DEPT:  $\delta$

(ppm) = 22.76 (C-2, C-2'), 40.18 (C-1, C-1', C-Piperazin), 48.16 (C-3, C-3'), 118.26 (C-5a'', C-5a'''), 118.88 (C-8'', C-8'''), 121.75 (C-3a'', C-3a'''), 123.46 (C-7'', C-7'''), 124.35 (C-2'', C-2'''), 124.59 (C-9a'', C-9a'''), 125.14 (C-6'', C-6'''), 130.00 (C-9'', C-9'''), 137.83 (C-1'', C-1'''), 144.43 (C-9b'', C-9b'''), 148.52 (C-4'', C-4'''). MS (EI):  $m/z$  (%) = 566  $[M]^{++}$  (<1), 270 (100). HPLC:  $t_s$  = 3.69 min (FM:  $NEt_3 \cdot HCOOH/MeOH$  50:50;  $t_m$  = 1.07).  $C_{32}H_{38}Cl_4N_6S_2$  (712.6)

### 3.20. N-[3-[4-(3-Aminopropyl)-1-piperazinyl]propyl]-N-thieno[2,3-c]chinoxalin-4-ylamin (16-Base)

Darstellung: **3.18**. Ausbeute: 0.08 g (34.8%). Gelbes Öl. IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  ( $cm^{-1}$ ) = 3292 (NH<sub>2</sub>, NH), 1661, 1611 (C=N, C=C). UV (MeOH):  $\lambda_{max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 237 (4.61), 248 (4.32), 275 (3.83), 285 (3.62), 334 (3.82). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (ppm) = 1.65–1.72 (m, 2 H, 2'-H), 1.88–1.94 (m, 2 H, 2-H), 2.35 (s, 2 H, NH<sub>2</sub>), 2.49 (t, J = 6.8 Hz, 2 H, 3'-H), 2.60 (t, J = 6.8 Hz, 8 H, H<sub>Piperazin</sub>), 2.65 (s, 2 H, 1'-H), 2.76 (t, J = 6.8 Hz, 2 H, 3-H), 3.84 (t, J = 6.8 Hz, 2 H, 1-H), 6.69 (s, 1 H, NH), 7.30 (dt, J = 1.2 Hz, J = 7.5 Hz, 1 H, 7''-H), 7.52 (dt, J = 1.2 Hz, J = 7.5 Hz, 1 H, 8''-H), 7.66 (d, J = 5.3 Hz, 1 H, 2''-H), 7.85 (dd, J = 1.2 Hz, J = 7.5 Hz, 1 H, 9''-H), 7.87 (d, J = 5.3 Hz, 1 H, 1''-H), 8.05 (dd, J = 1.2 Hz, J = 7.5 Hz, 1 H, 6''-H). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) + DEPT:  $\delta$  (ppm) = 24.58 (C-2'), 29.73 (C-2), 40.86 (C-1'), 42.41 (C-3), 53.15, 53.54 (C-Piperazin), 56.63 (C-3'), 58.64 (C-1), 120.69 (C-5a''), 122.00 (C-8''), 122.62 (C-7''), 122.97 (C-2''), 123.25 (C-3a''), 126.65 (C-6''), 127.91 (C-9''), 127.96 (C-1''), 142.52 (C-9a''), 145.81 (C-9b''), 151.47 (C-4''). MS (EI):  $m/z$  (%) = 383  $[M]^{++}$  (2), 270 (100). HPLC:  $t_s$  = 1.91 min (FM: H<sub>2</sub>O/MeCN 30:70;  $t_m$  = 1.00).  $C_{21}H_{29}N_5S$  (383.6)

### 3.21. N-[3-[4-(3-Aminopropyl)-1-piperazinyl]propyl]-N-thieno[2,3-c]chinoxalin-4-ylamin-tetraperchlorat (16)

0.04 g (0.1 mmol) **16-Base** werden in 15 ml EtOH abs. gelöst und 0.5 ml 70%ige HClO<sub>4</sub> zugetropft. Nach Zusatz von 35 ml Et<sub>2</sub>O wird der gebildete Niederschlag abgesaugt. Ausbeute: 0.03 g (50.6%). Gelbe Kristalle, Schmp.: 193 °C (EtOH). IR (KBr):  $\tilde{\nu}$  ( $cm^{-1}$ ) = 3429 (NH), 1644, 1615 (C=N, C=C). UV (MeOH):  $\lambda_{max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 237 nm (4.71), 247 (4.45), 285 (3.75), 296 (3.54), 336 (3.89), 348 (3.89). <sup>1</sup>H NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO):  $\delta$  (ppm) = 1.85–1.88 (m, 2 H, 2'-H), 2.13 (s, 2 H, 2-H), 2.84–2.88 (m, 2 H, 3'-H), 3.03 (s, 2 H, 1'-H), 3.21 (s, 2 H, 3-H), 3.57 (s, 8 H, H<sub>Piperazin</sub>), 3.78–3.80 (m, 2 H, 1-H), 7.62 (t, J = 7.6 Hz, 1 H, 7''-H), 7.68 (s, 2 H, NH<sub>Piperazin</sub>), 7.80 (t, J = 7.6 Hz, 1 H, 8''-H), 8.08 (d, J = 7.6 Hz, 1 H, 9''-H), 8.34 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 2''-H), 8.45 (d, J = 7.6 Hz, 1 H, 6''-H), 8.54 (d, J = 5.2 Hz, 1 H, 1''-H), 9.65 (s, 1 H, NH), 12.49 (s, 1 H, N<sup>5+</sup>-H). Signale für die NH<sub>3</sub>-Gruppe nicht detektierbar. <sup>13</sup>C NMR ([D<sub>6</sub>]DMSO) + DEPT:  $\delta$  (ppm) = 16.00 (C-2'), 22.00 (C-2), 36.00 (C-1'), 39.70 (C-Piperazin), 52.00 (C-3), 53.00 (C-3'), 59.50 (C-1), 118.31 (C-5a''), 118.59 (C-8''), 121.71 (C-3a''), 123.65 (C-7''), 124.64 (C-2''), 125.46 (C-6''), 130.49 (C-9''), 134.76 (C-9a''), 138.06 (C-1''), 144.61 (C-9b''), 148.75 (C-4''). MS (ESI):  $m/z$  (%) = 384.1  $[M+H]^+$  (73), 240.9 (100). HPLC:  $t_s$  = 2.45 min (FM:  $NEt_3 \cdot HCOOH/MeOH$  50:50;  $t_m$  = 1.07).  $C_{21}H_{33}Cl_4N_5O_{16}S$  (785.4)

### 3.22. 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% O<sub>2</sub>, 3% CO<sub>2</sub> und 92% N<sub>2</sub> bei 37 °C gehalten.

### 3.23. Bestimmung der Antimalaria-Aktivität in vitro

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. Für den mikroskopischen Test werden die Platten über 72 h inkubiert, und anschließend die Parasitämie an Giemsa-gefärbten Ausstrichen bestimmt. Für

den <sup>3</sup>H-Inkorporationstest werden die Platten zunächst für 48 h inkubiert. Dann werden zu jeder Vertiefung 0.8  $\mu$ Ci [<sup>3</sup>H]Hypoxanthin in 50  $\mu$ l Medium zugesetzt, und die Platten für weitere 24 h inkubiert. Die Parasiten werden durch Filtration über Glasfaserfilter mit einer Zellernteapparat (Micromate 196, Packard) geerntet. Die inkorporierte Radioaktivität wird mit einem  $\beta$ -Zähler (Matrix 9600, Packard) gemessen.

### 3.24. Bestimmung der Antimalaria-Aktivität in vivo

Die Bestimmung der *In-vivo*-Antimalaria-Aktivität erfolgt an *P. vinckei*-infizierten NMRI-Mäusen entsprechend einem modifizierten Protokoll nach Peters (1980). Am Tag 0 werden die Mäuse durch i.p.-Injektion von ca.  $5 \times 10^7$  infizierten Erythrozyten aus dem Blut einer Donor-Maus infiziert. Die Behandlung erfolgt an den Tagen 1, 2 und 3 durch i.p.-Injektion der Testsubstanz in einem Volumen von jeweils 0.2 ml. Die Substanzen werden mit einer Konzentration von 150 mg/ml in DMSO suspendiert und für die Applikation entsprechend mit H<sub>2</sub>O verdünnt. Pro Dosisgruppe werden 3 bis 4 Mäuse verwendet. Am Tag 4 wird die Parasitämie an Giemsa-gefärbten Blutaussstrichen ausgezählt.

### 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.
- Burckhalter JH, Tendick FH, Jones EM, Jones PA, Holcomb WF, Rawlins AL (1948) Amino-alkylphenols as antimalarials. II. (Heterocyclic-amino)- $\alpha$ -amino-*o*-cresols. The synthesis of camoquin. *J Am Chem Soc* 70: 1363–1373.
- 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, Gabriel B, Froberg P, Wobst I, Drutkowski G, Wiesner J, Jomaa H (2004a) Thieno[2,3-c]chinoxaline – Synthese und biologische Prüfung. *Pharmazie* 59: 439–442.
- Görlitzer K, Kramer C, Meyer H, Walter RD, Jomaa H, Wiesner J (2004b) Pyrido[3,2-b]indol-4-yl-amine – Synthese und Prüfung auf Wirksamkeit gegen Malaria. *Pharmazie* 59: 243–250.
- Gronowitz S, Timari G (1990) Some reactions of thieno-fused quinoline N-oxides. *J Heterocycl Chem* 27: 1501–1504.
- Guillon J, Grellier P, Labaied M, Sonnet P, Léger J-M, Déprez-Poulain R, Forfar-Bares I, Dallemagne P, Lemaitre N, Péhourcq F, Rochette J, Sergheraert C, Jarry C (2004) Synthesis, antimalarial activity, and molecular modeling of new pyrrolo[1,2-a]quinoxalines, bispyrrolo[1,2-a]quinoxalines, bispyrido[3,2-e]pyrrolo[1,2-a]pyrazines, and bispyrrolo[1,2-a]thieno[3,2-e]pyrazines. *J Med Chem* 47: 1997–2009.
- Miyaura N, Suzuki A (1995) Palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organoboron compounds. *Chem Rev* 95: 2457–2483.
- Peters W, in Kreier JP (1980) Malaria, vol. 1, p. 160–161.
- Satonaka H (1983) The substituent effects in thiophene compounds. II. Proton NMR and IR studies in substituted methyl 3-thiophenecarboxylates. *Bull Chem Soc Jpn* 56: 3337–3342.
- Stout DM, Matier WL, Barcelon-Yang C, Reynolds RD, Brown BS (1983) Synthesis and antiarrhythmic and parasympatholytic properties of substituted phenols. 1. Heteroarylamines derivatives. *J Med Chem* 26: 808–813.
- Takahashi M, Kuroda T, Ogiku T, Ohmizu H, Kondo K, Iwasaki T (1993) A facile synthesis of highly functionalized unsymmetrical heterobiaryls utilizing the intramolecular Ullmann coupling reaction directed by salicyl alcohol as a template. *Heterocycles* 36: 1867–1882.
- Trager W, Jensen JB (1976) Human malaria parasites in continuous culture. *Science* 193: 673–675.
- Vennerstrom JL, Ellis WY, Ager Jr. AL, Andersen SL, Gerena L, Milhous WK (1992) Bisquinolines. 1. *N,N*-Bis(7-chloroquinolin-4-yl)alkanediamines with potential against chloroquine-resistant malaria. *J Med Chem* 35: 2129–2134.
- Wiesner J, Kettler K, Jomaa H, Schlitzer M (2002) Structure-activity relationships of novel anti-malarial agents. Part 3: *N*-(4-acylamino-3-benzoylphenyl)-4-propoxycinnamic acid amides. *Bioorg Med Chem Lett* 12: 543–545.