

Synthese und antiplasmodiale Evaluation neuer Arylaminoalkohol Analoga

Inaugural Dissertation

Zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Tanja Corinna Knaab

aus Krefeld

Düsseldorf, Juni 2018

aus dem Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf

Gedruckt mit der Genehmigung der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Prof. Dr. Thomas Kurz

Koreferent: Prof. Dr. Jörg Breitzkreutz

Tag der mündlichen Prüfung: 19.07.2018

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation eigenständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt habe und diese in der vorgelegten oder in ähnlicher Form noch bei keiner anderen Institution eingereicht habe. Bisher wurden von mir keine erfolglosen Promotionsversuche unternommen.

(Tanja Corinna Knaab)

Für die, die ich liebe

„Nur die Lüge ist zu einhundertprozent glaubhaft,
weil sie die Wirklichkeit nicht erklären, sondern
nur zu erzählen braucht, was wir hören wollen.“
(Carlos Ruiz Zafón, Das Spiel des Engels)

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von August 2014 bis Juni 2018 am Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Thomas Kurz. Herrn Kurz danke ich für die Überlassung dieses interessanten Themas und die offenen und konstruktiven Gespräche in den letzten Jahren.

Herrn Prof. Dr. Jörg Breitzkreutz möchte ich für seine Unterstützung und die Übernahme des Koreferats danken.

Für die Durchführung der biologischen Untersuchungen möchte ich Herrn PD Dr. Benjamin Mordmüller und Frau Dr. Jana Held vom Tropeninstitut der Eberhard-Karls-Universität Tübingen danken. Ebenso geht mein Dank an Herrn Dr. Sergio Wittlin vom Swiss Tropical Institute für die Durchführung der in vivo Untersuchungen.

Für die Aufnahme der NMR Spektren möchte ich mich bei Frau Beuer und Frau Rau bedanken, des Weiteren danke ich Herrn Thommes und Herrn Bürgel für die Aufnahme der Massenspektren. Bei Frau Gabriele Zerta vom Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie bedanke ich mich für die Aufnahme der Elementaranalysen.

Frau Beate Lungerich möchte ich besonders für ihr unermüdliches Engagement bei der Hilfestellung der Synthesen, sowie für alle Tätigkeiten im Arbeitskreis danken.

Bei Herrn Dr. Michael Leven möchte ich mich für seine Mühe und Geduld während der Einarbeitungszeit in dieses Thema bedanken, sowie für die angenehmen Gespräche außerhalb des Labors. Bei Marc und Yodi möchte ich mich besonders bedanken, ohne ihr Mitwirken wäre diese Arbeit nicht in diesem Maße entstanden. Bei allen Mitgliedern des Arbeitskreises Kurz bedanke ich mich für die freundschaftliche Atmosphäre, die Unterstützung, den gegenseitigen Gedankenaustausch und die schönen Momente außerhalb des Labors. Den ehemaligen Kollegen des Arbeitskreises, besonders Kathi, Claudia, Sarah und Ido danke ich für die wunderbaren ersten Jahre am Institut, aus denen tolle Freundschaften entstanden sind.

Bei Lars Stank möchte ich mich für die wertvolle Unterstützung während des Studiums und der Doktorandenzeit bedanken. Bei Björn Burckhardt bedanke ich mich für seine aufbauenden Worte und die hilfreiche Unterstützung bei einigen Datenauswertungen. Bei Michele Bonus möchte ich mich für die Berechnung der pK_a Werte, sowie für die stete Diskussionsbereitschaft bedanken.

Frau Aleksandra Zivkovic und Frau Alexandra Hamacher danke ich für ihre konstruktive Kritik und die ermutigenden Worte.

Bei Johanna möchte ich mich für ihre Unterstützung, das Zuhören und die lange, unersetzliche Freundschaft bedanken. Dina danke ich für ihre großherzige und liebevolle Freundschaft, für jedes Lächeln das den (Labor)Tag besser macht und das sie immer an mich geglaubt hat.

Abschließend möchte ich von Herzen meiner Familie danken. Sie war und ist immer für mich da, ich möchte mich für ihre grenzenlose Liebe und die einzigartige Unterstützung während meines Studiums und der Doktorandenzeit bedanken.

Abkürzungen**A**

A _{2A}	Adenosin-2A Rezeptor
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
abs.	absolut
ACN	Acetonitril
ACS	American Chemical Society
Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid
ACT	<i>Artemisinin-based combination therapy</i>
AgOAc	Silberacetat
ANKA	<i>Plasmodium berghei</i> strain
AS	Artesunat
ASMQ	Artesunat/Mefloquin-Kombination
ASAQ	Artesunat/Amodiaquin-Kombination
ATQ	Atovaquone
ATP	Adenosintriphosphat
AUC	Area Under the Curve

B

BCS	biopharmazeutisches Klassifizierungssystem
<i>br</i>	breit
Bsp	Beispiel

C

CCl ₄	Tetrachlorkohlenstoff
CQ	Chloroquin
cpKs	kalkulierte Säurekonstante

D

<i>d</i>	Duplett
<i>dd</i>	Duplett eines Dupletts
<i>dt</i>	Duplett eines Triplets
DCM	Dichlormethan
<i>dd</i>	Duplett eines Dupletts
DBPO	Dibenzoylperoxid
DC	Dünnschicht-chromatographie
DCM	Dichlormethan
DEA	Diethylamin
DEET	Diethyltoluamid
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid

DMSO-*d*₆

deuteriertes Dimethylsulfoxid

DNDi

Drugs for Neglected Disease

DTG

Deutsche Gesellschaft für Tropenmedizin

E

EDTA	Ethylendiamintetra-essigsäure
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EMA	European Medicine Agency
EPI	Expanded Program on Immunisation
ER	early ringform
ES	early sporozoite (früher Sporozoit)
ET	early trophozoite (früher Trophozoit)
ESI	Elektronenspray-ionisation
<i>et al.</i>	<i>et alii</i>
EtOH	Ethanol
Et ₃ N	Triethylamin

F

FDA	Food and Drug Administration
FeCl ₃	Eisen(III)chlorid
FM	free merozoites
Fe(III)PPIX	ferri protoporphyrin

G

G6PD	Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase
GABA	γ-Aminobuttersäure
GIT	Gastro-Intestinal-Trakt
Glu	Glutamat

H

HBSS	Hank's Balanced Salt Solution
H[CH ₂ O] _n OH	Paraformaldehyd
HCl	Hydrochlorid
HepG2	hepatocellular carcinoma G2
hERG	human Ether-a-Go-Go Related Gene
HOAc	Essigsäure

HPLC	High Pressure Liquid Chromatography	NDA	New Drug Application
HRMS	High Resolution Mass Spectroscopy	N ₂ H ₄ ·H ₂ O	Hydrazin Monohydrat
HRP-2	Histidin-Rich Protein 2	NHPI	N-Hydroxyphthalimid
5-HT ₃	5-Hydroxytryptamin-3-Rezeptor	NMR	Nuclear Magnetic Resonance
H ₂ SO ₄	Schwefelsäure	NMRI	Naval Medical Research Institute
HWZ	Halbwertszeit	NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
I		P	
IC ₅₀	Konzentration, bei der eine 50 % Inhibition besteht	p.a.	pro analysi
ICH	International Conference on Harmonisation	PATH	Program for Appropriate Technology in Health
Ile	Isoleucin	<i>Pb</i>	<i>Plasmodium berghei</i>
K		PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
KG	Körpergewicht	<i>pfert</i>	<i>Plasmodium falciparum</i> chloroquine resistance transporter
KOtBu	Kalium- <i>tert</i> -butanolat	<i>Pf</i> EEF	<i>Plasmodium falciparum</i> exo-erythrocytic form
L		<i>Pf</i> EMP1	<i>Plasmodium falciparum</i> Erythrocyte Membrane Protein 1
LR	late ringform (später Ringform)	<i>Pf</i> ESG	<i>Plasmodium falciparum</i> earl stage gametocyte
LS	late sporozoite (später Sporozoit)	<i>Pf</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>
LT	late trophozoite (später Trophozoit)	Phe	Phenylalanin
M		<i>P. knowlesi</i>	<i>Plasmodium knowlesi</i>
<i>m</i>	Multipllett	<i>Pfmdr</i>	<i>Plasmodium falciparum</i> multi drug resistance
MDA	Mass Drug Administration	<i>Pfnhe</i>	<i>Plasmodium falciparum</i> Na ⁺ /H ⁺ exchanger
MeOH	Methanol	<i>P. ovale</i>	<i>Plasmodium ovale</i>
Meth.	Methode	<i>Pf</i> RSG	<i>Plasmodium falciparum</i> ring stage gametocyte
MFQ	Mefloquin	PPA	Polyphosphorsäure
MMV	Medicine for Malaria Venture	ppm	past per million
MÜZ	mittlere Überlebenszeit	PR	Parasitämiereduktion
MVI	Malaria Vaccine Initiative	<i>P. vivax</i>	<i>Plasmodium vivax</i>
MVK	Methylvinylketon	R	
MVIP	Malaria Vaccine Implementation Program	RPMI	Rosewell Park Memorial Institute
MHz	Mega Hertz	RT	Raumtemperatur
N		RoF	Rule of Five
n.b.	nicht bestimmt	S	
<i>n</i> -Buli	<i>n</i> -Butyllithium	<i>s</i>	Singulett
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid	SI	Selektivitätsindex

SMC	Seasonal Malaria Chemoprevention
Smp	Schmelzpunkt
<i>spp</i>	species pluralis
T	
<i>t</i>	Triplett
TBHP	<i>tert</i> -Butyl-hydroperoxid
TCP	Target Candidate Profiles
TDR	Programme for Research and Training in Tropical Diseases
techn.	Technisch
THF	Tetrahydrofuran
TFPD	Trifluorpentandion
TPP	Target Product Profiles
<i>t_R</i>	Retentionszeit
Tyr	Tyrosin
U	
U	Uninfected red blood cells
W	
WHO	World Health Organization
WRAIR	Walter Reed Army Institute of Research
WBB	Wasserstoffbrücken- bindung
Z	
ZNS	Zentralnervensystem
ZnCl	Zink(II)chlorid

Beschriftungen

Mit römischen Zahlen gekennzeichnete Verbindungen sind veröffentlichte Leitverbindungen oder Verbindungen, die vom Autor dieser Arbeit nicht synthetisiert, isoliert bzw. charakterisiert wurden. Mit arabischen Zahlen gekennzeichnete Verbindungen wurden vom Autor dieser Arbeit synthetisiert und vollständig charakterisiert, wenn nicht anders angegeben.

Publikation

Leven, M.*; **Knaab, T. C.***; Held, J.; Duffy, S.; Meister, S.; Fischli, C.; Meitzner, D.; Lehmann, U.; Lungerich, B.; Kuna, K.; Stahlke, P.; Delves, M. J.; Buchholz, M.; Winzeler, E. A.; Avery, V. M.; Mordmüller, B.; Wittlin, S.; Kurz, T. 3-Hydroxy-*N'*-arylidenepropanehydrazonamides with halo-substituted phenanthrene scaffolds cure *P. berghei* infected mice when administered perorally. *J. Med. Chem.* **2017**, 60 (14), 6036–6044. (* geteilte Erstautorenschaft)

Inhalt

1 Einleitung.....	1
1.1 Der Malaria-Erreger: <i>Plasmodium</i> spp.....	2
1.1.1 Arten	2
1.1.2 Lebenszyklus	2
1.2 Malaria.....	4
1.2.1 Einteilung der Malariaerkrankung.....	4
1.2.2 Malaria Prophylaxe.....	6
1.2.3 Diagnose und Therapie der Malaria	8
1.2.4 Malaria – Ist eine effektive Impfung möglich?	10
1.2.5 Resistenzen	12
1.3 Entwicklung neuer Malariatherapeutika.....	13
1.3.1 Forschung und Entwicklung.....	13
1.3.2 Finanzierung – Die Unentbehrlichkeit von Non-Profit-Organisationen.....	18
1.4 Arylaminoalkohole – Arzneistoffe und Wirkmechanismus	19
1.4.1 Chinin, Mefloquin, Halofantrin, Lumefantrin	19
1.4.2 Neue Arylaminoalkohol Analoga	21
1.4.3 Die Hämazoin-Inhibitions-Hypothese	22
1.4.4 Die Besonderheit des Mefloquins.....	23
1.5 3-Hydroxy- <i>N'</i> -arylpropanhydrazonamide.....	25
1.6 Ziele der Arbeit.....	28
2 Darstellung der Edukte 1–23	34
2.1 Darstellung der Chinolinderivate 1–5	34
2.2 Darstellung der aromatischen Aldehyde 6–10	38
2.3 Darstellung der 3-Hydroxypropanitrile 13–23	43
3 Hydrazonamide mit Modifikationen in Region A und C	45
3.1 Hydrazonamide mit Modifikationen in Region A.....	45
3.1.1 Literaturübersicht und Syntheseplanung	45
3.1.2 Darstellung der Hydrazonamide 26–36 mit Modifikationen in Region A	48
3.2 Hydrazonamide mit Modifikationen in Region C	53
4 Amidine, Amidoxime, 1,2,4-Triazine: Verbindungen mit Modifikationen in Region B.....	57
4.1 Region B Modifikationen: Amidinderivate.....	57
4.1.1 Literaturübersicht.....	57

4.1.2 Synthese von Amidinen aus Imidomethylester-Hydrochloriden und Aminen	59
4.1.3 Direkte Synthese von <i>N'</i> -Arylamidinen aus Nitrilen und Anilinderivaten	62
4.2 Region B Modifikationen: Amidoximderivate	66
4.2.1 Literaturübersicht	66
4.2.2 Synthese von Amidoximderivaten aus Imidat-Hydrochloriden und O-benzylsubstituierten Hydroxylaminen	67
4.3 Region B Modifikationen: 1,2,4-Triazine	69
4.3.1 Literaturübersicht	69
4.3.2 Synthese der 1,2,4-Triazine 71 und 72	71
5 Nebenprodukte aus den Kapiteln 3 und 4	73
5.1 Dehydratisierte Nebenprodukte	73
5.2 Dimerisierte Nebenprodukte	76
6 Physikochemische und biologische Evaluation	77
6.1 <i>Drug-likeness</i> Evaluation und Stabilitätsuntersuchung	77
6.1.1 Lipinski's Rule of Five	77
6.1.2 Stabilität der Verbindungen 31 und 54	78
6.2 Biologische Evaluation der antiplasmodialen <i>in vitro</i> Aktivität	82
6.2.1 Biologische Evaluation der Hydrazonamide 26–36	83
6.2.2 Biologische Evaluation der Hydrazonamide 37–45	87
6.2.3 Biologische Evaluation der Amidine 47–56	89
6.2.4 Biologische Evaluation der Amidine 57–65	92
6.2.5 Biologische Evaluation der Amidoxime 68–70	94
6.2.6 Biologische Evaluation der Verbindungen 71 und 72	95
6.2.7 Biologische Evaluation der Nebenprodukte 73–77	96
6.2.8 Biologische Evaluation der Nebenprodukte 78, 80 und 81	97
6.3 Korrelation der <i>in vitro</i> Daten und der Molekülstruktur	98
6.4 Biologische Evaluation der antiplasmodialen <i>in vivo</i> Aktivität	100
7 Zusammenfassung	103
8 Summary	109
9 Experimenteller Teil	113
9.1 Verwendete Chemikalien und Geräte	113
9.2 Allgemeine Arbeitsvorschriften und analytische Daten	116
9.2.1 Allgemeine Arbeitsvorschriften zur Herstellung der Edukte 1–25, 46, 66 und 67	116
9.2.2 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung der Hydrazonamide 26–36	134

9.2.3 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung der Hydrazoneamide 37–45..	141
9.2.4 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung der Amidine 47–56	147
9.2.5 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung der Amidine 57–65	154
9.2.6 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung der Amidoxime 68–70	160
9.2.7 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung der 1,2,4-Triazine 71 und 72	162
9.2.8 Analytische Daten der Nebenprodukte 73–81	163
9.3 Reaktionskontrolle, Kalibrierung und Stabilitätsmessungen	168
9.4 Untersuchung der biologischen Aktivität	169
9.4.1 Untersuchung der antiplasmodialen <i>in vitro</i> Aktivität gegenüber den asexuellen Blutstadien von <i>Plasmodium falciparum</i>	169
9.4.2 Untersuchung der Zytotoxizität gegen HepG ₂ Zellen	170
9.4.3 Untersuchung der antiplasmodialen <i>in vivo</i> Aktivität mittels <i>P. berghei</i> Mausmodell	170
10 Literaturverzeichnis	172
11 Anhang	192
11.1 Abbildungsverzeichnis	192
11.2 Schemataverzeichnis	193
11.3 Tabellenverzeichnis	194

1 Einleitung

An Malaria, einer parasitären Erkrankung, erkrankten im Jahr 2016 weltweit 216 Millionen Menschen. Dies sind ca. 3 % der Weltbevölkerung. Insgesamt starben 2016 mehr als 440 000 Menschen an den Folgen der Infektion, davon waren die meisten Kinder.¹

Das Krankheitsbild Malaria wird durch Parasiten der Gattung *Plasmodium*, einem einzelligen Eukaryonten, ausgelöst, welcher durch einen Mückenstich auf den Menschen übertragen wird. Infektiös für den Menschen sind fünf Arten: *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* und *P. knowlesi*. 75 % der Malaria Erkrankungen, die in Deutschland diagnostiziert werden, sind auf den Erreger *Plasmodium falciparum* zurückzuführen und werden z.B. durch Urlaubs- oder Geschäftsreisen eingeschleppt.²

Die Übertragung der Parasiten auf den Menschen erfolgt während der Blutmahlzeit der weiblichen *Anopheles* Mücke. Dies erklärt auch die Verbreitung der Erreger, denn der Vektor, die *Anopheles* Mücke, kommt hauptsächlich in tropischen und subtropischen Gebieten vor. Die meisten Malariafälle treten in Afrika (90 %) und Süd-Ost-Asien (7 %) auf (Abbildung 1). Die geographische Verbreitung dieser Infektionskrankheit wird jedoch durch die Klimaveränderung beeinflusst. So konnte eine erhöhte Inzidenz der Malaria mit einem Temperaturanstieg in den Hochlagen Südamerikas in Verbindung gebracht werden.³ Zudem hat bereits eine Übertragung von Plasmodiumarten auf Vögel in Alaska stattgefunden.⁴

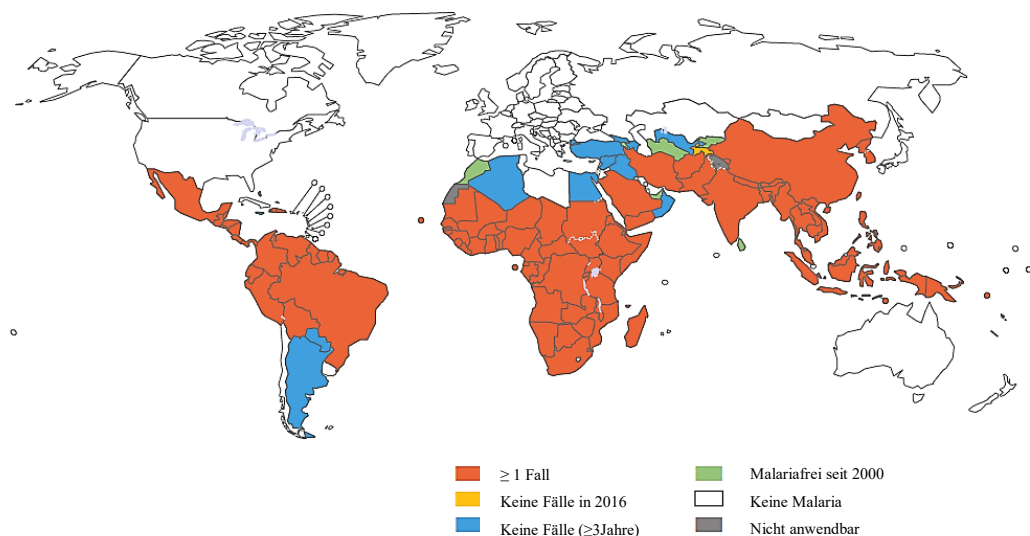


Abbildung 1. Aufgetretene Malariafälle im Jahr 2016, modifiziert nach WHO.¹

1.1 Der Malaria-Erreger: *Plasmodium* spp.

1.1.1 Arten

Plasmodien sind einzellige Parasiten, die den Eukaryonten zugeordnet werden. Sie durchlaufen einen Generationswechsel, bei dem sich geschlechtliche und ungeschlechtliche Formen abwechseln. Die ungeschlechtliche Vermehrung findet in menschlichen Zellen (Leberzellen, Erythrozyten) statt, während die geschlechtlichen Formen in der Mücke heranreifen. Die Gattung *Plasmodium* besitzt mehr als 200 Arten, von denen einige humanpathogen sind, andere Vögel (*P. gallinaceum*, *P. praecox*), Affen (*P. knowlesi*, *P. cynomolgi*) oder Nagetiere (*P. berghei*) befallen. Die Plasmodienarten *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* und *P. knowlesi* sind humanpathogen. *Plasmodium knowlesi* stellt dabei eine Besonderheit dar, denn dieser Parasit wurde ursprünglich bei Makaken identifiziert.⁵

1.1.2 Lebenszyklus

Der Erreger *Plasmodium falciparum* ruft die *Malaria tropica* hervor, die gefährlichste, da unbehandelt tödliche, Malariainfektion. Daher wird im weiteren Verlauf dieser Arbeit hauptsächlich Bezug auf diesen Erreger und die durch ihn hervorgerufene Erkrankung genommen. Grundsätzlich ähneln sich die Lebenszyklen der humanpathogenen Plasmodienarten.

Die Infektion des Menschen erfolgt durch den Stich einer infizierten, weiblichen *Anopheles* Mücke, bei dem 4,5 bis 39 Sporozoiten über den Speichel der Mücke in die Haut gelangen (Abbildung 2. (1)).⁶ Diese Phase ist die exo-erythrozytäre Phase („Leberphase“) der Infektion, welche symptomlos verläuft. Über den Blutkreislauf (hämatogener Transport) gelangen die Sporozoiten in die Parenchymzellen der Leber (2). Dort bildet sich ein Leberschizont, der tausende Kerne enthalten kann. Aus diesen Kernen und dem umgebenden Gewebe entstehen schließlich Merozoiten. Die Gesamtdauer dieser Phase beträgt bei einer *Plasmodium falciparum* Infektion 7–15 Tage und entspricht somit der Inkubationszeit.

Die in den Leberzellen gebildeten Merozoiten gelangen anschließend in den Blutkreislauf und befallen die Erythrozyten. Dieser Lebenszyklus wird erythrozytäre Phase genannt (3). In dieser Lebensphase treten beim Menschen Krankheitssymptome auf. Einige Merozoiten der Gattungen *Plasmodium vivax* und *ovale* befallen erneut Parenchymzellen

und es bilden sich Hypnozoiten. Dies sind hepatozytäre Ruheformen. Der Begriff Ruheform drückt aus, dass sich diese Form Wochen bis Jahre in den Leberzellen aufhalten kann, um bei bestimmten Triggerfaktoren Rezidive zu bilden und ein erneutes Ausbrechen der Erkrankung auszulösen.

Die in die Erythrozyten eingedrungenen Merozoiten bilden Ringstadien, die nun weiter reifen und sich zu Trophozoiten ausbilden. Als Nahrungsquelle nutzt der Parasit u.a. den roten Blutfarbstoff, das Hämoglobin. Die Aminosäuren des Globins werden zum Aufbau parasitärer Proteine genutzt.⁷ Nach 48–72 Stunden platzt die Zelle und Merozoiten gelangen in die Blutbahn, wo sie erneut Erythrozyten befallen (4). Nachdem dieser Zyklus einige Male durchlaufen wurde, findet eine geschlechtliche Umwandlung des Erregers statt. Dabei bilden sich männliche Mikrogametozyten und weibliche Markogametozyten (5). Diese sind im menschlichen Blut nicht vermehrungsfähig und würden sterben, wenn keine Übertragung auf die Anopheles Mücke stattfinden würde. Wird der infizierte Mensch erneut von dieser Mückengattung gestochen, nimmt die Mücke die beiden geschlechtlichen Formen während ihrer Blutmahlzeit auf.

In der Mücke entwickeln sich aus den männlichen Mikrogametozyten Mikrogameten, die sich mit den entstandenen weiblichen Makrogameten vereinen. Durch diese Befruchtung bildet sich im Darm der Mücke die Zygote (6), die sich zur länglichen Ookinete (7) umwandelt. Im Mitteldarmepithel findet anschließend eine Reduktionsteilung statt, bei der sich folgend an der Darmaußenwand große Oozysten (8) bilden, die bis zu 10 000 Sporozoiten enthalten. Ist eine gewisse Anzahl an Sporozoiten erreicht, platzt die Zelle und die Sporozoiten gelangen über die Leibeshöhle der Mücke in die Hämolymphe und von dort in die Speicheldrüse (9). Die Dauer dieser Phase ist abhängig von der Plasmodienart und der Umgebungstemperatur, sie liegt zwischen 7 und 30 Tagen.

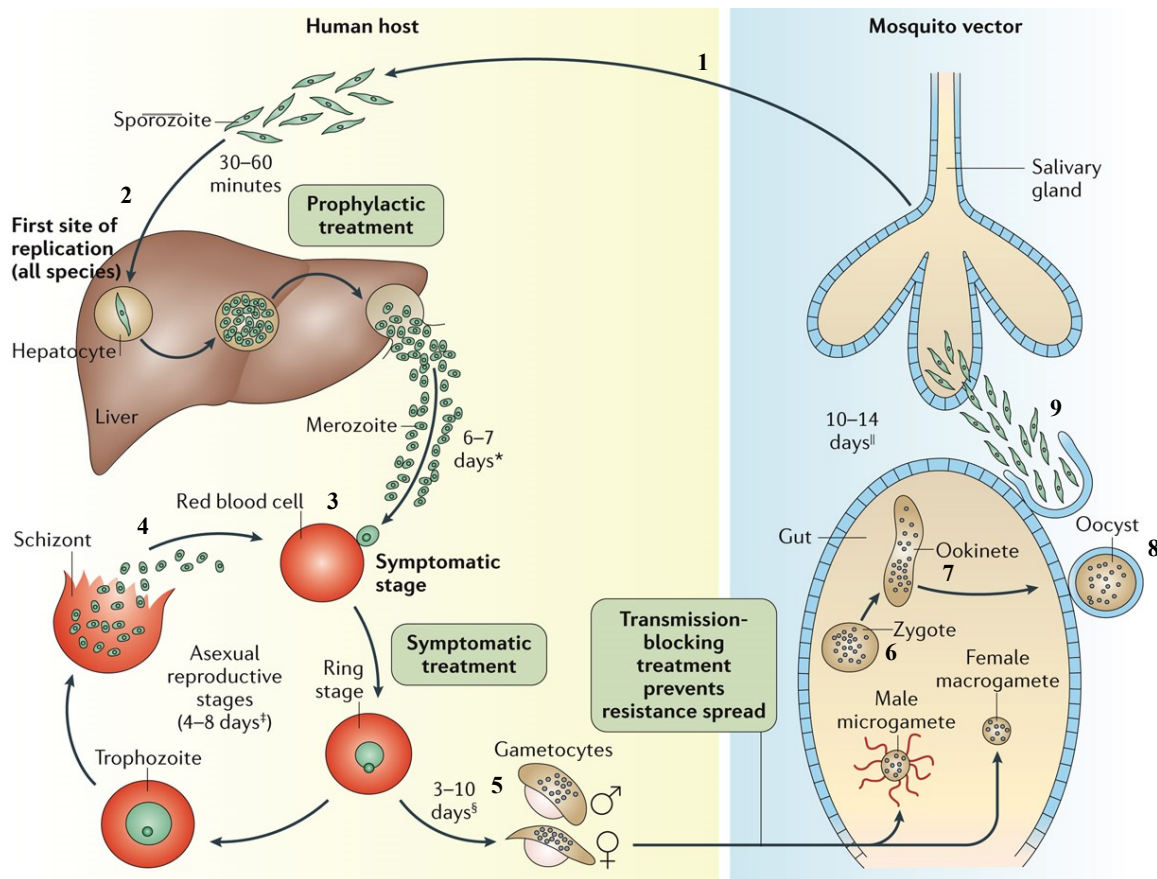


Abbildung 2. *Plasmodium* spp. Lebenszyklus, modifiziert nach Phillips et al.⁸

1.2 Malaria

1.2.1 Einteilung der Malariaerkrankung

Malaria tropica

Die *Malaria tropica* wird durch *Plasmodium falciparum* ausgelöst. Die ersten Symptome einer *Malaria tropica* Infektion zeigen sich nach 7 bis 28 Tagen (eine längere Inkubationszeit kann z.B. durch eine ineffektive Prophylaxe verursacht sein). Menschen, die schon einmal durch *Plasmodium falciparum* infiziert wurden, können eine Teilimmunität (Semiimmunität) erwerben. Diese kann dazu führen, dass sich die Erkrankung erst bis zu drei Monate später manifestiert.

Die ersten Symptome einer *Malaria tropica* Infektion sind unspezifisch und ähneln einem grippalen Infekt. Dazu zählen Kopfschmerzen, Abgeschlagenheit, Muskel- und Gelenkschmerzen, gefolgt von Fieber, Schweißausbrüchen, sowie Übelkeit und Erbrechen. Findet keine ausreichende und richtige Behandlung in dieser frühen Phase der

Erkrankung statt, kann der Krankheitsverlauf innerhalb von Stunden bis hin zu Tagen lebensbedrohlich werden. Diese schwere Malaria manifestiert sich durch folgende Symptome: zerebrale Malaria, metabolische Azidose, Anämie, Lungenödem, akutes Nierenversagen und Hypoglykämie. Aufgrund dieser lebensbedrohlichen Symptome wird die *Malaria tropica* auch maligne Malaria genannt. Ursache für den lebensbedrohlichen Verlauf ist unter anderem die Bildung von speziellen Proteinen. *P. falciparum* bildet nach Befall der Erythrozyten u.a. das sogenannte PfEMP1 (*Plasmodium falciparum* infected erythrocyte membrane protein 1). Dieses Protein kann zu einer Anhaftung infizierter Erythrozyten an die Endothelwände von Blutgefäßen führen. Dadurch kommt es zu einer Sauerstoff- und Nährstoffunterversorgung einiger Organe (u.a. Hirn, Niere). Parasitierte Erythrozyten können sich in terminalen Abschnitten der Blutgefäße des Gehirns anreichern, dies führt zu einer Stase des Blutes und dadurch letztendlich zu einem Hirnödem und Hirnblutungen.⁹

Malaria tertiana

Diese durch die Erreger *Plasmodium ovale* oder *P. vivax* ausgelöste Malaria ist seltener lebensbedrohlich und wird daher auch benigne Malaria genannt. Die Inkubationszeit nach einem Mückenstich beträgt 12 Tage bis 1 Jahr. Die anfänglichen Symptome ähneln der *Malaria tropica*, sie sind jedoch meist schwächer und äußern sich u.a. in folgenden Symptomen: Fieber, Schüttelfrost, Krämpfe des Gastro-Intestinal-Trakts. Das Fieber zeigt hier sehr häufig eine Rhythmik. Die Patienten bekommen hohes Fieber (bis zu 40 °C) und Schüttelfrost. Das Fieber sinkt jedoch nach vier Stunden wieder abrupt auf Normalwerte ab.¹⁰ Aufgrund der Eigenschaft des Erregers Hypnozoiten in der Leber zu bilden, kann es nach Wochen oder Jahren zu einem erneuten Ausbrechen der Erkrankung kommen.

Malaria quartana

Die *M. quartana* wird durch *P. malaria* verursacht und ist wie die *M. tertiana* selten lebensbedrohlich. Ihre Symptomatik, wie auch die Fiebrerrhythmik ist ebenfalls ähnlich (Fieberschübe treten alle 72 Stunden auf), jedoch können nephrologische Komplikationen auftreten. Die Inkubationszeit ist deutlich länger und kann bis zu 50 Tage betragen.

Knowlesi-Malaria

Diese Krankheitsform tritt bis jetzt nur in Südostasien auf. Eine Infektion mit diesem Erreger kann für den Menschen tödlich verlaufen. Fieberschübe treten jeden Tag auf und können von Tachypnoe und Tachykardie begleitet sein. Organkomplikationen, die zum Tod führen können, sind die zerebrale Malaria und ein akutes Nierenversagen.

1.2.2 Malaria Prophylaxe

Die Malaria Prävention kann in verschiedene Durchführbarkeiten eingeteilt werden: die Vektorkontrolle, die Chemoprophylaxe und eine Impfung (Kapitel 1.2.4).

Vektorkontrolle

Die beste Prophylaxe ist der Schutz vor einem Stich. Demnach stehen bei einem Aufenthalt in Endemiegebieten eine entsprechende Kleidung und Imprägnierung im Vordergrund. Die Kleidung sollte den größtmöglichen Teil der Haut bedecken, eine Imprägnierung der Kleidung ist zudem ratsam. Freiliegende Hautbereiche sollten mit Repellentien eingesprüht werden. Die wirksamsten und von der WHO empfohlenen Mittel, für alle Reisen in Malaria-, aber auch Gelbfieber und Zika-Virus Gebiete, sind Mittel mit dem Wirkstoff DEET (Abbildung 3). DEET, Diethyltoluamid, kann von Insekten über ihre Geruchs- und Geschmacksrezeptoren aufgenommen werden, was für die Insekten sehr unangenehm ist. Bei Schwangeren und Kindern ist jedoch aufgrund der geringen Datenlagen Vorsicht geboten. Für Schwangere und Kinder ab 2 Jahren eignet sich zur Prophylaxe ein Insektenspray mit dem Wirkstoff Icaridin (Abb. 3).

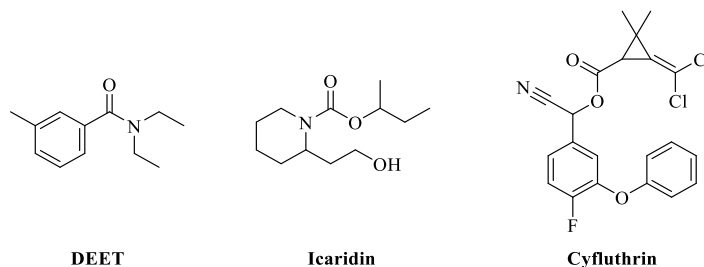


Abbildung 3. Empfohlene Repellentien und Inhaltsstoffe von Insektensprays zur Moskitoabwehr (WHO).

Eine weitere, wichtige Prophylaxe sind Insektennetze, welche über die Schlafstätte gespannt werden sollten. Es gibt Netze mit verschiedener Maschenweite, Tropeninstitute weisen auf die entsprechenden Netze für verschiedene Reisegebiete hin. Am besten sollte

auch dieses imprägniert sein, denn bei Nähe zum Netz, kann man auch durch dieses gestochen werden. Die Imprägnierung kann mit Cyfluthrin - einem synthetischen Pyrethroid - erfolgen (Abb. 3). Imprägniersprays für die Haut sind für Netze ungeeignet.

Chemoprophylaxe

Die prophylaktische Einnahme eines antiparasitär wirkenden Arzneimittels nennt man Chemoprophylaxe. Anwendung finden solche prophylaktischen Maßnahmen bei Reisen in Malariagebiete, bei Schwangeren in Endemiegebieten oder bei saisonaler Malaria für Kinder unter 6 Jahren, die sogenannte saisonale Chemoprävention gegen Malaria (SMC). Eine SMC Prophylaxe wird von der WHO für Regionen empfohlen, in denen sich das Aufkommen der Malaria Erkrankungen auf einige Monate begrenzt (z.B.: Sahelzone).¹¹

Eine Auswahl der zur Zeit empfohlenen Wirkstoffe bzw. Wirkstoffkombinationen zur Chemoprophylaxe zeigt Abbildung 4.^a Dazu gehören die tägliche Gabe von Atovaquon-Proguanil (Malarone®) oder Doxycyclin, sowie die wöchentliche Gabe von Mefloquin (Lariam®). Die WHO empfiehlt als SMC Behandlung die monatliche Gabe von Sulfadoxim/Pyrimethamin und Amodiaquin (SP + AQ) über einen Zeitraum von vier Monaten (Abbildung 4).

Die prophylaktische Wirkung der Arzneistoffe wird dabei in zwei Begriffe unterteilt. Bei einer Suppressionsprophylaxe (z.B. mit Mefloquin) werden die klinisch relevanten Blutstadien bekämpft, eine Infektion des Menschen wird nicht verhindert. Da die Blutstadien noch Tage bis Wochen aus den Leberstadien entstehen können, ist eine Einnahme dieser Wirkstoffe bis zu 4 Wochen nach Ausreise ratsam. Kausal prophylaktisch wirken hingegen Arzneistoffe, die Leberstadien abtöten und gewebeschizontoide Eigenschaften besitzen (Atovaquone+Proguanil).^{12,b} Diese Arzneistoffe verhindern das Ausbrechen der Malariaerkrankung. Die Einnahme dieser Arzneistoffe kann schon kurze Zeit nach der Ausreise aus endemischen Gebieten abgesetzt werden.

^a Die Empfehlung richtet sich dabei nach der Personengruppe. Informationen geben u.a. die Leitlinie der WHO (Guideline for the Treatment of Malaria), sowie das deutsche Tropeninstitut.

^b Atovaquone ist sowohl gegen die Leberstadien, als auch gegen die Blut- und Gametozytenstadien wirksam.

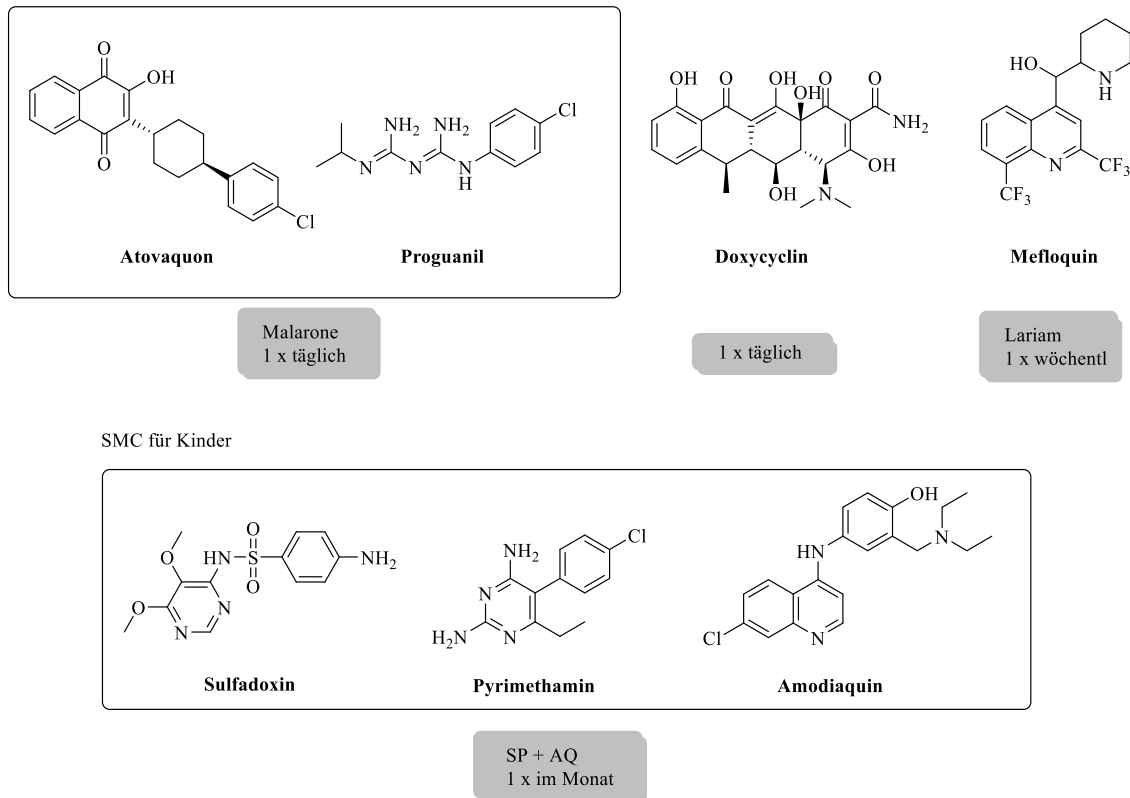


Abbildung 4. Zur Chemoprophylaxe eingesetzte Arzneistoffe.

1.2.3 Diagnose und Therapie der Malaria

Als Basisdiagnosemethode sollte immer ein Blutaussstrich, der sogenannte „Dicke Tropfen“ angefertigt werden. Dadurch kann meist schon eine *P. falciparum* Infektion von anderen Plasmodieninfektionen unterschieden werden. Die Nachweisgrenze dieser Methode liegt bei ca. 50 Parasiten pro Mikroliter Blut, dies entspricht einer Parasitämie von unter 0.001 %. Da die Anzahl der Parasiten im Blut die Wahl des einzusetzenden Wirkstoffs mitbestimmt und zudem seine Wirksamkeit anzeigt, ist diese Methode auch als Verlaufsüberwachung sinnvoll.

Therapie der Malaria tropica

Artemisinin, ein Sesquiterpen mit Endoperoxidstruktur, wurde 1971 von *Youyou Tu* entdeckt¹³ und wird seitdem zur Malariatherapie eingesetzt. *Tu* wurde 2015 für diese Entdeckung mit dem Nobelpreis für Medizin geehrt. Durch die Reduktion der Laktonstruktur des Artemisinins zu einer Laktolstruktur, wurde der Arzneistoff Dihydroartemisinin gewonnen. Derivatisierungen der Laktolstruktur führten zu Artemether und Artesunat (Abbildung 5).¹⁴ Diese Wirkstoffe bilden die Grundlage der

heutigen Malariatherapie. Ihre Wirkform erreichen diese Arzneistoffe nach bisherigem Wissensstand nach Aktivierung der Endoperoxidstruktur durch das Häm-Eisen, wodurch sich anschließend in den Plasmodien toxische Radikale bilden.

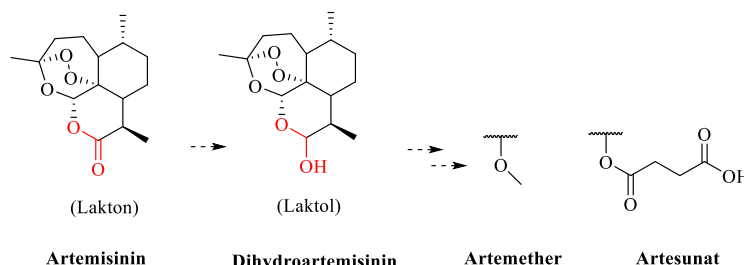


Abbildung 5. Artemisinin und Artemisinin-Derivate.

Die WHO empfiehlt zur Behandlung der *Malaria tropica* die Kombination eines Artemisinin-Derivates mit einem zweiten Malariawirkstoff, welche sich Artemisinin-basierte Kombinationstherapie nennt (ACT). Die Wahl des entsprechenden Präparates ist abhängig von der Region und dem Patienten (Kinder, Schwangere, Begleiterkrankungen). Die WHO und die deutsche Gesellschaft für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit (DTG) geben regelmäßig Leitlinien zur Diagnostik und Behandlung der Malaria heraus. Diese Leitlinien sind als Grundlage der evidenzbasierten Therapie der Malaria zu betrachten.

Tabelle 1 listet die nach WHO empfohlenen Wirkstoffkombinationen zur Behandlung der unkomplizierten *Malaria tropica* auf. Begleitsymptome (Übelkeit, Erbrechen, Fieber, etc.) werden entsprechend ihres Auftretens behandelt (Antiemetika, Antipyretika etc.).

Tabelle 1. Behandlungsempfehlungen der unkomplizierten *Malaria tropica* nach WHO.

Präparat	Wirkstoffklasse	Applikationsart
Artemether/ Lumefantrin	Artemisininderivat/ Arylaminoalkohol	Peroral
Artesunat/ Amodiaquin	Artemisininderivat/ 4-Aminochinolin	Peroral
Artesunat/ Mefloquin	Artemisininderivat/ Arylaminoalkohol	Peroral
Dihydroartemisinin/ Piperaquin	Artemisininderivat/ Bis-chinolin	Peroral
Artesunat/Sulfadoxin/ Pyrimethamin	Artemisininderivat/ Sulfonamid/ Diaminopyrimidin	Peroral

Therapie der komplizierten Malaria tropica

Eine komplizierte *Malaria tropica* Erkrankung liegt beim Auftreten mindestens einer der folgenden Symptome vor: Bewusstseinstörung, zerebrale Krampfanfälle (tonisch-klonisch), Spontanblutungen, Azidose, Niereninsuffizienz. Die Symptome setzen meist sehr abrupt ein und sind von hohem Fieber begleitet. Die Behandlung mit einem Artemisinin-Derivat (Artesunat, Artemether) oder Chinin erfolgt zunächst parenteral. Es schließt sich eine orale Therapie an.

Therapie der Malaria tertiana und quartana.

Neben einer Behandlung nach dem ACT-Prinzip wird für chloroquin-sensitive Regionen auch Chloroquin, ein 4-Aminochinolin, zur Behandlung vorgeschlagen. Um ein Wiederauftreten, ausgelöst durch Rezidive, zu verhindern, wird nach vorangegangener Prüfung auf den Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6PD) Status Primaquin empfohlen. Primaquin ist ein 8-Aminochinolin, welches u.a. gegen Hypnozoiten wirkt (Abbildung 6).

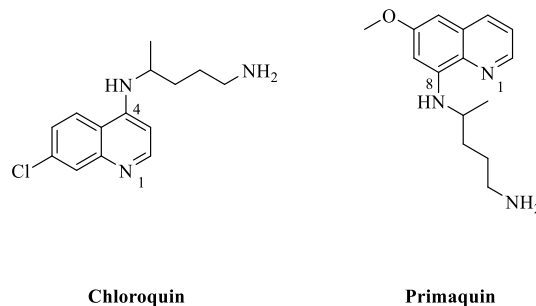


Abbildung 6. 4- und 8-Aminochinoline zur Malariatherapie.

1.2.4 Malaria – Ist eine effektive Impfung möglich?

Einen Impfstoff gegen den Erreger *Plasmodium falciparum* zu entwickeln ist aufgrund verschiedener Faktoren sehr schwierig. Die Antimalaria-Immunität ist noch nicht in Gänze verstanden, zudem besitzt der Parasit eine hohe genetische Vielfalt. Es ist ein komplexer Organismus, dessen Lebenszyklus sehr diffizil ist.¹⁵ Impfstoffentwicklungen konzentrieren sich hauptsächlich auf die präerythrozytären und erythrozytären Formen. Einige Studien werden aber auch im Bereich Transmissionsblockade durchgeführt.

Ein Impfstoff, der gegen die präerythrozytären Formen, also während der Sporozoiteninoculation, dem Befall der Leber und dem Merozoitenstadium, wirksam ist,

wäre besonders vielversprechend. Denn so könnte eine vollständige Immunogenität gegeben werden, die das Ausbrechen der Erkrankung, sowie eine Rückübertragung auf die Mücke verhindert. Ein Impfstoff mit Aktivität während der asexuellen, erythrozytären Phase, würde die Schwere der Erkrankung reduzieren, aber nicht das Ausbrechen dieser verhindern.¹⁶

RTS,S/AS01 ist ein Impfstoff, der sich momentan in Phase IV befindet und zugelassen ist zur Anwendung an Kindern im Alter von 6 Wochen bis 17 Monaten. 2015 hat die EMA eine positive Beurteilung für die Anwendung außerhalb der EU gegeben.^{17,18} Der Name RTS,S leitet sich aus seiner Zusammensetzung ab. Es handelt sich dabei um ein Hybridvakzine, bestehend aus dem Plasmodium Antigen (R), dem sogenannten Circumsporozoit (CS), einem T-Zell Epitop (T) und einem Hepatitis B Antigen (S), welche als zwei Polypeptide im Verhältnis 1:4 im Impfstoff vorliegen.¹⁶ Um seine Wirkung zu entfalten muss das Vakzine viermal gespritzt werden, die ersten dreimal mit einem Abstand von einem Monat, das vierte mal nach 20 Monaten (3 x 1, 1 x 1). Die erneute Gabe nach 20 Monaten, die auch als Booster-Gabe bezeichnet wird, hat zu einer Effektivität von 36 % (Populationsgruppe 1: 5–17 Monate alte Kleinkinder) bzw. 26 % (Populationsgruppe 2: 6–12 Wochen alte Säuglinge/Kleinkinder) im Vergleich zur nicht behandelten Gruppe geführt.¹⁹

Dieses Dosisregime ist in afrikanischen Ländern schwer zu realisieren, da die Gesundheitssysteme unterentwickelt sind. Die WHO hat zusammen mit Ghana, Kenia und Malawi das Malaria Vaccine Implementation Program (MVIP) ausgerufen. Von 2018 an soll in bestimmten Regionen dieser Länder RTS,S/AS01 standardmäßig angewendet werden, sodass bis zum Jahre 2022 Aussagen über die Anwendbarkeit und die Bereitstellung von routinemäßigen Impfungen in realer Umgebung, sowie eine Erhöhung der Evidenz in Bezug auf das Sicherheitsprofil von RTS,S gegeben werden kann. Noch hat die WHO RTS,S/AS01 nicht in das sogenannte Expanded Program of Immunization (EPI) aufgenommen. Einige Stimmen verlangen nach mehr Evidenz²⁰ oder sehen die Stärke von RTS,S/AS01 eher in der Verhinderung der Transmissionsübertragung in nicht-endemische Gebiete.²¹

1.2.5 Resistenzen

1910 traten die ersten Resistenzen gegen Chinin auf. 1957 traten erstmals resistente Plasmodienstämme gegen Chloroquin in Thailand auf. 1959 wurden weitere Chloroquinresistenzen an der kolumbianischen-venezuelischen Grenze vermerkt, 1978 dann auch in Afrika (Kenia, Tansania).²² 1982 wurde eine Mefloquin Resistenz in Thailand beschrieben.²³ In den letzten 5 Jahren wurde zudem über Resistenzen gegen die Wirkstoffkombination Dihydroartemisinin-Piperaquin in der Mekong Region (GMS) berichtet.^{24,25} Die Resistenz gegen das gut wirksame Dihydroartemisinin verleitete einige Autoren dazu, diesen resistenten Stamm als „*Super Malaria*“ zu bezeichnen.

Verantwortlich für Resistenzen gegenüber Malariatherapeutika sind oft Mutationen in Transportproteinen, die für den Stoffaustausch zwischen den Zellorganellen des Parasiten sorgen.²⁶ Studien zeigten, dass resistente Stämme weniger Chloroquin in der Nahrungsvakuole gespeichert hatten, als die sensitiven, bedingt durch einen verstärkten Abtransport von Chloroquin aus der Vakuole. Die Nahrungsvakuole ist der vermeintliche Wirkort des Chloroquins.

Der Transport über die Vakuolenmembran wird durch ein Protein gesteuert, welches durch das Gen *Pfcr1* (*Plasmodium falciparum chloroquine resistance transporter*) codiert wird.^{27,28} Bei einer Mutation des *Pfcr1* Gens, wird Lysin an Stelle 76 gegen Threonin ausgetauscht, sodass positiv geladene Wirkstoffe besser den Transporter passieren können.²⁹

Weitere Gene, die nach heutigem Kenntnisstand für die Resistenz der Parasiten gegenüber Antimalariawirkstoffen verantwortlich sind, sind *Pfmdr* (*pf multi drug resistance*)^{30,31}, ebenfalls ein Transporter codierendes Gen, sowie *Pfnhe* (*plasmodium falciparum Na⁺/H⁺exchanger*).^{32,31} *Pfmdr* ist unter anderem für den ATP-abhängigen Transport von hydrophoben Substanzen (z.B. Mefloquin, Halofantrin) verantwortlich.³³

Die Kombination von antiplasmodial wirksamen Arzneistoffen stellt bis heute die Grundlage der Malariatherapie dar (Kapitel 1.2.3). Denn die Gabe nur eines Arzneistoffes kann aufgrund des komplexen Lebenszyklus der Plasmodien zu Selektionen und somit zu Resistenzen führen, wenn durch diesen einen Wirkstoff nicht alle Parasiten abgetötet wurden. Die Eliminationsrate der Arzneistoffe ist dabei ein entscheidender Faktor.¹¹ Daher wurde der Fokus in den letzten Jahren unter anderem auf die Entwicklung fixer

Wirkstoffkombinationen von Artemisinderivaten (schnell wirksam, kurze Wirkdauer) und einem zweiten Malariawirkstoff mit längere Eliminationshalbwertszeit gelegt. Des Weiteren sollten die Kombinationspartner einen unterschiedlichen Wirkmechanismus aufweisen.¹¹

1.3 Entwicklung neuer Malariatherapeutika

1.3.1 Forschung und Entwicklung

Status der klinischen Forschung

Da sich die Resistenzentwicklung gegen das Artemisinin-basierte Therapiekonzept ausbreitet (Kapitel 1.2.5), vorhandene Therapeutika teils schwerwiegende Nebenwirkungen besitzen (Kapitel 1.4.1), ein ausreichender Impfschutz noch nicht erreicht ist (Kapitel 1.2.4) und sich aufgrund der globalen Erwärmung der Lebensraum der *Anopheles* Mücke immer weiter ausbreitet, bedarf es einer steten Entwicklung neuer Arzneistoffe. Neue Arzneistoffe mit antiplasmodialer Wirkung sollten nach Möglichkeit neue strukturelle Eigenschaften und bestenfalls einen neuen, validierten Wirkmechanismus aufweisen. Eine Verhinderung der Übertragung der Plasmodien vom Vektor auf den Menschen würde das größtmögliche Potential liefern.

2013 wurde versucht, die wissenschaftliche Kommunikation durch das Einteilen von Wirkstoffen in Klassen zu vereinheitlichen und die Forschung zielgerichtet zu lenken. Dazu wurden TCP's (*target candidate profiles*) und TPP's (*target product profiles*) definiert (Abbildung 7). TCP's sind einzelne, aktive Wirkstoffe, die z.B. eine Wirkung gegen die asexuellen Blutstadien (TCP-1), oder eine Aktivität gegen Hypnozoiten (TCP-3) aufweisen. In die Klassen TCP-5 und 6 werden Wirkstoffe mit transmissionsblockierenden Eigenschaften eingeteilt. In die Klasse TCP-5 werden dabei jene Substanzen geordnet, die eine Wirkung gegen Gametozyten besitzen, in die Klasse TCP-6 werden Wirkstoffe eingeteilt, die gegen den insektiziden Vektor wirksam sind (*Endektozide*). TPP's werden in zwei Kategorien eingeteilt, erstens in die Behandlung eines Patienten (TPP-1) und zweitens in die Chemoprotektion (TPP-2).^{34,35,c}

^c Die Definition der Klasse TCP-2 wurde aufgehoben.

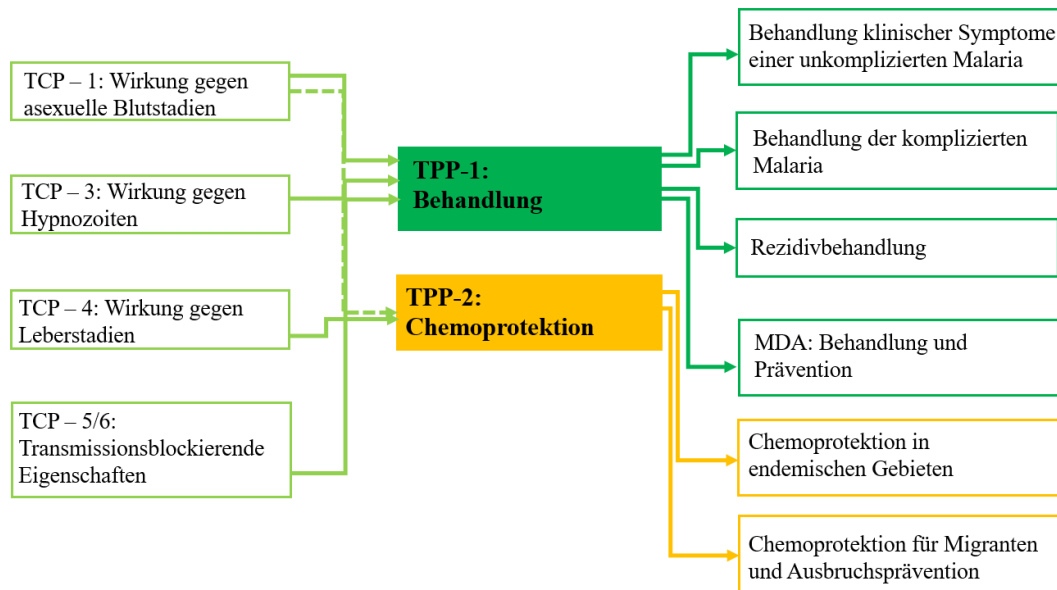
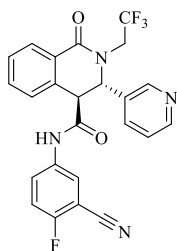


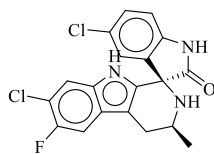
Abbildung 7. TCP, TPP Konzept, modifiziert nach Burrows.³⁵

In den letzten Jahren haben einige Wirkstoffe mit neuen Wirkmechanismen die klinische Phase erreicht (Abbildung 8 und 10). Dies ist vor allem phänotypischen^{36,37} und target-basierten Screenings³⁸, sowie rationalem Design^{39,40} zu verdanken.

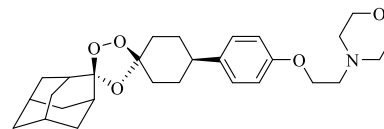
Zu diesen Wirkstoffen gehören die Substanzen MMV048⁴¹, P218⁴², SJ733⁴³, Cipargamin⁴⁴, DSM265⁴⁵, KAF156⁴⁶ und OZ439 (Artefenomel)⁴⁷ (Abbildung 8).^{35,48} SJ733 und Cipargamin inhibieren den Kationenkanal *Pf*ATP4 und führen so zu einem Ungleichgewicht des Natriumhaushaltes im Parasiten. Eine Enzyminhibition, wie die Hemmung der Dihydrofolatreduktase (DHFR) durch P218 oder der Dihydroorotatdehydrogenase (DHODH) durch DSM265 greift in die Nukleotid-Biosynthese der Plasmodien ein.

**SJ733***Pf*3D7 IC₅₀: 0.030 µMTarget: *Pf*ATP4

Status: Phase I

**Cipargamin** (NITD609, KAE09)*Pf*3D7 IC₅₀: 0.0007 µMTarget: *Pf*ATP4

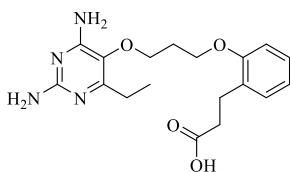
Status: Phase IIa abgeschlossen

**OZ439***Pf*K1 IC₅₀: 0.0028 µM

Target: noch nicht bekannt

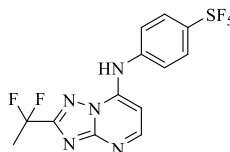
Status: Phase IIb als

Kombinationspräparat mit Ferroquin läuft

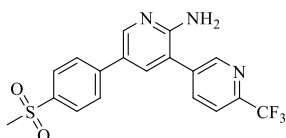
**P218***Pf*TM4 IC₅₀: 0.0046 µM

Target: DHFR Inhibitor

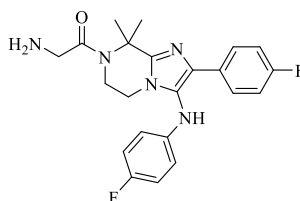
Status: Phase I

**DSM265***Pf*3D7 IC₅₀: 0.046 µMTarget: *Pf*DHODH

Status: Phase IIa abgeschlossen

**MMV048** (MMV390048)*Pf*NF54 IC₅₀: 0.028 µMTarget: *Pf*PI4K

Status: Phase I abgeschlossen

**KAF156***Pf*3D7 IC₅₀: 0.010 µM

Target: noch nicht bekannt

Status: Phase IIa abgeschlossen

Abbildung 8. Neue Antimalariawirkstoffe in klinischer Entwicklung (nach Status geordnet).

Die Wirkweise eines potentiellen Arzneistoffes auf die unterschiedlichen Entwicklungsstadien von *Plasmodium falciparum* kann durch verschiedene Enzym- und zellbasierte Assays evaluiert werden. Bei zellbasierten Screeningverfahren werden u.a. Aktivitätsmessungen gegen die asexuellen Blutstadien (dafür oft verwendete Laborstämme: *Pf*3D7 (chloroquin-sensitiv), *Pf*Dd2 (multiresistent), *Pf*NF54, *Pf*K1)), den Leberstadien (*Pf*EEF) und den verschiedenen Gametozytenstadien (*Pf*ESG, *Pf*RSG, *Pf*LSG) unterschieden. Wird eine Verbindung als antiplasmodial aktiv bewertet, werden weitere Studien unternommen, die ihre Zytotoxizität (Selektivität im Vergleich zu humanen Zelllinien), die Löslichkeit, die Membranpermeabilität und ihre metabolische und chemische Stabilität untersuchen. Fallen diese Studien positiv aus, werden Untersuchungen am lebenden Organismus angestrebt.

Abbildung 9 fasst diese Optimierungszyklen zusammen und zeigt die Komplexität der Arzneistoffentwicklung auf.

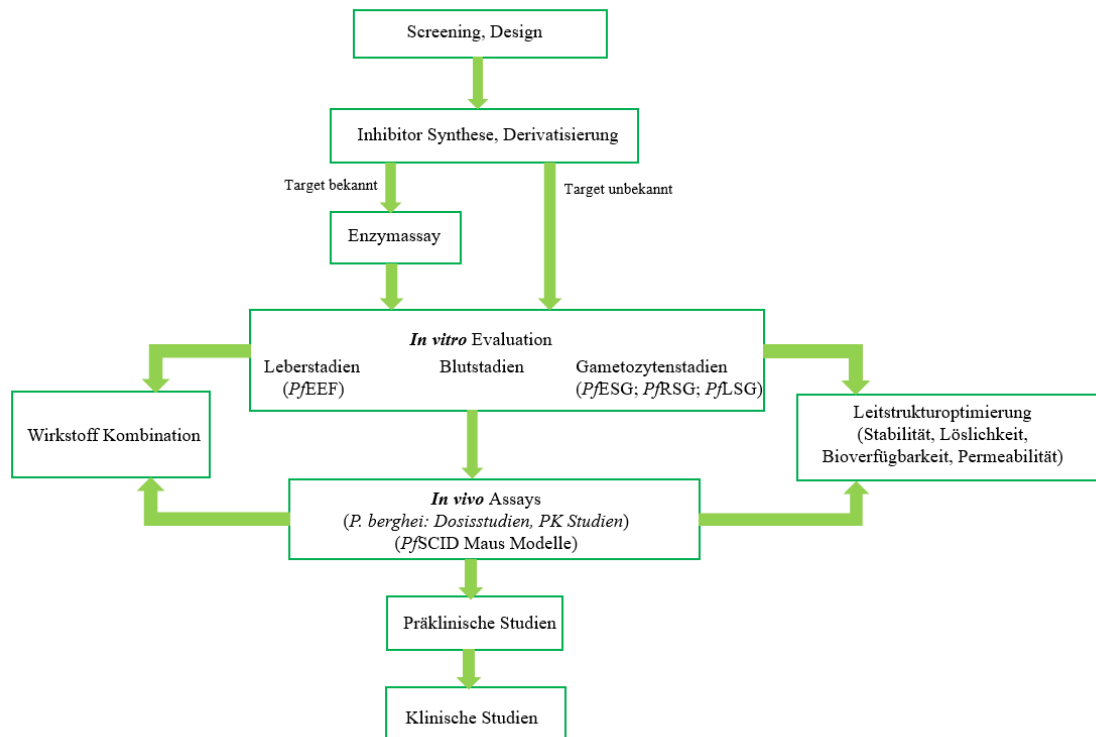


Abbildung 9. Beispielhafte Entwicklung eines neuen Malariawirkstoffes, modifiziert nach Fidock.⁴⁹

Die Non-Profit-Organisation MMV (Medicine for Malaria Venture) bringt regelmäßig eine Übersicht heraus, die den Stand der aktuellen Forschung aufzeigt (Abb. 10). Bei näherer Betrachtung ist die Bedeutsamkeit von Arzneistoffkombinationen ersichtlich. Zudem ist die Darreichungsform ein entscheidender Faktor für die Effektivität der Arzneistoffe. Nicht jede Patientengruppe ist in der Lage feste Arzneiformen wie Tabletten einzunehmen. So wurde in den letzten Jahren auch die Erforschung von Arzneimitteln für die pädiatrische Anwendung vorangetrieben (Coartem® Dispersible, Pyramax®, Artesunat Suppositorien).

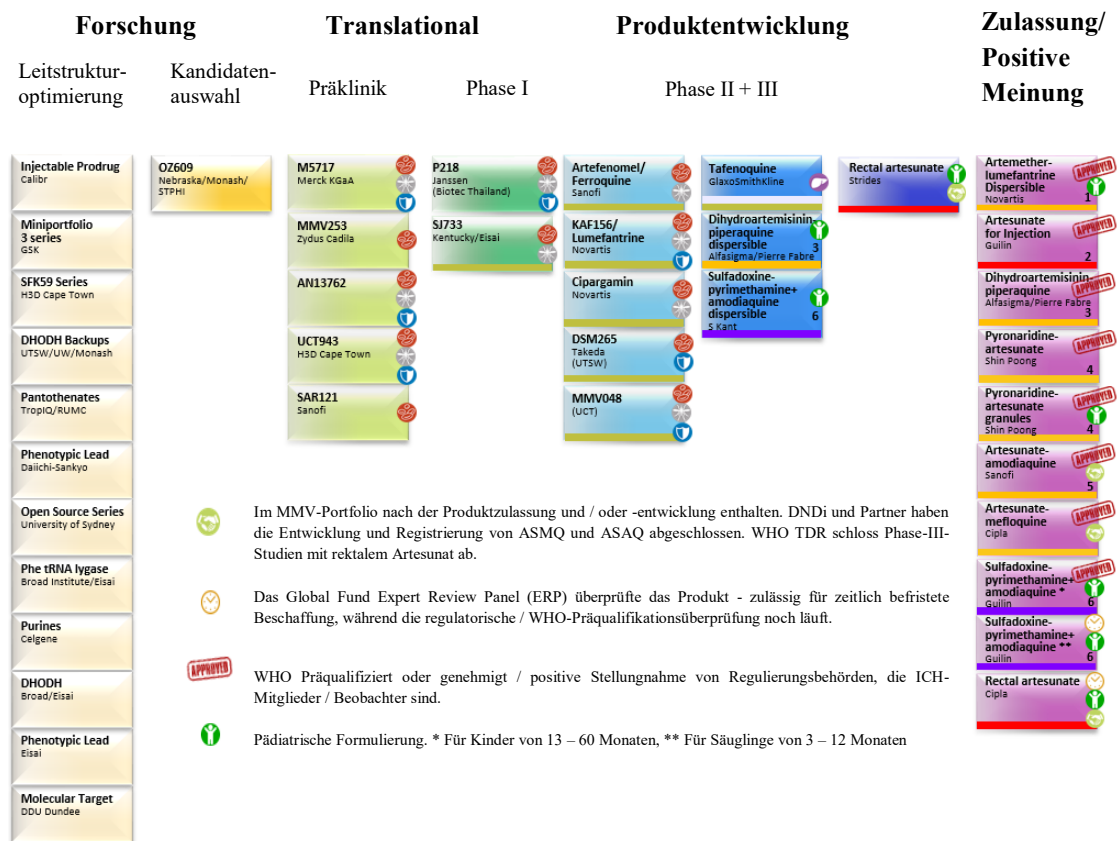


Abbildung 10. MMV-unterstützte Projekte: Stadien der klinischen Entwicklung, nach MMV.⁵⁰

Abbildung 10 zeigt, wie wichtig die Kooperation zwischen Pharmafirmen und Non-Profit-Organisationen, sowie die Zusammenarbeit mit kleineren Forschungsgruppen ist. An allen Zulassungen waren die Organisationen MMV oder DNDi beteiligt, indem sie finanzielle Unterstützung, Sachleistungen oder Expertenrat boten. Durch den Zusammenschluss von Kapital und Know-How ist es geglückt, wirksame Malariatherapeutika zu entdecken, zu entwickeln und auf den Markt zu bringen. MMV kommentiert seine Zusammenarbeit wie folgt: „Mit finanzieller Unterstützung von Spendern bringt MMV akademischen Geist und pharmazeutische Muskeln zusammen - mit eigener wissenschaftlicher Expertise - um die Malariaforschung zum Blühen zu bringen und Früchte zu tragen.“ (aus dem Englischen, The PDP Model, MMV Partnering)

1.3.2 Finanzierung – Die Unentbehrlichkeit von Non-Profit-Organisationen

MMV – Medicine for Malaria Venture

MMV ist eine der größten Organisationen, die sich der Bekämpfung der Malaria verschrieben hat. Das selbsternannte Ziel von MMV ist es, alle fünf Jahre ein neues Malariatherapeutikum auf den Markt zu bringen. Die Organisation erforscht und entwickelt neue Arzneistoffe und Arzneimittel und sorgt für eine Versorgung der Menschen mit Malariawirkstoffen in endemischen Gebieten.

DNDi – Drugs for Neglected Diseases Initiative

Bis zum Jahre 2015 hat auch diese Non-Profit-Organisation an neuen Malariawirkstoffen geforscht. Dieses Forschungsgebiet traten sie in den Folgejahren ab, andere vernachlässigte Krankheiten wie Leishmaniose oder die Chagas Erkrankung werden aber weiterhin intensiv erforscht, um potente Wirkstoffe zu generieren. DNDi war an der Erforschung und Entwicklung von ASMQ (Artesunat/Mefloquin) und ASAQ (Artesunat/Amodiaquin) beteiligt (siehe Abb. 10).

MVI - Malaria Vaccine Initiative

Diese Initiative ist ein Programm von PATH (Programm for Appropriate Technology in Health) bei dem Kooperationen zwischen der Industrie, der Regierung, wie auch der universitären Forschung eine stete Entwicklung neuer Impfstoffkandidaten fördern soll.

Bill and Melinda Gates Foundation

Auch diese Organisation hat sich die Ausrottung von Malaria zum Ziel gemacht und hat bis heute knapp 2 Milliarden US-Dollar in Forschung und Entwicklung investiert. Dabei wird die Erforschung neuer Therapiemöglichkeiten genauso gefördert, wie auch die Verbesserung bestehender Eradikationsmaßnahmen. Ein wichtiges Anliegen der Organisation ist die Heilung von asymptomatisch Infizierten, um die Übertragungsrate stetig zu minimieren.

1.4 Arylaminoalkohole – Arzneistoffe und Wirkmechanismus

1.4.1 Chinin, Mefloquin, Halofantrin, Lumefantrin

Der Name dieser Arzneistoffklasse leitet sich vom Grundgerüst der Verbindungen ab. Eine Aminopropanol- oder Aminoethanolfunktion ist am alkoholischen Kohlenstoff aromatisch substituiert. Eine Ausnahme bildet Lumefantrin, dies ist mit einem nicht aromatischen Ringsystem (Fluoren) substituiert (Abbildung 11).

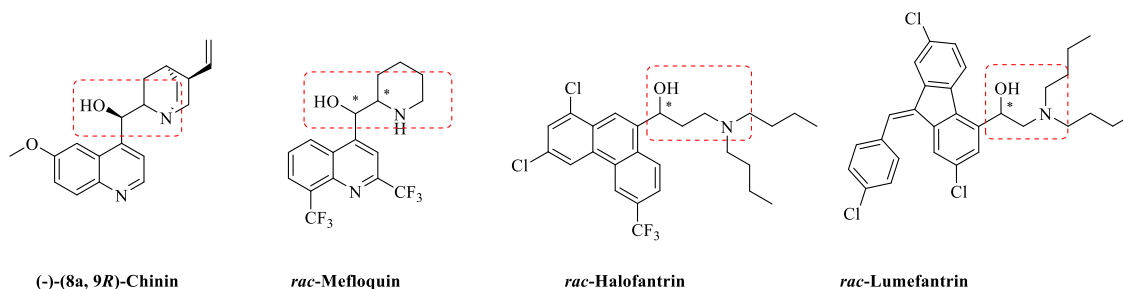


Abbildung 11. Als Arzneistoffe zugelassene Arylaminoalkohole.

Bereits im 17. Jahrhundert wurde die Rinde des Chinarindenbaumes, *Cinchona officinalis*, zur Therapie der Malaria eingesetzt. Dazu wurde zumeist die Rinde getrocknet und fein gemahlen, um sie anschließend durch suspendieren in einem alkoholischen Getränk, wie Wein, zu sich zu nehmen. Die Chinarinde enthält nicht nur Chinin, sondern auch die Stereoisomere des Chinins Chinidin, Chinchonin und Chinchonidin, die ebenfalls zur Substanzklasse der Arylaminoalkohole gehören. Chinidin, Chinchonin und Chinchonidin besitzen wie Chinin eine antiparasitäre Wirkung.⁵¹ 1820 isolierten *Pierre Joseph Pelletier* und *Joseph Caventou* den Reinstoff Chinin.⁵² Letztendlich setzte sich 1890 Chinin aufgrund seines hohen Gehaltes im Rindenextrakt als Antimalariatherapeutikum durch.^{51d}

1989^e brachte die Firma Hofmann-La Roche das Arylaminoalkoholderivat Mefloquin (Lariam®) auf den Markt, welches zusammen mit der US Army während des Vietnam Krieges entwickelt wurde.^{53,f} Mefloquin ist ein sehr gut antiplasmodial wirkender Arzneistoff (*Pf3D7* IC₅₀: 0.0065 µM), welcher aber teilweise schwerwiegende Nebenwirkungen besitzt, die sich u.a. in neurotoxischen Effekten äußern. Daher wird für

^d Zu dieser Zeit wechselte man in der Anwendung von der südamerikanischen zur javanischen Chinarinde, die einen höheren Gehalt an Chinin aufwies.

^e Die Angabe bezieht sich auf das Jahr der Zulassung durch die FDA; Drugs@FDA: FDA zugelassene Arzneimittel. New Drug Application (NDA): #019591

^f Einrichtung: Experimental Therapeutics Division of the Walter Reed Army Institute of Research (WRAIR) in Washington, DC.

Mefloquin heute ein Medikationshandbuch empfohlen, welches den Patienten über die Nebenwirkungen informiert

Kurze Zeit später beschrieb das Forschungsinstitut der US Army zusammen mit SmithKline Beecham (heute GlaxoSmithKline) ein weiteres Arylaminoalkohol Derivat namens Halofantrin (Halfan®), welches 1992 durch die FDA zugelassen wurde.^{54,55,g} Jedoch traten zeitnah nach der Markteinführung nach der Einnahme von Halofantrin schwere Nebenwirkungen auf. Aufgrund einer QT-Zeit Verlängerung stellte sich Halofantrin als kardiotoxisch heraus. Dies führte dazu, dass Halfan® vom Hersteller nicht mehr vermarktet wird.

Der Arzneistoff Lumefantrin wurde von der Beijing Academy of Militar Sciences entwickelt und durch Novartis 1999 als Riamet® in Kombination mit Artemether auf den europäischen Markt gebracht.^h Eine Kooperation zwischen Novartis und den chinesischen Behörden führte zur Entwicklung und klinischen Evaluation von Coartem® Dispersible, einem Kombinationspräparat aus Artemether/Lumefantrin, welches vor allem für die pädiatrische Anwendung geeignet ist und 2009 zugelassen wurde.^{56,57} Die Kombination von Lumefantrin mit dem Artemisinin-Derivat Artemether weist synergistische Effekte auf. Die Arzneistoffe haben eine unterschiedliche Pharmakokinetik. Artemether wirkt sehr schnell ($t_{\max}$: 2 h), aber nur kurzweilig (Plasmahalbwertszeit ($t_{1/2}$): 2 h), Lumefantrin verweilt, aufgrund seiner hohen Lipophilie, länger im Körper ($t_{\max}$: 6–8 h, $t_{1/2}$: 2–6 Tage).⁵⁸ Nicht von Artemether erfasste Parasiten im Körper können so durch Lumefantrin bekämpft werden, sodass Risiko von Residuen minimiert wird. Dies ist ein neuer Ansatz zur Verhinderung der Resistenz, bis heute sind keine Fälle einer A/L Resistenz bekannt.^{56,59}

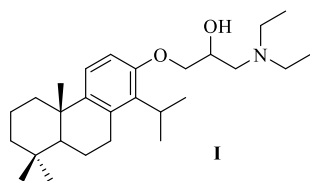
Alle Arylaminoalkohole besitzen nur eine blutschizontoide Wirkung, sind also gegen die asexuellen Stadien der Plasmodien aktiv. Eine leberschizontoide Wirkung besteht nicht, sodass eine kausal prophylaktische Anwendung mit dieser Arzneistoffklasse nicht möglich ist.

^g NDA: #020250

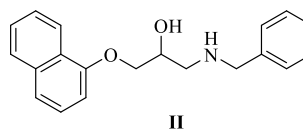
^h Riamet wurde 1999 in der Schweiz zugelassen, in Deutschland erfolgte die Zulassung 2001.

1.4.2 Neue Arylaminoalkohol Analoga

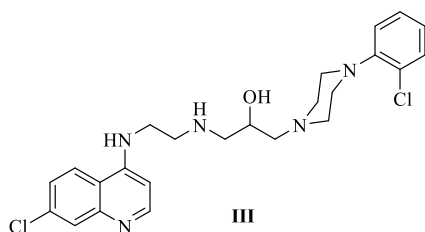
Die vorangegangenen Worte zeigen, wie wichtig es ist, neue, potente Arylaminoalkohole zu entwickeln. *Chibale* und Mitarbeiter nahmen als Ausgangssubstanz das Diterpen Tatarol, welches antimikrobielle Eigenschaften aufweist und fügten ein Aminoalkoholelement ein, um **I** zu generieren. Ein Austausch des Tatarolgrundkörpers gegen einen Naphthylsubstituenten ergab eine Aktivitätsabnahme (**II**).⁶⁰ Die Arbeitsgruppe modifizierte die Leitstrukturen **I** und **II** weiter und nahmen sich die Strukturen der 4-Aminochinoline (Chloroquin) und Arylaminoalkohole (cyclische, aliphatische Amine: Chinin, Mefloquin) als Vorbild. Dies führte zum antiplasmodial aktiven Derivat **III** (*Pf3D7*: 0.0008 μM).⁶¹ *Galiano* und Mitarbeiter nahmen ebenfalls einen Piperazinbaustein als basische Komponente und entwickelten das Arylaminoalkohol Analogon **IV**. **IV** wies bei einer *in vivo* Evaluation eine sehr gute Parasitämiereduktion von 98 % auf.⁶²



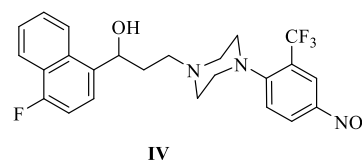
PfD10 IC_{50} : 0.61 μM , vgl. MFQ: 0.018 μM



PfD10 IC_{50} : 5.18 μM , vgl. MFQ: 0.018 μM



Pf3D7 IC_{50} : 0.0008 μM , vgl. CQ: 0.015 μM



PfFCR3 IC_{50} : 0.15 μM , vgl. CQ 0.13 μM
PR: 98 %, MSD: > 35 d

Abbildung 12. Auswahl neuer Arylaminoalkohole (**I–IV**) mit antiplasmodialer Wirkung.

1.4.3 Die Hämazoin-Inhibitions-Hypothese

Obwohl noch nicht abschließend belegt, gibt es viele Hinweise dafür, dass Arylaminoalkohole, wie auch das 4-Aminochinolinderivat Chloroquin Hämatin¹ bzw. den Hämatin Kristall, das sogenannte Hämazoin targetieren.^{63–66}

Befällt der Parasit die Erythrozyten, so verdaut dieser Hämoglobin, um die Aminosäuren des Globins als Nahrungsquelle zu nutzen. Das dabei anfallende Häm oxidiert spontan zu Hämatin (HO–Fe[III]PPIX), welches für die Parasiten toxisch ist.⁶⁷ Hämatin kann von ihnen nicht, anders als beim Menschen, durch eine Oxygenase (Hämoxygenase) abgebaut werden. Daher kommt es zu einer Kumulation von Hämatin in der sauren Nahrungsvakuole der Plasmodien. Dieses polymerisiert zum nicht toxischen Hämazoin. Hämazoin fällt als kristalline Form in der Nahrungsvakuole der Parasiten aus und bildet das sogenannte Malaria Pigment (Abbildung 13). Im Trophozoitenstadium der erythrozythären Lebensphase der Plasmodien ist das Malariapigment als dunkler Fleck in infizierten Erythrozyten unter einem Lichtmikroskop zu erkennen.

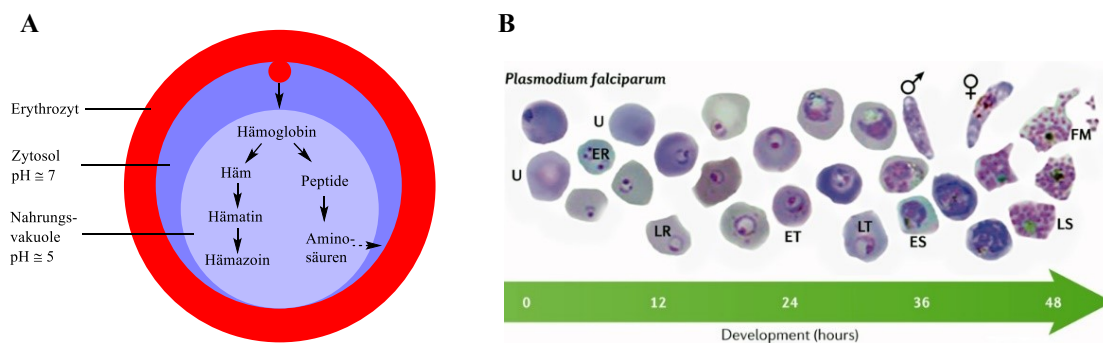


Abbildung 13. A. Schematische Darstellung des Hämabbaus durch *P. falciparum*. B. Lichtmikroskopische Aufnahme von mit *Plasmodium falciparum* infizierten Erythrozyten, modifiziert nach Phillips et. al.⁸ (U: nicht infizierter Erythrozyt, ER: frühes Ringstadium, LR: spätes Ringstadium, ET: frühes Trophozoitenstadium, LT: spätes Trophozoitenstadium, ES: früher Schizont, LS: später Schizont, FM: freie Merozoiten)

Arylaminoalkohole besitzen schwach basische Eigenschaften, sodass sie sich aufgrund der positiven Ladung in der sauren Nahrungsvakuole der Plasmodien anreichern. Nach dem jetzigen Wissensstand inhibieren Arylaminoalkohole die Polymerisation von Hämatin zu Hämazoin, indem sie an Hämatin koordinieren. Dadurch reichert sich das toxische Hämatin (OH-Fe(III)PPIX) an, welches daraufhin mit enzymatischen Prozessen und der Zellmembran der Plasmodien interferieren kann.⁶⁸

¹ Hämatin ist ein Hydroxoeisen(III)-Porphyrin-Koordinationskomplex der beim Abbau von Hämoglobin durch den Parasiten entsteht.

De Villiers et al. konnten zwei Kristallstrukturen mit den Arylaminoalkoholen Chinin und Halofantrin isolieren, die zeigen, wie die Wirkstoffe an Fe(III)PPIX binden.^{69,70} Dabei koordiniert die Hydroxylgruppen der Arylaminoalkoholstruktur an das zentrale Eisen-Ion und es entstehen 5-gliedrige Komplexe. Die aromatischen Substituenten, das Chinolingrundgerüst des Chinins, sowie die Phenanthrenstruktur des Halofantrins wechselwirken über π - π -stacking mit den aromatischen Porphyrinringen. Die tertiären Amine liegen bei einem $\text{pH} \leq 5$ zu $> 99\%$ protoniert vor^j und interagiert mit der Carboxylatfunktion der Propionatstruktur des Porphyrinrings.

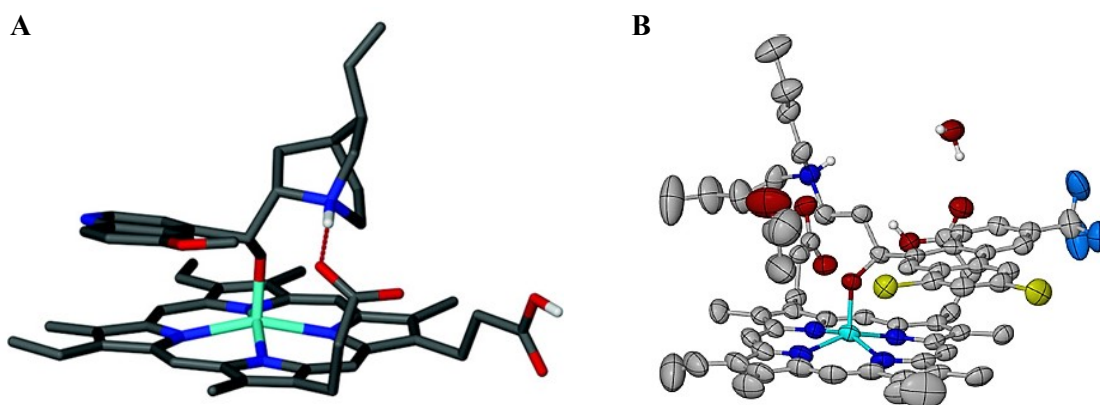


Abbildung 14. Kristallstrukturen von Chinin (A) und Halofantrin (B) mit Fe(III)PPIX, modifiziert nach *de Villiers et al.*^{69,70}

1.4.4 Die Besonderheit des Mefloquins

Mefloquin ist, anders als Chinin, als racemisches Gemisch im Handel. Die Studienlage belegt nicht eindeutig, ob eines der beiden Enantiomere aktiver gegen die asexuellen Blutstadien von *Plasmodium falciparum* ist. Einige Studien bewerten die Enantiomere als äquipotent⁷¹, wohingegen andere (+)-MFQ eine um den Faktor 1.69–1.95 höhere Aktivität als (-)-MFQ gegenüber *Pf3D7/PfDd2* zuschreiben.⁷² Eindeutiger beschrieben sind die Unterschiede der beiden Enantiomere in der Pharmakokinetik. Dazu gehört eine längere Halbwertszeit des (-)-MFQ im Vergleich zum (+)-MFQ (531 h vs. 206 h).⁷³ Die Enantiomere besitzen eine unterschiedliche zerebrale Aufnahme ((+)-MFQ penetriert besser durch die Blut-Hirn-Schranke als (-)-MFQ).⁷⁴ Mefloquin bindet an verschiedene Rezeptoren im ZNS, unter anderem an GABA_A-, Serotonin- (5-HT₃)⁷⁵ und Adenosin

^jBerechnet mittels Henderson-Hasselbalch-Gleichung und einem pK_s Wert von 8.8 für den Chinuclidinstickstoff des Chinins.

Rezeptoren (A_{2A})^{76,77}, wobei auch hier Unterschiede in der Bindungsaffinität zwischen den Enantiomeren bestehen (A_{2A} : (+)-MFQ: 1.8 μ M, (-)-MFQ: 0.0044 μ M).⁷⁷

Die sich daraus ergebenden pharmakologischen Unterschiede stehen in Zusammenhang mit den bei der Einnahme von *rac*-Mefloquin auftretenden zerebralen Nebenwirkungen (Depression, Angstzustände, Psychosen). 2013 führte die FDA daraufhin eine „black box“ Warnung für Mefloquin ein. Das bedeutet, eine schwarze Umrandung der Fachinformation warnt vor den psychiatrischen Nebenwirkungen bei der Einnahme von Mefloquin. *Fletcher et al.* reichten 2003 ein Patent zur Anwendung von (+)-MFQ ein.⁷⁸

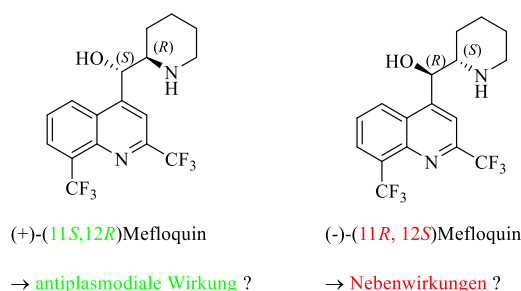


Abbildung 15. (+)- und (-)-Mefloquin, modifiziert nach *Schmidt et al.*⁷⁹

Das eingangs erwähnte Gen *Pfmdr1* wird als Hauptursache für die Mefloquinresistenz angesehen. Mehrere Studien zeigten, dass die durch dieses Gen kodierte Effluxpumpe Pgh-1 dafür sorgt, dass der Wirkstoff aus dem Zytosol gepumpt wird und so nicht mehr für eine Wirkung zur Verfügung steht. Diese Konzentrationssenkung im Cytosol korreliert mit der MFQ Resistenz.^{26,80,81} *Wong et al.* zeigten, dass eine direkte Bindung von (+)-Mefloquin an die 80S Untereinheit des zytosolischen Ribosoms von *P. falciparum* stattfindet und somit eine Wachstumsinhibition erreicht wird.⁸² Die Wechselwirkungen sind folgende: Leucin (Leu15) und Isoleucin (Ile42) interagieren über hydrophobe Wechselwirkungen mit der Trifluormethylgruppe an C-8, wohingegen die CF_3 Gruppe an C-2 mit den aromatischen Resten von Phenylalanin (Phe56) und Tyrosin (Tyr53) interagiert. Der Chinolinring wird durch eine Kation- π Interaktion mit einem Magnesiumion stabilisiert. Die OH-Gruppe der Aminoalkoholstruktur bildet eine Wasserstoffbrücke (WBB) mit einem Phosphatrest aus, wohingegen das sekundäre Amin eine WBB mit der Carboxylfunktion des Glutamats (Glu55) bildet.

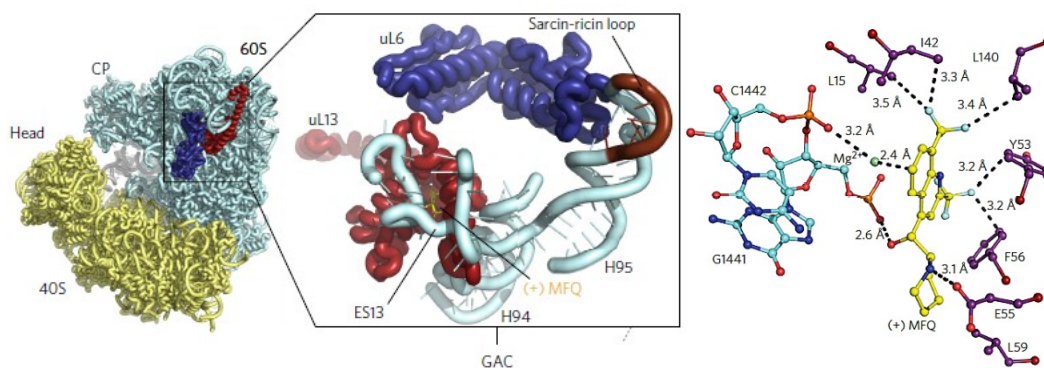


Abbildung 16. Atomares Modell der Interaktion von (+)-MFQ mit dem GTPase-assoziierten Zentrum der *P. falciparum* ribosomalen 80S Untereinheit, die Strukturaufklärung erfolgte mittels Kryo-Elektronenmikroskopie. Modifiziert nach Wong *et al.*⁸²

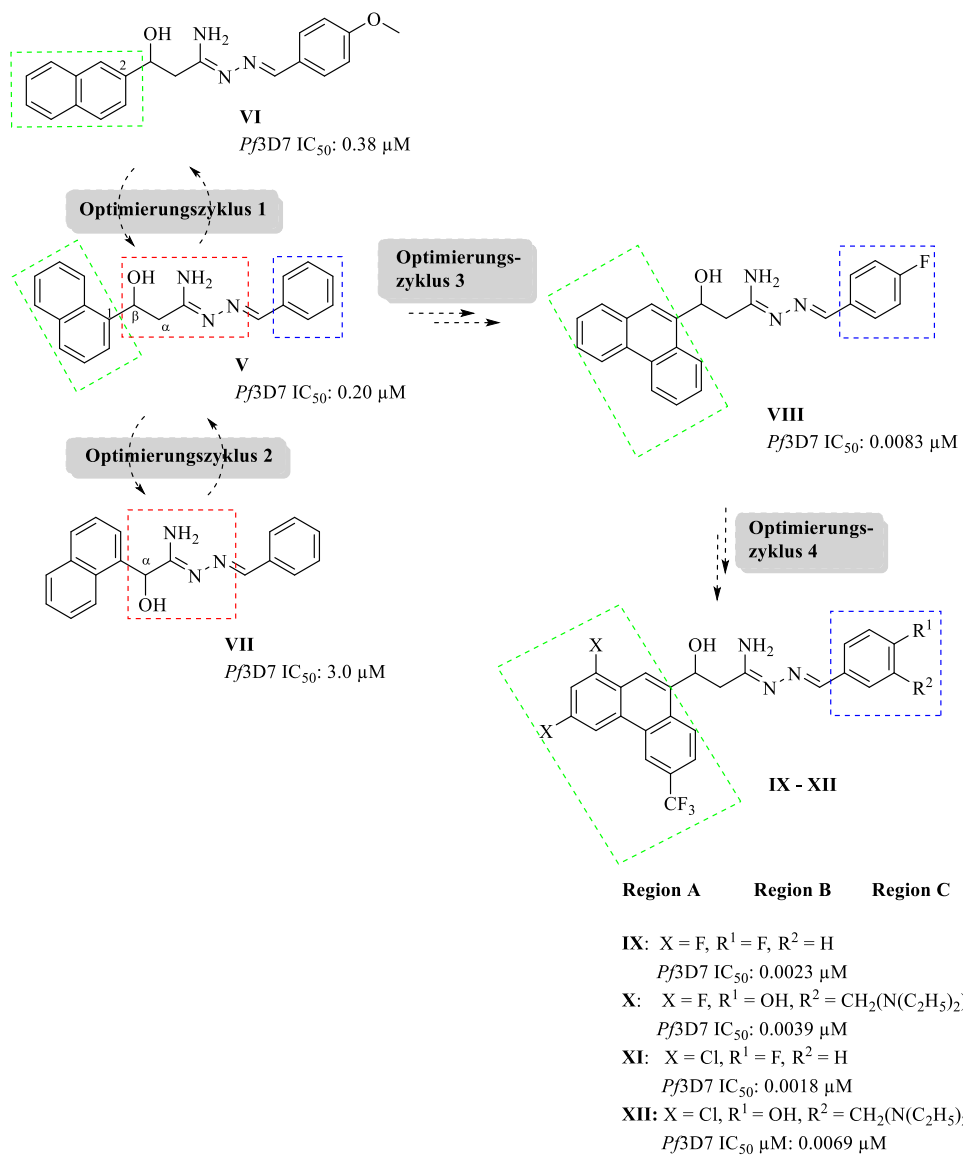
Abschließend lässt sich kein genaues Target für die antiplasmodial wirksamen Arylaminoalkohole Chinin, Mefloquin, Halofantrin und Lumefantrin definieren. Es lässt sich aber festhalten, dass sowohl die Hydroxyfunktion, als auch das sekundäre bzw. tertiäre Amin eine wichtige Rolle bei den postulierten Bindungsmöglichkeiten spielen. Der aromatische Substituent dient der Stabilisierung der Komplexe.

1.5 3-Hydroxy-*N'*-arylpropanhydrazonamide

Kurz und Mitarbeiter variierten in der Vergangenheit die Aminoalkoholstruktur, indem sie die aliphatisch substituierte Aminogruppe der Arylaminoalkohole durch eine Hydrazonamidstruktur ersetzten. Während eines Malariascreening Projektes von Heterozyklen und deren Vorstufen zeigte (1*Z,N'E*)-*N'*-Benzyliden-3-hydroxy-3-(naphthalen-1-yl)propanhydrazonamid (**V**) eine gute antiplasmodiale Aktivität (*Pf*3D7 IC₅₀: 0.20 µM) (Schema 1).⁸³ Leven *et al.* untersuchten anschließend die Auswirkungen des Austauschs des 1-Naphthylsubstituenten gegen 2-Naphthyl (**VI**). Dabei zeigte sich, dass die 1-naphthylsubstituierten Verbindungen im Vergleich zu den 2-naphthylsubstituierten eine geringere antiplasmodiale *in vitro* Aktivität zeigten. Eine α-, anstelle einer β-ständigen Hydroxyfunktion (**VII**) führte zu einer Abnahme der antiplasmodialen Aktivität (*Pf*3D7 IC₅₀: 3 µM).⁸⁴

Auf Grundlage dessen, diente Verbindung **V** als erneuter Ausgangspunkt, um nun den Naphthylsubstituenten als Ganzes auszutauschen. Als aktivste Verbindung stellte sich Verbindung **VIII** heraus, die einen Phenanthrensubstituenten aufwies (*Pf*3D7 IC₅₀: 0.0083 µM; vgl. Mefloquin: *Pf*3D7 IC₅₀: 0.0065 µM).^{84,85} Die vielversprechenden *in vitro*

Daten gaben Anlass **VIII** auch *in vivo* auf seine Wirksamkeit zu testen. Im *P. berghei* Mausmodell führte **VIII** zu einer Parasitämiereduktion von 99.6 % und einer mittleren Überlebenszeit von 10 Tagen, jedoch konnte keine Heilung erzielt werden.⁸⁴ Durch die Einführung von Halogenen (Cl, F) in das Phenanthrengrundgerüst wurden vier sehr potente Hydrazonamidderivate generiert (**IX–XII**, *Pf3D7* IC₅₀: 0.0018–0.0069 µM, *PfDd2*: 0.0025–0.0138 µM), von denen Verbindung **IX** im Mausmodell bei 2 von 3 Mäusen eine Heilung bewirkte (Peters' Test, 10 mg/kg KG, peroral).⁸⁵ Die Wirkung von **IX** gegen Leberstadien (*PfEEF*: 6.9 µM, vgl. *ATQ*: 0.3 µM) war sehr schwach, zeigte jedoch im nanomolaren Bereich Wirkung gegen die frühen Formen der gametozidalen Entwicklung (*PfRSG* IC₅₀: 0.066 µM, *CQ*: 0.017 µM; *PfESG* IC₅₀: 0.2 µM, vgl. *CQ*: 0.063 µM). Eine Untersuchung der differenzierten Wirkung bei männlichen und weiblichen Gametozyten zeigte keine Aktivität.⁸⁵ Somit lässt sich summieren, dass die Struktur **IX** eine sehr gute Aktivität gegen asexuelle Blutstadien aufweist, jedoch nur eine schwache bis keine gewebeschizontoide (kausal prophylaktische) und nur eine geringe gametozoide (transmissionsblockierende) Wirkung besitzt.

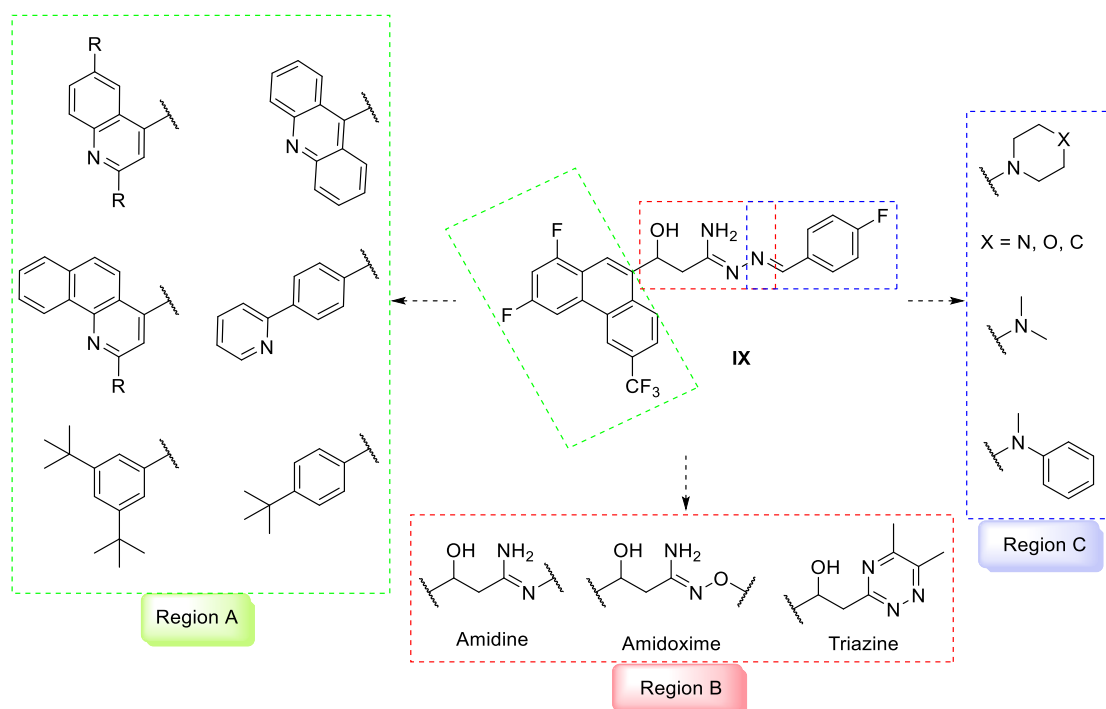


Schema 1. Optimierungszyklen der 3-Hydroxy-*N'*-arylidenepropanhydrazonamide.

1.6 Ziele der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit ist die Weiterentwicklung des ausgeprägt antiplasmodial wirksamen Arylaminoalkohol Derivates **IX**, welches eine 3-Hydroxypropanhydrazonamidstruktur aufweist und von *Leven* erstmalig beschrieben wurde (*Pf3D7* IC₅₀: 0.0023 μ M, *PfDd2* IC₅₀: 0.0029 μ M).⁸⁵

Die Leitstruktur **IX** lässt sich in drei Regionen einteilen (Schema 2). Region A besteht aus einem aromatischen Grundkörper (1,3-Difluor-6-trifluormethylphenanthrenstruktur, grün markiert), Region B ist gekennzeichnet durch ein 3-Hydroxypropanhydrazonamidstrukturelement (rot markiert) und Region C zeichnet sich durch einen 4-Fluorphenylrest aus, der über eine Iminobindung an den *N'* Stickstoff des Hydrazonamidstrukturelementes gebunden ist (blau markiert).



Schema 2. Geplante Strukturmodifikationen der Leitstruktur **IX**.

Alle drei Regionen (A-C) sollten modifiziert werden, um zum einen die antiplasmodiale Aktivität von **IX** zu steigern. Zum anderen sollten dadurch die physikochemischen Eigenschaften von **IX** (z.B. Wasserlöslichkeit) verbessert werden, unerwünschte Wirkungen (z.B. Aktivität am hERG- K^+ -Kanal^k) reduziert und weitere Struktur-

^k **IX** hat im hERG Fluoreszenz Polarisations Assay eine höhere Aktivität (0.067 μ M) als die Arylaminoalkohole Lumefantrin (0.377 μ M) und Halofantrin (0.156 μ M) gezeigt.⁸⁵ Der hERG- K^+ -Kanal ist ein Kalium-Kanal am Herzen, eine Interaktion mit diesem Kanal kann zu Herzrhythmusstörungen

Aktivitäts-Beziehungen (z.B. Wechselwirkungen mit dem vermuteten Target) untersucht werden.

Folgende Variationen wurden angestrebt: Das fluorsubstituierte Phenanthrengrundgerüst in Region A sollte durch Heteroaromaten (Chinolinderivate, Benzo[*h*]chinolin, 9-Methylacridin, 4-(Pyridin-2-yl)-phenyl) ausgetauscht werden. Die Integration eines Stickstoffatoms in ein anelliertes Ringsystem könnte, durch die Möglichkeit als Wasserstoffbrücken-Akzeptor zu fungieren, die Wasserlöslichkeit aromatischer Verbindungen erhöhen. Zudem wird durch den Einbau von Heteroatomen die Anzahl möglicher Wechselwirkungen erhöht. Des Weiteren sollte in Region A anstelle eines anellierten Ringsystems (Phenanthrenstruktur), ein mit Mono- oder Di-*tert*-butylstrukturen substituierter Benzenring (4-*tert*-Butylphenyl-, 3,5-Di-*tert*-butylphenyl-) als aromatischer Substituent eingebaut werden.

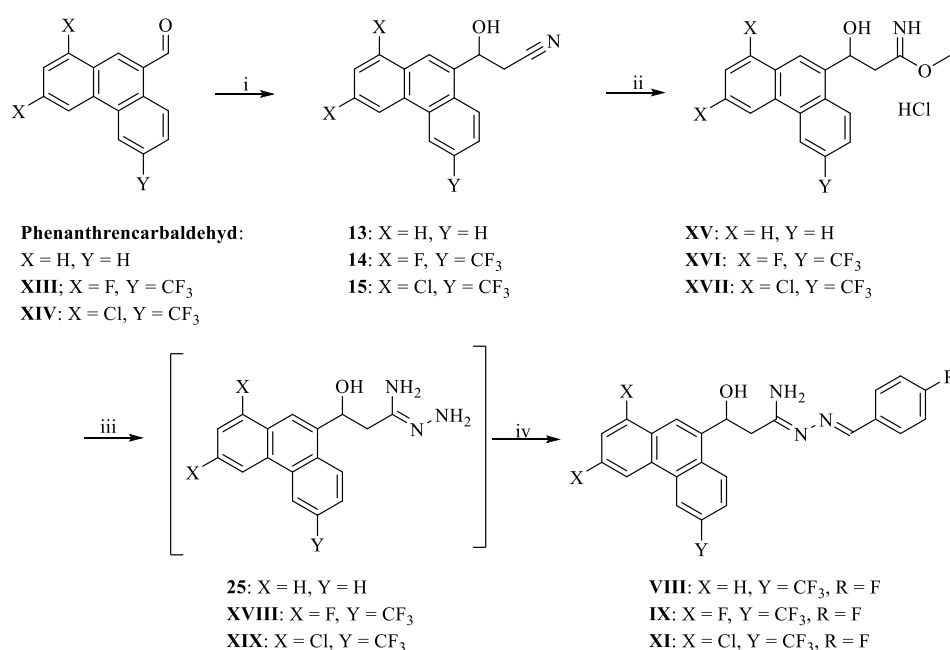
Die Region B Modifikationen sahen vor, dass die Hydroxyfunktion bestehen bleibt, während das Hydrazonamidstrukturelement durch Amidin-, Amidoxim- und 1,2,4-Triazinstrukturelemente substituiert werden sollte. Die unterschiedliche Basizität (Protonierungsgrad) dieser Strukturmerkmale und der Austausch des *N'* Stickstoffatoms im Hydrazonamidstrukturelement gegen ein Sauerstoffatom (Amidoximstrukturmerkmal) sollte Rückschlüsse auf die Struktur-Wirkungs-Beziehung zulassen. Zudem fällt durch den Austausch des Hydrazonamid- gegen ein Amidin- oder Amidoximstrukturelement die mögliche Liberation von Hydrazin im Körper weg, welche durch Hydrolyse- oder metabolische Reaktionen des Hydrazonamids stattfinden könnte.

In der Molekülregion C war ein Austausch der N=C Doppelbindung (Iminostruktur) gegen eine Zweifachsubstitution des *N'*-Stickstoffs vorgesehen (sp^2 - zu sp^3 -Hybridisierung), um die Gestalt eines sekundären/tertiärenamins, wie es in den Arylaminoalkoholen Chinin, Mefloquin, Halofantrin und Lumefantrin zu finden ist, nachzuahmen (Schema 2). Dies sollte eine Näherung der Molekülgestalt der neuen Derivate zu den Leitstrukturen der Arylaminoalkohole ergeben.

Die erstmalig von *Khankischpur* etablierte Synthese zur Darstellung von β -Hydroxyhydrazonamidderivaten, wurde von *Leven* zur Darstellung der Leitverbindungen **VIII**, **IX** und **XI** (Schema 3) weiterentwickelt.^{83–86} Diese

führen. Dem Arzneistoff Haloperidol wurde diese Eigenschaft zugeschrieben, sodass er vom Markt genommen wurde.

Syntheseroute sollte zur Darstellung neuer Zielverbindungen mit Modifikationen in den Regionen A, B und C in Teilen übernommen werden. Die Synthese der Leitstruktur **IX** und ihrer Derivate **VIII** und **XI** ging von den aromatischen Aldehyden Phenanthren-carbaldehyd, **XIII** und **XIV** aus, die weiter zu den β -Hydroxypropannitrilen **13–15** umgesetzt wurden. Nach säurekatalysierter Addition von Methanol an die Nitrile (*Pinner* Reaktion) konnten die entsprechenden Imidate als Hydrochloride **XV–XVII** gewonnen werden (Schema 3). Nach Freisetzung der Imidatbasen mittels Kaliumcarbonat-Lösung, wurden die Imidate mit Hydrazinmonohydrat zu den Amidrazonen **25**, **XVIII** und **XIX** umgesetzt. **25**, **XVIII** und **XIX** reagierten anschließend mit 4-Fluorbenzaldehyd zu den Hydrazonamidderivaten **VIII**, **IX** und **XI** (Schema 3).

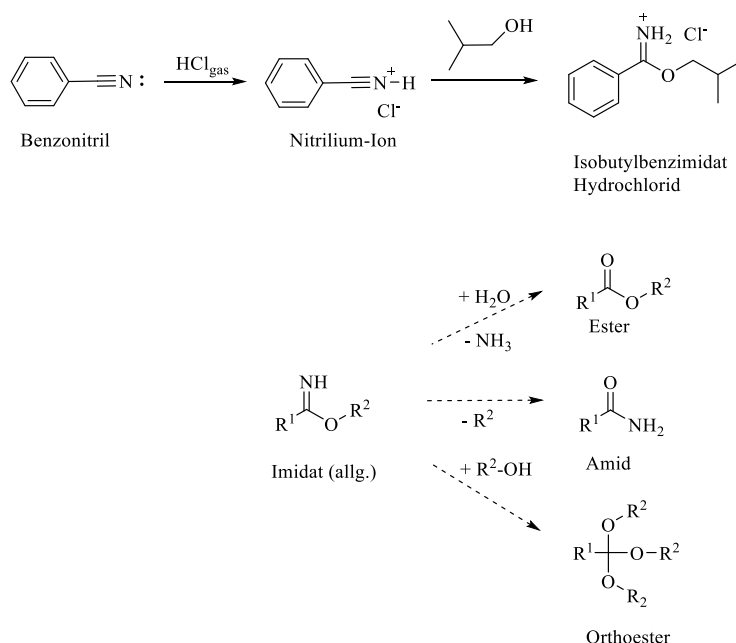


Schema 3. Synthese der Leitstrukturen **VIII**, **IX** und **XI**. i) 1.00 equiv. ACN, 1.10 equiv. *n*-Buli (1.6 M in *n*-Hexan), THF, -78 °C → RT. ii) MeOH, HCl_{gas}, CH₂Cl₂/THF, -10 °C → RT. iii) 1. K₂CO₃, Et₂O, 0 °C; 2. 1.00 equiv. N₂H₄·H₂O, CH₂Cl₂, 0 °C → RT. iv) 1.50 equiv. 4-F-PhCHO, CH₂Cl₂, RT.

Imidoester (Imidate, **XV–XVII**) sind reaktive Syntheseprodukte und zur Darstellung von Hydrazonamiden geeignet. Sie werden u.a. über die *Pinner* Reaktion dargestellt.^{87–89,1} 1877 beschrieben *Pinner* und *Klein*, dass beim Einleiten von gasförmiger Salzsäure in Isobutylalkohol und Benzonitril ein Imidoester-Hydrochlorid entsteht (Schema 4).^{87,90,91} Jedoch sind die harschen Reaktionsbedingungen, sowie die Toxizität und das Handling

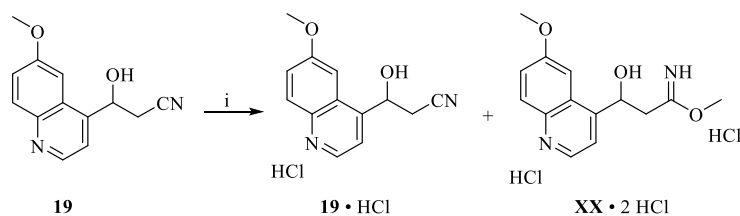
¹Eine weitere Möglichkeit zur Synthese von Imidaten ist die *O*-Alkylierung von Amiden mit Trialkyloxoniumtetrafluoroboraten, auch Meerwein-Salze genannt (Entdecker: Hans Leberecht Meerwein), die eine direkte Alkylierung des Sauerstoffs der Amidfunktion ermöglichen.

von gasförmiger Salzsäure Nachteile dieser Reaktion. Imidate sind des Weiteren über einen längeren Zeitraum nicht lagerstabil. Sie neigen zur Hydrolyse (Esterbildung) und Desalkylierung (Amidbildung). Ein Überschuss an Alkohol kann zu Orthoesterbildung führen und die Ausbeute verringern (Schema 4).



Schema 4. Die von *Pinner* und *Klein* beschriebene Darstellung des Isobutylbenzimidat Hydrochlorids, sowie Neben- und Zerfallsreaktionen des Imidatstrukturmerkmals.

Die Gewinnung von Methylimidat-Hydrochloriden aus 3-Arylpropanitrilen mit heteroaromatischer Substitution in Region A (**XX**·2HCl) war aufgrund des sich beim Hinzufügen von etherischer Salzsäure ausfallenden Chinolin-Hydrochlorids (**19**·HCl) nicht möglich (Schema 5).^{92,m} *Leven* beschrieb eine Co-Präzipitation von **19**·HCl und **XX**·HCl.⁹²



Schema 5. Nebenreaktion der *Pinner* Reaktion bei heterozyklisch substituierten 3-Hydroxypropanitrilen am Beispiel von **19**.

Aufgrund der beschriebenen Nachteile der Pinnerynthese und der Stoffklasse der Imidate sollte eine neue Synthesestrategie entwickelt werden. Diese Synthese sollte eine direkte

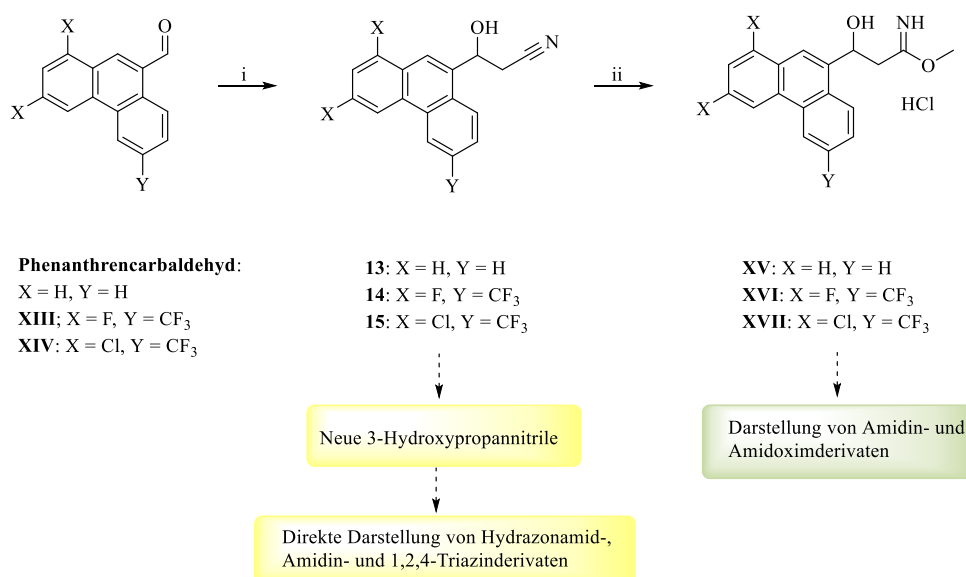
^m Die Verwendung halogenhaltiger Lösungsmittel oder methanolischer Salzsäure führte ebenso wenig zum Produkt.

Umsetzung eines in Region A heteroaromatisch substituierten β -Hydroxynitrils mit Hydrazin zum Amidrazon ermöglichen. Nitrile sind lagerstabile Carbonsäurederivate und stellen wichtige *building blocks* in der Synthesechemie dar.⁹³ Demnach sollten neue β -Hydroxynitrile hergestellt und diese zu Hydrazonamid-, Amidin- und 1,2,4-Triazinderivaten umgesetzt werden (Schema 6, gelb markiert).

Trotz der aufgeführten Nachteile, sind Imidate wichtige Synthesezwischenprodukte, um aus ihnen Carbonsäurederivate zu generieren. Daher sollten die Imidat Hydrochloride **XV–XVII**, welche eine Phenanthrenstruktur in Region A aufweisen, zur Darstellung von Amidin- und Amidoximderivaten dienen (Schema 6, grün markiert).

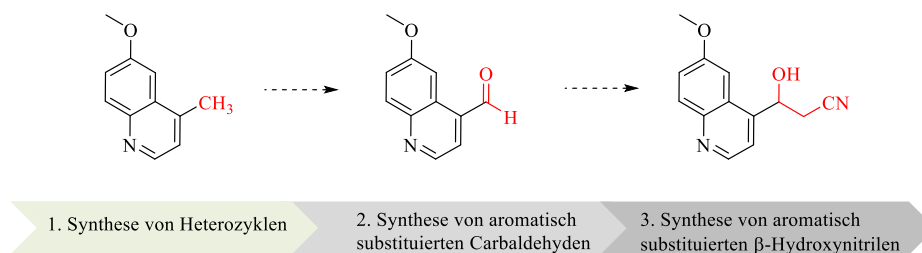
Das Ziel dieser Arbeit war demnach, die Herstellung neuer Arylaminoalkohol Analoga durch zwei verschiedene Syntheserouten zu realisieren (Schema 6).

Auszug des Syntheschemas der Leitverbindungen **VIII**, **IX** und **XI**



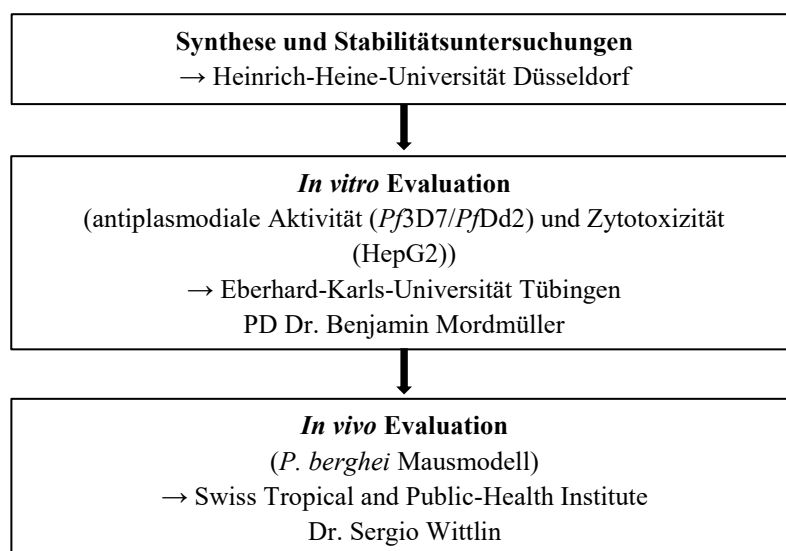
Schema 6. Syntheseplanung zur Darstellung der Zielverbindungen.

Die Eduktsynthese zur Darstellung der Zielverbindungen sollte mit der Synthese von methylsubstituierten Chinolinderivaten (Methoxy- und Trifluormethylsubstituierte Chinoline, Benzo[*h*]chinoline, 9-Methylacridin) beginnen (dargestellt am Beispiel ausgehend von 6-Methoxy-4-methylchinolin, Schema 7). Anschließend sollten durch Oxidation der Methylgruppen (hetero)aromatische Carbaldehyde synthetisiert werden, um diese nachfolgend mit dem bekannten Syntheseprotokoll von *Khankischpur* zu den entsprechenden Nitrilen umzusetzen.



Schema 7. Syntheseplanung der Edukte, dargestellt am Beispiel ausgehend von 6-Methoxy-4-methylchinolin (die entscheidenden Strukturelemente sind rot markiert).

Alle neuen Arylaminoalkohol Analoga sollten durch kooperierenden Arbeitsgruppen *in vitro* auf ihre antiplasmodialen und zytotoxischen Eigenschaften getestet werden. Ausgewählte, antiplasmodial aktive Verbindungen sollten auf ihre chemische Stabilität unter Lager- und Assaykonditionen untersucht werden. Hochaktive Verbindungen mit einem guten Selektivitätsindex sollten ausgewählt werden, um diese *in vivo* durch Kooperationspartner am *P. berghei* Mausmodell auf ihre Wirksamkeit zu testen (Schema 8).

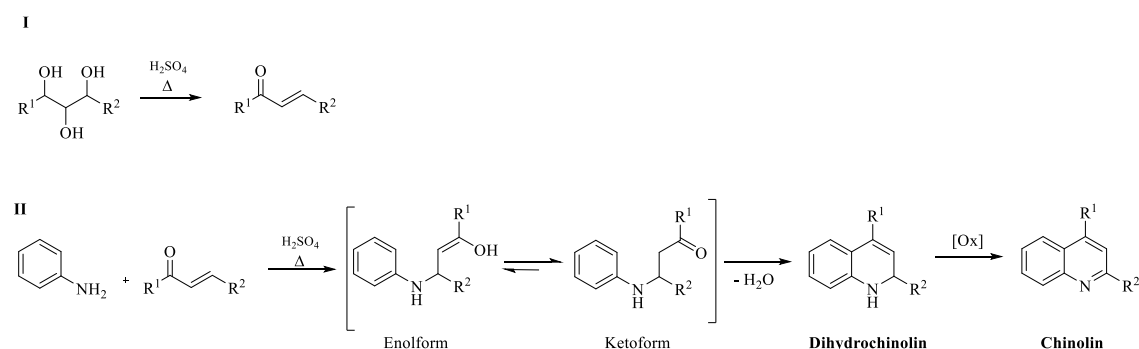


Schema 8. Darstellung der Zusammenarbeit zur biologischen Evaluation neuer Zielverbindungen.

2 Darstellung der Edukte 1-23

2.1 Darstellung der Chinolinderivate 1-5

Die bekanntesten Namensreaktionen zur Synthese von 2,4- und 2,3,4-substituierten Chinolinen sind die *Combes* Synthese und die *Skraupsche* Chinolinsynthese. *Skraup* setzte in seinen ersten Beschreibungen Anfang 1880 vicinale Alkohole ein, die intermediär zu α , β -ungesättigten Ketonen/Aldehyden dehydratisierten (Schema 9, I). Der sich bildende Michaelakzeptor reagiert anschließend mit einem aromatischen Amin unter Säurekatalyse und Wasserabspaltung zum Dihydrochinolin. Dieses wird in der ursprünglich von *Skraup* beschriebenen Synthese mittels Nitroethan zum Chinolin oxidiert (Schema 9, II).^{94,95} Die *Doebner Miller* Synthese wurde 1881 als Optimierung der *Skraup* Synthese entwickelt, da mit der Synthese nach *Skraup* nur niedrige Ausbeuten erzielt wurden. Bei dieser Vorgehensweise wird direkt ein α , β -ungesättigtes Keton oder ein Aldehyd mit einem aromatischen Amin zur Reaktion gebracht.

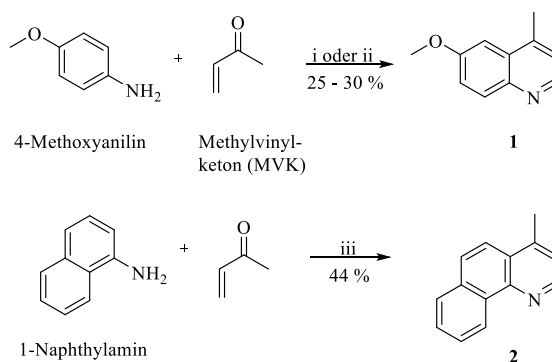


Schema 9. Chinolinsynthese nach *Skraup* (I + II) und *Doebner-Miller* (II).

Die *Skraupsche*- bzw. *Doebner-Miller*-Chinolinsynthese wurde in den letzten Jahrzehnten mehrfach modifiziert, um die Ausbeute zu erhöhen. Dabei wurden sowohl verschiedene Säuren (Essigsäure, Borsäure), verschiedene Oxidationsmittel (Arsensäure, Eisenoxid), als auch die Mikrowellensynthese angewendet.⁹⁵⁻⁹⁷ 1960 beschrieb *Fiedler* die Umsetzung von Anilinderivaten mit Aldehyden und Ketonen unter Verwendung von Polyphosphorsäure (PPA) als Lösungsmittel, um substituierte Chinoline in größerem Maßstab zu generieren.⁹⁸ Die Verwendung von PPA sollte in dieser Arbeit Anwendung finden, da die meisten Variationen der *Skraup* und *Doebner-Miller* Synthese, die Verwendung von Arsen^{99,100} oder verschiedenen anorganischen Katalysatoren wie Indium(III)chlorid, Cobalt-, Wolfram- oder Eisensalzen vorsehen. Diese wurden aufgrund ihrer Toxizität (Arsen) ausgeschlossen oder wegen geringer Ausbeuten

(Wolframatophosphorsäure¹⁰¹, Indiumchlorid¹⁰²) nicht weiter verfolgt (Ausbeute < 10 %). Chinolinderivate wurden in der Literatur außerdem mit PPA und Ethanol als weiteres Lösungsmittel hergestellt¹⁰³, dies erzielte aber bei einem Syntheserversuch geringere Ausbeuten (< 15 %) als die Synthesedurchführung nach *Fiedler*⁹⁸ und *Shiraki et al.*¹⁰⁴ bei der ohne weiteres Lösungsmittel als PPA gearbeitet wurde (30–44 %).

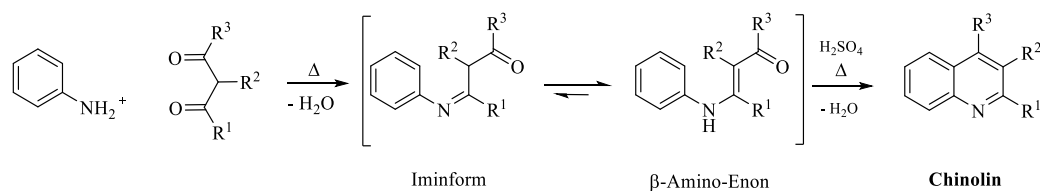
Die Synthese der Heteroaromaten **1** und **2** wurde in Anlehnung an die Synthesen von *Skraup* und *Doebner-Miller* durchgeführt, indem als Keton Methylvinylketon verwendet wurde, um eine Methylgruppe in Position 4 zu generieren. Als aromatische Amine wurden 4-Methoxyanilin (**1**) und 1-Naphthylamin (**2**) eingesetzt (Schema 10). Durch Zusatz von Phosphorsäure zur Polyphosphorsäure ließ sich die Ausbeute der Verbindung **1** von 15 % auf 30 % erhöhen.



Schema 10. Darstellung der Chinolinderivate **1** und **2** nach *Skraup/Doebner-Miller*. i) 2.00 equiv. MVK, PPA/H₃PO₄, 100 °C, 42 h; oder ii) 1. 1.00 equiv. FeCl₃, 1.10 equiv. MVK, CH₃COOH, 70 °C, 1 h; 2. 1.00 equiv. ZnCl₂, Reflux, 2 h. iii) 2.00 equiv. MVK, PPA, 120 °C, 36 h.

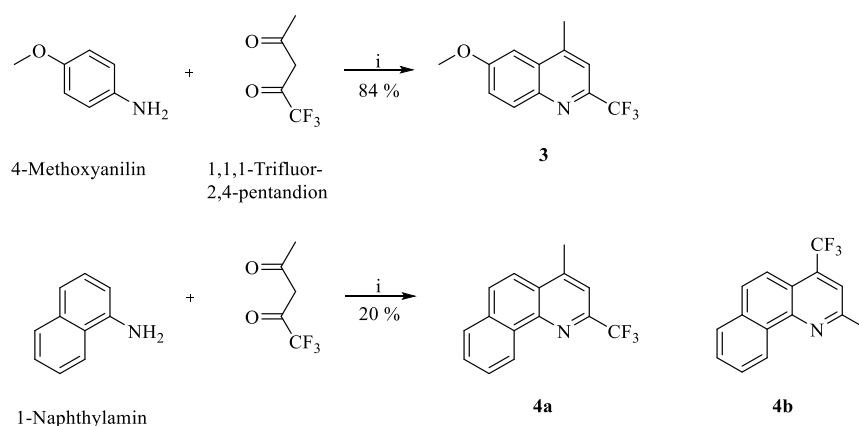
Um eine weitere Synthese zur Darstellung von **1** zu untersuchen und so ggf. eine Ausbeuteerhöhung zu erzielen, wurde die Umsetzung von 4-Methoxyanilin mit Methylvinylketon und *activated silferc* nach *Madugula* durchgeführt.¹⁰⁵ Hierbei wurde der Prozess des *Co-Grindings* angewendet, indem wasserfreies Eisen(III)chlorid mit Kieselgel verrieben und 6 Stunden bei 80 °C aktiviert wird. Die Ausbeute (25 %) dieser Reaktion war geringer, als bei der Reaktion mit PPA (30 %).

Bei der Chinolinsynthese nach *Combes* reagiert ein Anilinderivat direkt mit einem β-Diketon, wobei sich nach Wasserabspaltung ein Imin bildet, welches zu einem β-Amino-Enon tautomerisiert. Dieses zyklisiert in Anwesenheit von Schwefelsäure anschließend zum Chinolin (Schema 11).



Schema 11. Chinolinsynthese nach *Combes*.

Die Chinolinderivate **3** und **4**, die einen Methylsubstituenten in Position 4 und zusätzlich eine Trifluormethylgruppe in Position 2 tragen, wurden durch die Umsetzung von 4-Methoxyanilin und 1-Naphthylamin mit 1,1,1-Trifluor-2,4-pentandion (TFPD) realisiert (*Combes* Variante, Schema 12).



Schema 12. Darstellung der Chinolinderivate **3** und **4**. i) 1.50 equiv. TFPD, PPA, 120 °C, 36 h.

Obwohl eine Reaktion mit 1,1,1-Trifluor-2,4-pentandion theoretisch zwei Konstitutionsisomere generieren kann, wurde **3** als reines Isomer in guter Ausbeute (84 %) isoliert (Schema 11). Das NOESY Spektrum zeigte deutlich, dass es sich bei dieser Verbindung um 6-Methoxy-2-trifluormethyl-4-methylchinolin (**3**) handelt (Abbildung 17). Dies wurde vor allem durch die Kopplung von H-11 mit H-6, sowie H-11 mit H-9 deutlich.

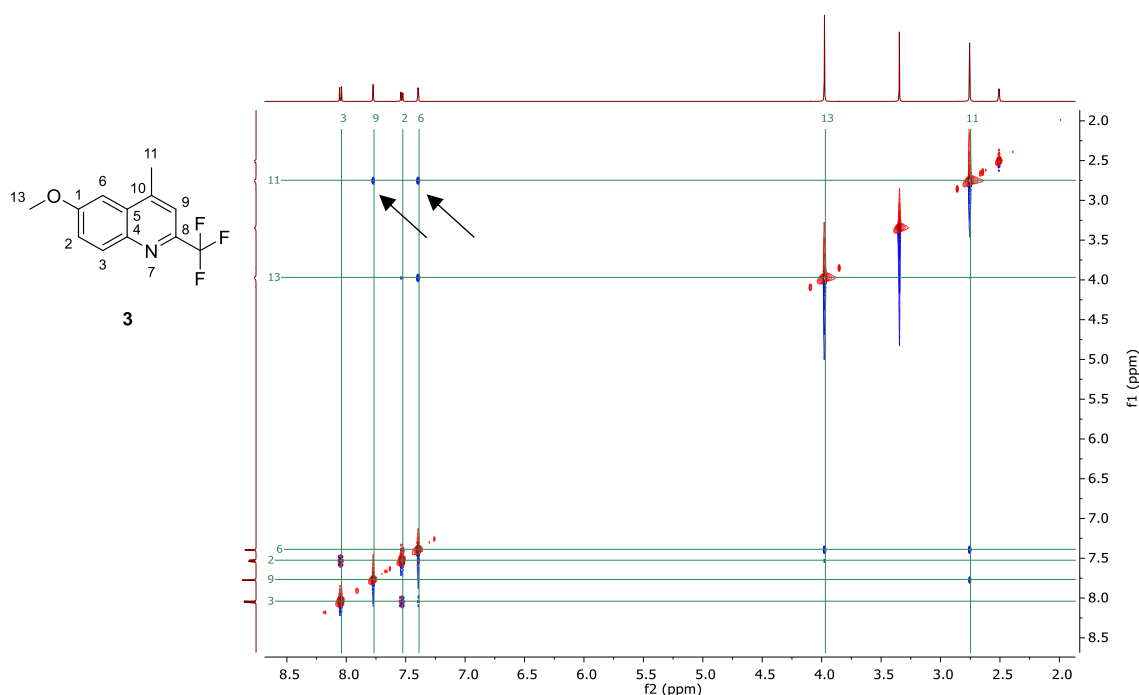


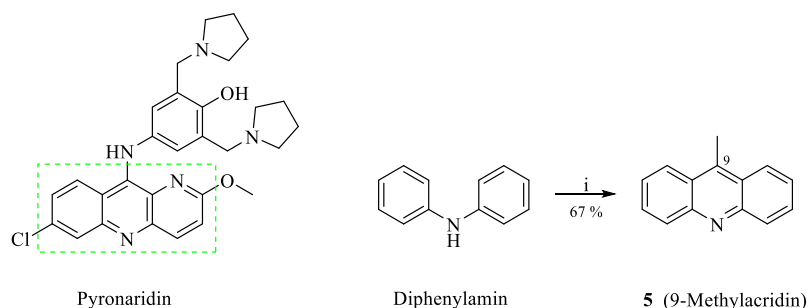
Abbildung 17. NOESY Spektrum von **3** (aufgenommen in DMSO- d_6).

Bei der Synthese von **4** bildete sich zunächst ein grünliches Gemisch der beiden Konstitutionsisomere (**4a**, **4b**, Schema 11), wie es auch *Sloop et al.* beschreiben.¹⁰³ Die beiden Isomere wurden mittels Umkehrphasen-Säulenchromatographie getrennt. Das gewünschte Isomer **4a** konnte mittels 2D NMR Experiment (HSQC, HMBC) identifiziert werden. Aufgrund der geringen Ausbeute von **4a** (< 5 %) und der aufwendigen Trennung der beiden Isomere **4a** und **4b**, wurde diese Verbindung jedoch nicht als weitere Ausgangsverbindung verwendet.

Polyphosphorsäure wurde erst ab einer Temperatur von 70 °C zu einer rührbaren Masse. Die eingesetzten Ketone polymerisierten vermutlich durch die Zufuhr von Wärme, wodurch die Reaktionsansätze schwarz-öliger wurden. Daher war es wichtig, zum Zeitpunkt des Hinzutropfens von MVK und TFPD, einen homogenen Ansatz zu generieren. Dies wurde erreicht, indem das aromatische Amin vor Verwendung fein verrieben wurde, um die Benetzbarkeit der Oberfläche zu vergrößern. Die Reaktionsansätze mussten aufgrund der Nebenprodukte mehrfach säulenchromatographisch gereinigt werden.

Da *Kurz* und Mitarbeiter in der Vergangenheit bereits einen Anthracensubstituent anstelle eines Phenanthrenringsystems in Region A (**IX**) eingebaut hatten und diese Hydrazonamidderivate antiparasmodial aktiv waren (unveröffentlichte Daten), sollte als weitere heterozyklische Modifikation in Region A ein 9-Methylacridin als Substituent in

Region A integriert werden. Zudem ist das Strukturmerkmal der Acridine aus dem Malariawirkstoff Pyronaridin (Pyramax®) bekannt.ⁿ Zur Darstellung von **5** wurde die Synthese nach *Bernthsen* angewendet, bei der Diphenylamin mit Essigsäure unter Lewisäurekatalyse (ZnCl_2) zur Reaktion gebracht wurde (Schema 13).¹⁰⁶



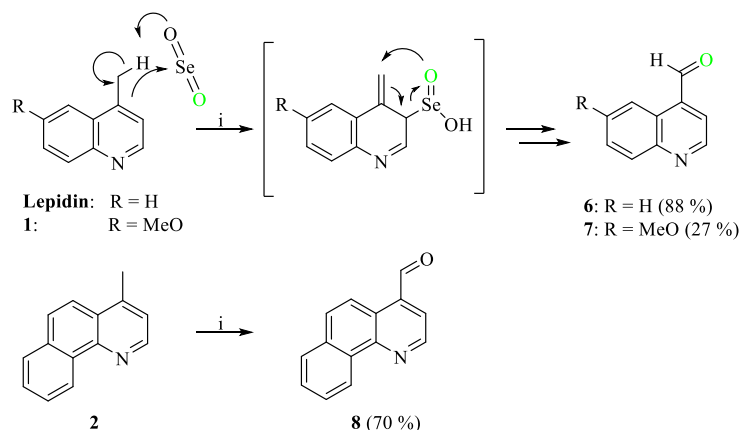
Schema 13. Darstellung von 9-Methylacridin (**5**) nach *Bernthsen*.¹⁰⁶ i) 3.00 equiv. CH_3COOH , 5.00 equiv. ZnCl_2 , 200 °C, 24 h.

2.2 Darstellung der aromatischen Aldehyde 6–10

Zur Darstellung der aromatischen Aldehyde **6–10** wurden Methylsubstituenten in Position 4 (Lepidin, **1**, **2**, und **3**) und 9 (9-Methylacridin (**5**)) aus den zuvor gewonnenen Heterozyklen (**1–3** und **5**), sowie die Methylgruppe in Position 1 des 3,5-Di-*tert*-butyltoluen als Ausgangsstrukturmerkmal oxidiert.

Die direkte Oxidation einer Methylgruppe zum Aldehyd erfordert stärkere Oxidationsbedingungen, als z.B. die Oxidation eines primären Alkohols zum Aldehyd. Als Oxidationsmittel werden häufig Übergangsmetalle (Bsp.: Cr(IV))¹⁰⁷ oder das Chalkogen Se(IV) ^{108,109} verwendet. Die benzyliche Lage einer Methylgruppe zum Aromaten begünstigt eine Oxidationsreaktion, sodass die heteroaromatischen Verbindungen Lepidin, **1** und **2** direkt mittels Selendioxid in einer Einstufensynthese zu den Aldehyden **6–8** umgesetzt werden konnten (Schema 14).

ⁿ Pyronaridin ist ein Amodiaquin-Analogon (ein Antimalariawirkstoff aus der Klasse der 4-Aminochinoline).



Schema 14. Darstellung der heteroaromatischen Aldehyde **6–8**. i) 1.50 equiv. SeO_2 , 0.10 equiv. TBHP (5 M in Decan), Dioxan/ H_2O (9:1, V/V), Reflux, 8–16 h.

Die Verwendung von Selendioxyd als Oxidationsmittel wurde erstmals von *Riley* beschrieben,¹¹⁰ wobei α -ständige Kohlenstoffe von Ketonen, Aldehyden oder Alkenen mit Selendioxyd u.a. zu Alkoholen und Ketonen oxidiert wurden. Selendioxyd kann zudem benzyliche Methyl- oder Methylengruppen oxidieren, jedoch erfordern diese Reaktionen hohe Temperaturen und geben meist nur niedrige Ausbeuten.¹¹¹ Die Oxidation von Methylgruppen an Stickstoffheteroaromaten mit Selendioxyd ist ebenfalls in der Literatur beschrieben,^{108,109,112} wobei der Stickstoff einen aktivierenden Einfluss auf die Methylgruppe ausübt, wenn diese in Position 2, 4 oder 6 (vinylog) zum Stickstoff steht.¹¹³

Tagawa et al. zeigten, dass bei der Oxidation von benzylichen Methylgruppen mit Selendioxyd die Bildung von Nebenprodukten und die Weiteroxidation der Aldehyde zu Carbonsäuren langsamer verläuft, wenn zusätzlich *tert*-Butylhydroperoxid (TBHP) zur Lösung gegeben wird. Die Autoren postulieren, dass sich ein Peroxokomplex mit Selendioxyd bildet,¹⁰⁹ wenn TBHP zur Lösung gegeben wird. Auf Grundlage dessen wurden die Chinolincarbaldehyde **6–8** mit Selendioxyd und TBHP in 1,4-Dioxan (+10 % H_2O) oxidiert (Schema 14).

Obwohl sich das Chinolinderivat **3** von den Verbindungen Lepidin und **1** nur durch eine Trifluormethylgruppe in Position 2 unterscheidet (Abbildung 18), ließ sich diese Verbindung nicht mit Selendioxyd oxidieren. Die Trifluormethylgruppe in Position 2 führt zu einem Elektronenzug, sodass vermutlich die kurze Aufhebung der Aromatizität während des Reaktionsverlaufes nicht stattfinden konnte (Schema 14).

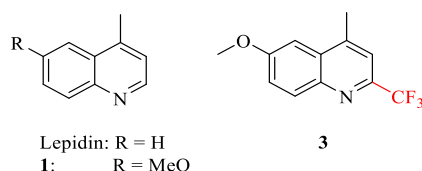
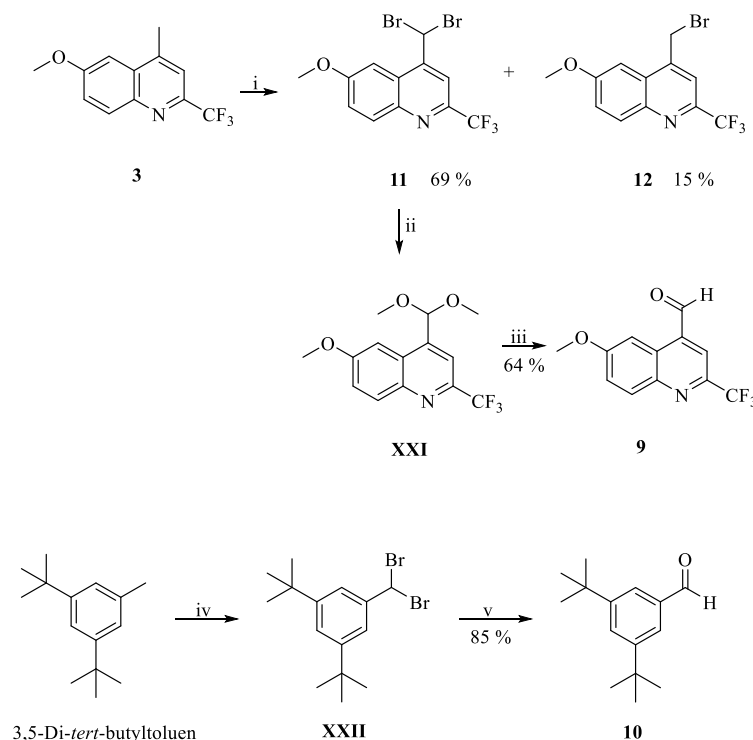


Abbildung 18. Vergleich des Substitutionsmusters der Chinolinderivate Lepidin, **1** und **3**.

Durch eine radikalische Bromierung von benzyllischen Methylgruppen mit *N*-Bromosuccinimid (NBS) und anschließender Umsetzung des dibromierten Zwischenproduktes zum Acetal und dessen säurekatalytische Hydrolyse können ebenfalls Aldehyde generiert werden. Eine zweifache, radikalische Bromierung der Methylgruppe mit *N*-Bromosuccinimid und Dibenzoylperoxid als Radikalstarter ist für 3,5-Di-*tert*-butyltoluen¹¹⁴ wie auch für verschiedene Pyridinderivate¹¹⁵ beschrieben. Bekannt ist diese Reaktion unter dem Namen *Wohl-Ziegler* Bromierung, bei der meist allylisch ständige Kohlenstoffe bromiert werden.¹¹⁶ Bei der Verwendung von NBS zur Bromierung eines Methylsubstituenten am Aromaten kann als Nebenreaktion eine elektrophile Substitution am Aromaten stattfinden. Steuerbar ist der gewünschte Reaktionsverlauf u.a. durch die Wahl des Lösungsmittels,^{117,o} aber auch das Substitutionsmuster des Aromaten ist entscheidend.

Verbindung **3** und 3,5-Di-*tert*-butyltoluen wurden in guten Ausbeuten (64 und 85 %) mittels einer *Wohl-Ziegler* Bromierung und anschließender Hydrolyse des Zwischenproduktes zu den Aldehyden **9** und **10** umgesetzt (Schema 15).

^o Eine radikalische Reaktion wird durch höhere Temperaturen und apolare Lösungsmittel wie Benzen oder Tetrachlorkohlenstoff präferiert, eine elektrophile Substitution wird durch die Verwendung von ACN oder DMF gesteuert.

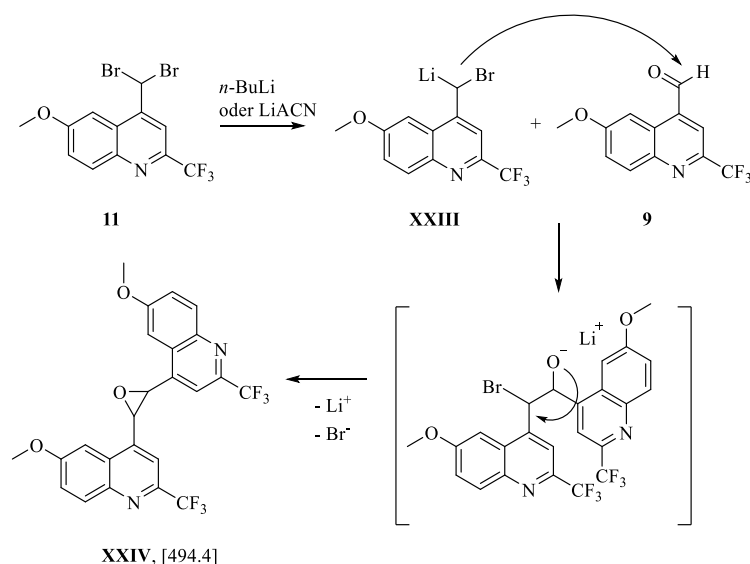


Schema 15. Darstellung der Aldehyde **9** und **10**. i) 3.00 equiv. NBS, 0.01 equiv. DBPO, CCl₄, Reflux, 8 h. ii) 2.00 equiv. NaOMe (0.5 M in Methanol), MeOH, Reflux, 6 h. iii) 10 % HCl in H₂O/MeOH (1:1, V/V), Reflux, 1 h. iv) 2.00 equiv. NBS, 0.01 equiv. DBPO, CCl₄, Reflux, 6 h. v) 1. 4.00 equiv. Urotropin, H₂O/EtOH (1:1, V/V), Reflux, 6 h; 2. HCl_{konz.}, Reflux, 0.5 h.

Die Reaktion von **3** mit NBS lieferte 69 % der dibromierten Zwischenstufe **11** und 15 % des Monobromderivates **12**. Eine Umsetzung von **11** mit Urotropin und anschließender Azidifizierung des Reaktionsansatzes lieferte den Aldehyd **9** in einer Ausbeute von 31 %. Jedoch war die säulenchromatographische Reinigung mittels Chromatographie an Kieselgel nicht zufriedenstellend. Das Edukt **2**, die Zwischenstufen **11** und **12**, das sich intermediär bildende Diethylacetal (nicht gezeigt), sowie das Produkt **9** besaßen sehr ähnliche Retentionszeiten bei allen verwendeten chromatographischen Trennmethoden. Eine Isolierung von **9** gelang daher in geringer Ausbeute von 31 %. Um eine höhere Ausbeute zu erzielen, wurde eine Substitution des Bromids durch Natriummethanolat durchgeführt und so die Acetalbildung fokussiert. Das Vollactetal **XXI** wurde mittels Säulenchromatographie isoliert und anschließend durch saure Hydrolyse gespalten. Auf diesem Weg konnte **9** ausgehend von **11** in 64 % Ausbeute erhalten werden (Schema 15).

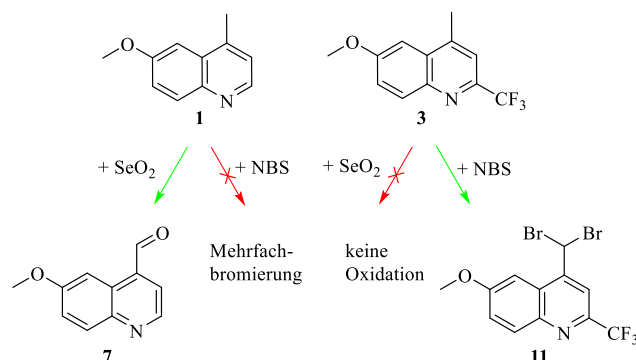
Die Notwendigkeit der vollständigen Trennung des Aldehyds **9** vom dibromierten Derivat **11** wurde im nächsten Syntheseschritt, bei der Umsetzung von **9** zum Nitril **20**, deutlich. Bei einem Syntheserversuch **20** mit einer Charge von **9** zu gewinnen, die Reste von **11** enthielt, wurde ein Nebenprodukt isoliert, das in einer massenspektrometrischen Analyse eine Molekülmasse von (ESI)MS-(+) m/z [M+H]⁺: 495.5 zeigte. Vermutet wird

ein Lithium-Halogen austausch, indem nicht abreagiertes *n*-Butyllithium oder Lithioacetonitril mit **11** zu **XXIII** reagierte. Dieses wird anschließend als CH-acide Komponente durch *n*-Butyllithium deprotoniert und kann so nukleophil am Carbonylkohlenstoff von **9** angreifen. Dadurch bildete sich wahrscheinlich das Epoxid **XXIV** mit einer Masse von 494.4 (Schema 16).



Schema 16. Postulierte Entstehung der Nebenkomponente **XXIV**.

Wie bereits erwähnt, unterscheidet sich das Chinolinderivat **3** vom Chinolinderivat **1** nur in der Trifluormethylgruppe in Position 2 (Abbildung 18). Wie schon bei der Oxidation mit Selendioxid war vermutlich auch bei der Wohl-Ziegler-Bromierung die Trifluormethylgruppe verantwortlich für ein unterschiedliches Reaktionsverhalten der Chinolinderivate **1** und **3**. Ein Syntheseversuch **1** ebenfalls zu einem, an der Methylgruppe in Position 4, dibromierten Derivate umzusetzen verlief erfolglos. Eine massenspektrometrische Analyse des Reaktionsansatzes von **1** mit NBS zeigte ein mehrfach am Aromaten bromiertes Produkt. Schema 17 fasst die Erkenntnisse über die verschiedenen Reaktionsverhalten von **1** und **3** zusammen.

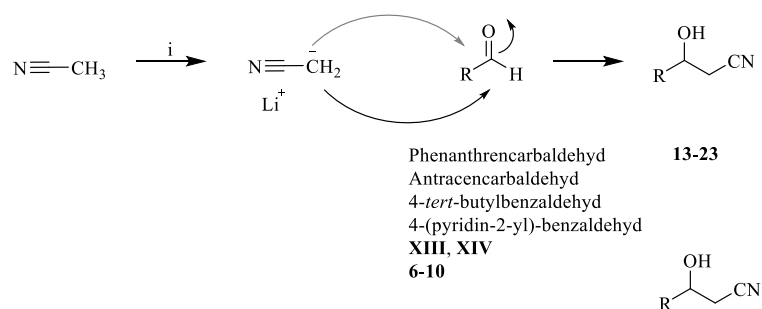


Schema 17. Gegenüberstellung des Reaktionsverhalten der Chinolinderivaten **1** und **3**.

Die Oxidation von 9-Methylacridin (**5**) mit Pyridinchlorochromat (PCC) lieferte nur eine sehr geringe Rohausbeute (8 %), eine Oxidation mit Selendioxid war erfolglos und eine Umsetzung mit NBS lieferte ebenfalls einen mehrfach bromierten Aromaten. Daher wurde dieser Heterozyklus als mögliche Substitution für Region A verworfen.

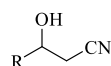
2.3 Darstellung der 3-Hydroxypropannitrile **13–23**

Die Nitrile **13–23** (Tabelle 3) wurden nach literaturbekannten Vorschriften hergestellt, indem absolutes Acetonitril mit *n*-BuLi bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ unter Stickstoffatmosphäre zur Reaktion gebracht wurde und das sich bildende Lithioacetonitril mit den entsprechenden Aldehyden reagierte (Schema 18).¹¹⁸ Der Angriff des Lithioacetonitrils an die Carbonylfunktion der Aldehyde ist nicht stereoselektiv, da der Angriff des Carbanions von beiden Seiten an dem sp^2 -hybridisierten Carbonylkohlenstoff erfolgen kann (Schema 18). Demnach bildete sich ein racemisches Gemisch. Dieses wurde beispielhaft für die Verbindung **14** durch eine HPLC-Analytik an einer chiralen stationären Phase untersucht (Experimenteller Teil, HPLC Methode 2). **14** zeigte auf einer achiralen stationären Phase einen Peak, auf einer chiralen stationären Phase wurden zwei Peaks im Verhältnis 1:1 detektiert.



Schema 18. Darstellung der 3-Hydroxypropannitrile **13–23**. i) 1.00 equiv. ACN, 1.10 equiv. *n*-Buli (1.6 M in *n*-Hexan), THF, -78 °C → RT.

Tabelle 2. Hergestellte 3-Hydroxypropannitrile **13–23**.



	R	Ausbeute [%]
13^a	phenanthren-9-yl	90
14^a	1,3-difluor-6-trifluormethylphenanthren-9-yl	86
15^a	1,3-dichlor-6-trifluormethylphenanthren-9-yl	56
16	4- <i>tert</i> -butylphenyl	98
17	3,5-di- <i>tert</i> -butylphenyl	73
18	chinolin-4-yl	70
19	6-methoxychinolin-4-yl	78
20	6-methoxy-3-trifluormethylchinolin-4-yl	68
21	benzo[<i>h</i>]chinolin-4-yl	65
22	4-(pyridin-2-yl)-phenyl	90
23	anthracen-9-yl	78

Die Nitrile **13–15** wurden resynthetisiert, die vollständigen analytischen Daten sind in der Literatur beschrieben.^{84,85}

3 Hydrazonamide mit Modifikationen in Region A und C

3.1 Hydrazonamide mit Modifikationen in Region A

3.1.1 Literaturübersicht und Syntheseplanung

Als Hydrazonamide oder Amidrazone werden Carbonsäureamidhydrazone bezeichnet. Die Stoffklasse der Amidrazone kann in verschiedenen tautomeren Formen vorliegen (Abbildung 19). Unterschiedliche tautomere Formen können einen Einfluss auf die physikochemischen Eigenschaften (Dipolmomente, Hydrophobizität, Basizität) einer chemischen Verbindung haben.¹¹⁹

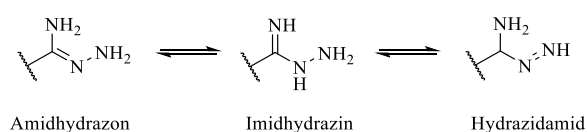


Abbildung 19. Tautomere Formen des Amidrazonestrukturmerkmals.

Wie unter Kapitel 1.5 beschrieben, wurde Verbindung **VIII** als antiplasmodial aktives 3-Hydroxy-propanhydrazonamid von *Leven et al.* isoliert (*Pf3D7* IC₅₀: 0.0083 µM). Eine Röntgenstrukturanalyse zeigte das Vorliegen der Amidhydrazonform, die 1*Z*, *N'**E* konfiguriert ist (Abb. 20, A).⁸⁴

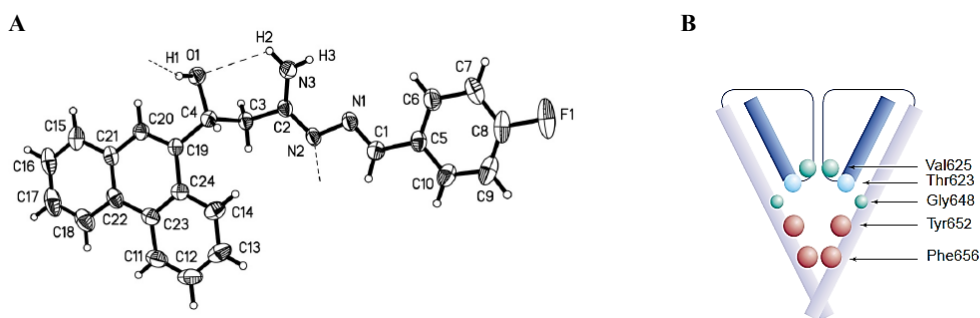


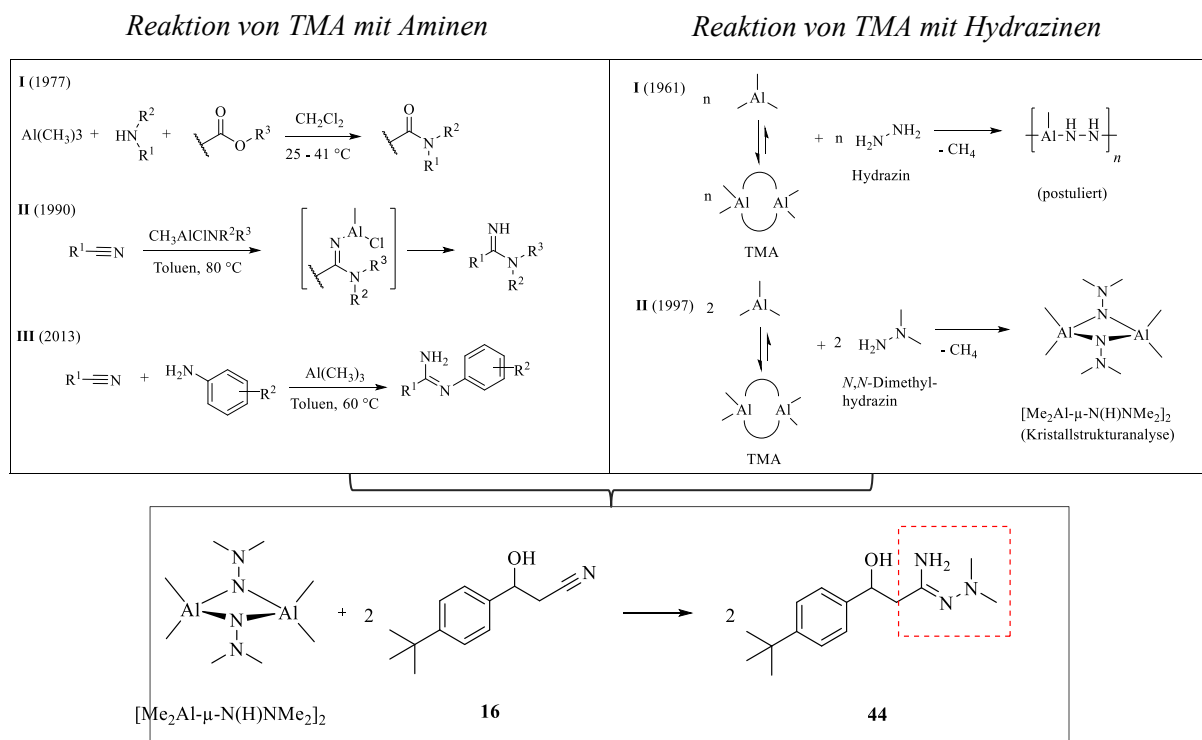
Abbildung 20. A. Kristallstruktur von **VIII**, modifiziert nach *Leven*.⁸⁴ B. Die für die Bindung von hERG-K⁺-Kanal-Blockern wichtigen Aminosäuren, modifiziert nach *Vandenberg*.¹²⁰

Eine Halogensubstitution (Cl, F) an der Phenanthrenstruktur (**IX**) erhöhte die antiplasmodiale Wirksamkeit (**IX**: *Pf3D7* IC₅₀: 0.0023 µM, SI: 12 043, **XI**: *Pf3D7* IC₅₀: 0.0081 µM, SI: 24 333) im Vergleich zu **VIII**. Das 1,3-Difluor-6-trifluormethylsubstituierte Derivat **IX** führte im *P. berghei* Mausmodell zu einer Parasitämiereduktion von 99.5 % und einer Heilungsrate von 66.6 % (n = 3). Jedoch war das Hydrazonamiderivat **IX** nur begrenzt wasserlöslich und eine unerwünschte Aktivität am hERG-K⁺-Kanal wurde nachgewiesen.⁸⁵ Beide Eigenschaften lassen sich

wahrscheinlich mit der fluorsubstituierten Phenanthrenstruktur in Region A in Verbindung bringen. Vor allem hydrophobe Substanzen mit aromatischen Resten und basischen Zentren können eine Aktivität am hERG- K^+ -Kanal zeigen, welche durch π - π - und Kation- π -Wechselwirkungen mit den Aminosäuren Phe655 und Tyr652 am Rezeptor zustande kommen (Abb. 20, B).¹²⁰ Diese unerwünschten Eigenschaften, sollten durch den Austausch der Phenanthrenstruktur gegen heterozyklische und kleinere, nicht halogenierte, aromatische Ringsysteme reduziert werden.

Aufgrund der unter 1.6 beschriebenen Einschränkung, das in Region A heteroaromatisch substituierte Imidate mit der Methode von *Pinner* nicht gewonnen werden konnten, wurde nach einer neuen Synthesestrategie gesucht, um die Umsetzung eines Nitrils mit Hydrazin zum Amidrazon ohne Imidat als Zwischenstufe durchzuführen. Um den Schritt der Imidatzwischenstufe zu überspringen und direkt ein Nitril in ein Amidrazon zu überführen, wurden zunächst die Reaktionsfähigkeit von Hydrazin untersucht. In einem orientierenden Versuch wurde das Nitril **13** mit Hydrazin unter Rückfluss gerührt. Nach 8 Stunden konnte jedoch kein Umsatz detektiert werden.

Aufgrund dessen wurde nach einem Reagenz zur Aktivierung des Hydrazins gesucht. Eine Literaturrecherche führte zu folgenden Überlegungen. *Weinreb* und Mitarbeiter beschrieben 1977 eine milde Darstellung von Amidinen, indem sie Carbonsäureester mit Trimethylaluminium (TMA) und einem alkylsubstituiertem Amin umsetzten (Schema 19).¹²¹ Diese Methode wurde 1990 von *Garigipati* auf die Darstellung von Amidinen aus Nitrilen übertragen, wobei TMA mit Ammoniumchlorid zu Methylchloraluminiumamid als aktivierendes Reagenz umgesetzt wurde.¹²² Es folgten sowohl Darstellungen verschiedenartig substituierter Amidine als auch Guanidine unter Verwendung von Aluminiumalkylen.^{123–125} *Korbad et al.* beschrieben 2013 eine direkte Synthese von *N'* arylierten Amidinen ausgehend von TMA, wobei ein Stoffmengenverhältnis von 2:2:1 (Trimethylaluminium, Anilinderivat und Nitril) und einer Reaktionstemperatur von 60 °C die besten Ergebnisse lieferte (Schema 19).¹²⁵ Dabei reagiert Trimethylaluminium mit aromatischen Aminen zu Dimethylaluminiumamiden, welche die aktiven Zwischenstufen darstellen.^{121,126}



Schema 19. Literaturübersicht über Reaktionen von Trimethylaluminium (TMA) mit Aminen und Nitrilen, sowie von TMA und Hydrazin und daraus abgeleitete Umsetzung eines Hydrazinderivates mit Nitrilen zum Hydrazonamidderivat **44**.

Fetter und Bartocha postulierten 1961 einen Methylaluminium-Hydrazin-Komplex, nachdem sie Hydrazin mit Trimethylaluminium reagieren ließen (Schema 19).¹²⁷ Eindeutige Konformationsanalysen zu Komplexen aus Hydrazin und Aluminiumalkylaten oder Aluminiumhydriden sind aufgrund der Explosionsneigung der Produkte schwer zu generieren.^{128,129} Kim *et al.* zeigten, dass sich bei der Reaktion von Trimethylaluminium mit *N,N*-Dimethylhydrazin ein viergliedriger Komplex $[\text{Me}_2\text{Al}-\mu\text{-N}(\text{H})\text{NMe}_2]_2$ bildet, der in fester Form eine *trans*-Konfiguration einnimmt (Schema 19).¹³⁰

Dieser Dimethylaluminium-Dimethylhydrazin-Komplex und analog ein Komplex aus Hydrazin und Trimethylaluminium sollte, in Anlehnung an die Synthesvorschrift nach Korbád, mit dem gewünschten Nitril reagieren, um entsprechende Hydrazonamidderivat zu generieren (Schema 19). Ein erster Synthesversuch, den $[\text{Me}_2\text{Al}-\mu\text{-N}(\text{H})\text{NMe}_2]_2$ -Komplex mit dem Nitril **16** umzusetzen, lieferte das Hydrazonamidderivat **44**.

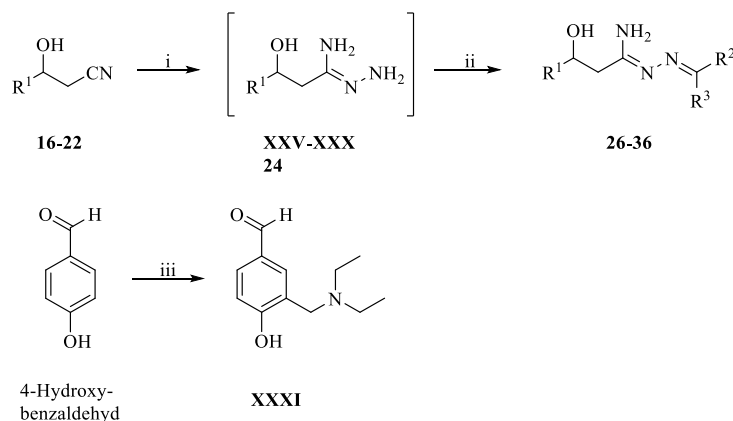
Diese neue TMA-vermittelte Syntheseroute hatte einige Vorzüge im Vergleich zum Einsatz von Imidat- Hydrochloriden als Zwischenprodukte. Ebenso wie bei der Verwendung von Imidaten als Syntheszwischenprodukte, können Nitrile, die mit

Aluminiumamidkomplexen umgesetzt werden, zur Darstellung von (Amidine, Amidrazone, 1,2,4-Triazine) dienen. Die Umsetzung eines Nitrils mit einem Aluminiumamidkomplexen ist eine Einstufensynthese. Die Herstellung der Imidate und ihre anschließende Umsetzung ist in zwei Stufen gegliedert. Des Weiteren sind die Reaktionsbedingungen bei der Umsetzung eines Nitrils mit einem Aluminiumamidkomplex milde (pH ~ 8, 50 °C). Im Vergleich dazu wird bei der Imidatsynthese nach *Pinner* Chlorwasserstoff verwendet. Die Verwendung von Chlorwasserstoff ist für chemisch instabilere Nitrile nicht geeignet (ggf. Hydrolyse, Salzbildung als Nebenreaktion). Des Weiteren ist die Lagerstabilität (Monate) von Nitrilen im Vergleich zu Imidat-Hydrochloriden vorteilhaft.

3.1.2 Darstellung der Hydrazonamide **26–36** mit Modifikationen in Region A

Zur Darstellung der Zielverbindungen **26–36** wurde, wie unter 3.1.1 beschrieben, zuerst der Hydrazin-Aluminiummethyl-Komplex generiert, indem Hydrazin (1 M in Tetrahydrofuran) mit Trimethylaluminium (2 M in Toluol) bei 0 °C versetzt wurde. Anschließend wurde das entsprechende Nitril (**16–22**), gelöst in Tetrahydrofuran, p.a. zur Lösung getropft. Der Reaktionsansatz wurde bei Raumtemperatur (**35, 36**) gerührt oder auf 50 °C (**26–34**) erwärmt. Die gewählte Temperatur hing vom entsprechenden Nitril ab, da sich herausstellte, dass die Nitrile **20** und **21** bei höheren Temperaturen eine stärkere Neigung zur Bildung dimerisierter Nebenprodukte besaßen. Wurde die Temperatur niedrig gehalten, so wurde die Reaktionszeit verlängert und alle zwei Stunden eine Reaktionskontrolle mittels Dünnschichtchromatographie (DC) durchgeführt. Eine vollständige Umsetzung der Nitrile **16–22** zu den Amidrazonen **XXV–XXX** und **24** konnte bei keinem Reaktionsansatz beobachtet werden. Der festgelegte Endpunkt der Reaktion wurde durch eine Reaktionskontrolle mittels HPLC bestimmt (s. unten).

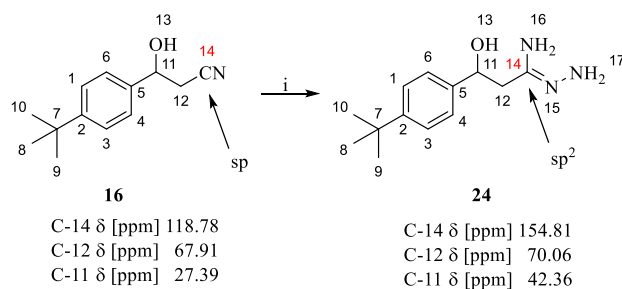
Die Amidrazone **XXV–XXX** und **24** wurden als Rohprodukte isoliert und direkt weiter mit dem entsprechenden Aldehyd umgesetzt, um die Zielverbindungen **26, 27** und **29–36** zu erhalten (Schema 20). Der zur Darstellung der Verbindungen **27** und **31** verwendete Aldehyd **XXXI** wurde durch eine Mannich-analoge Reaktion ausgehend von 4-Hydroxybenzaldehyd nach *Cromwell* hergestellt.¹³¹ Zur Darstellung von **28** wurde Cycloheptanon in Gegenwart von Zink(II)chlorid als Lewis-Katalysator verwendet.



Schema 20. Darstellung der Hydrazonamiderivate **26–36**. i) 2.00 equiv. N_2H_4 (1 M in THF), 2.00 equiv. $\text{Al}(\text{CH}_3)_3$ (2 M in Toluol), Toluol/THF (1:1, V/V), $0 \rightarrow 50^\circ\text{C}$ (**26–34**) oder $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 24 h (**35**, **36**); ii) 1.00 equiv. R^2CHO , THF, RT, 12 h oder 1.00 equiv. R^2COR^3 in THF, 1.50 equiv. ZnCl_2 , RT, 12 h; iii) 1.00 equiv. $\text{H}-[\text{CH}_2\text{O}]_n-\text{OH}$, 1.00 equiv. $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$, EtOH, 80°C , 24 h.

*Untersuchung des Reaktionsverlaufs durch Isolierung des Amidrazons **24**.*

Die Umsetzung des β -Hydroxypropannitrils **16** mit Hydrazin (1 M Lösung in THF), vermittelt durch Trimethylaluminium (2 M Lösung in Toluol) sollte näher untersucht werden, um den Ablauf der Synthese (Schema 20) zu analysieren. Dafür sollte das Amidrazon **24** als Beispielverbindung für alle Amidrazone (**XXV–XXX**), die sich als Zwischenprodukte während der Reaktion bildeten, isoliert und charakterisiert werden (Schema 20).



Schema 21. TMA vermittelte Darstellung des Amidrazons **24**. i) 2.00 equiv. N_2H_4 (1 M in THF), 2.00 equiv. $\text{Al}(\text{CH}_3)_3$ (2 M in Toluol), Toluol/THF (1:1, V/V), $0 \rightarrow 50^\circ\text{C}$, 5 h.

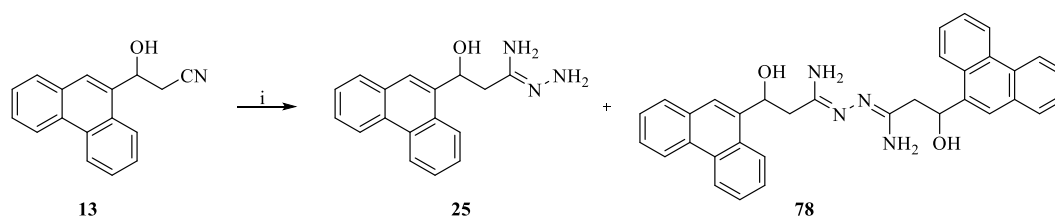
Der Vergleich der ^{13}C -NMR Spektren von **16** und **24** zeigte eine Veränderung der chemischen Verschiebung des Signals des Kohlenstoffatoms C-14. Hier fand die größte Veränderung der chemischen Verschiebung ins Tieffeld (118.78 ppm zu 154.81 ppm) statt, da hier durch die benachbarte Funktionalität die Elektronendichte am stärksten abnahm. Des Weiteren änderte sich die chemische Verschiebung des Signals der benachbarten Methylengruppen C-12 (67.91 ppm zu 70.06 ppm) und C-11 (27.39 ppm

zu 42.36 ppm), da der Effekt der Verringerung der Elektronendichte sich über diese beiden Bindungen erstreckte (Schema 21).

Mittels HPLC-Analytik konnte festgestellt werden, dass **24** über 6 Monate als Feststoff bei 0 °C lagerstabil war. Vermessen wurde dazu jeden Monat eine frisch hergestellte 0.1 % Lösung (Acetonitril-Wasser (1:1, V/V)) von **24**. Außerdem zeigte eine Lagerung von **24** als 0.1 % Lösung in Acetonitril-Wasser (1:1, V/V) über 5 Tage einen Gehalt von über 95 %, sodass **24** auch in wässriger Lösung über mehrere Tage stabil war.

Untersuchung des Reaktionsverlaufs mittels HPLC-Analyse.

Die Umsetzungsgeschwindigkeit des β -Hydroxypropionitrils **13** mit Hydrazin (1 M Lösung in THF), vermittelt durch Trimethylaluminium (2 M Lösung in Toluol) bei Raumtemperatur und 50 °C sollte mittels HPLC-Analytik untersucht werden. Dabei sollte die relative Zunahme der AUC des Amidrazons **25** über die Zeit betrachtet werden (Schema 22).



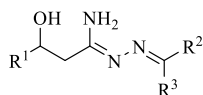
Schema 22. TMA vermittelte Darstellung des Amidrazons **24** i) 2.00 equiv. N_2H_4 (1 M in THF), 2.00 equiv. $\text{Al}(\text{CH}_3)_3$ (2 M in Toluol), Toluol/THF (1:1, V/V), 0 $\rightarrow$ 50 °C, 5 h.

Der Reaktionsverlauf wurde nach festgelegten Zeitpunkten (0, 1, 3, 5 und 24 Stunden) mittels HPLC-Analytik untersucht. Bereits nach 1 Stunde wurden 3 Peaks detektiert. Diese ließen sich als freies Hydrazonamid **25**, Edukt **13** und dimerisiertes Nebenprodukt **78** durch Retentionszeitenvergleich und LC-MS-Analyse (**26**) identifizieren (Schema 22). Die Durchführung bei Raumtemperatur zeigte nach 24 Stunden keine Zunahme der AUC von **25**. Die Durchführung bei einer Temperatur von 50 °C zeigte bereits nach 5 Stunden eine Gleichgewichtseinstellung zwischen den AUC's von **13**, **25** und **78**. Basierend auf diesen Ergebnissen wurden Reaktionszeiten von 5 und 24 Stunden festgelegt.

Mit der in Schema 20 dargestellten Syntheseroute und den gewonnen Erkenntnissen über den Reaktionsablauf (Schema 21, 22) konnten die Hydrazonamidderivate **26–36** hergestellt werden, die sowohl heteroaromatische Substituenten (Chinolinderivate,

Benzo[*h*]chinolin, 4-(Pyridin-2-yl)phenyl), als auch flexible, kleine aromatische Substituenten (4-*tert*-Butylphenyl, 3,5-Di-*tert*-butylphenyl) in Region A aufweisen (Tabelle 3).

Tabelle 3. Hergestellte Hydrazonamide **26–36**.



Verb.	R ¹	R ²	R ³	T/t [°C/h] ^a	Ausbeute [%] ^b
26	4- <i>tert</i> -butylphenyl	4-fluorphenyl	H	50/5	41
27	4- <i>tert</i> -butylphenyl	3-(diethylamino)- 4-hydroxyphenyl	H	50/5	23
28	4- <i>tert</i> -butylphenyl	cycloheptyliden		50/5	35
29	4- <i>tert</i> -butylphenyl	di- <i>n</i> -butyliden	H	50/5	30
30	3,5-di- <i>tert</i> -butylphenyl	4-fluorphenyl	H	50/5	33
31	3,5-di- <i>tert</i> -butylphenyl	3-(diethylamino)- 4-hydroxyphenyl	H	50/5	33
32	4-(pyridin-2-yl)-phenyl	4-fluorphenyl	H	50/5	18
33	6-methoxychinolin-4-yl	4-fluorphenyl	H	50/5	20
34	chinolin-4-yl	4-fluorphenyl	H	50/5	14
35	6-methoxy-2-(trifluor- methyl)chinolin-4-yl	4-fluorphenyl	H	RT/24	15
36	benzo[<i>h</i>]chinolin-4-yl	4-fluorphenyl	H	RT/24	10

^aReaktionsbedingungen zur Darstellung der Zwischenstufe, ^bAusbeute der Endverbindung.

Die vorliegende tautomere Form mit freier NH₂-Gruppe (Amidhydrazon, Abbildung 19) konnte durch fast alle ¹H-NMR Spektren (**26–28**, **30–32** und **35**; aufgenommen in DMSO-*d*₆) bestätigt werden.^p Beispielhaft zeigte das ¹H-NMR Spektrum von **26**, aufgenommen in DMSO-*d*₆ ein Singulett bei 6.77 ppm mit einem Integral von 2 H. Dieses Signal lies sich der Aminofunktion (NH₂) des Amidhydrazon-Tautomers zuordnen (siehe Abb. 19). In deuteriertem Chloroform war dieses Signal meist nicht sichtbar oder sehr breit zwischen 5 und 6 ppm.

^p Nicht immer war das NH Signal integrierbar.

Um die Aufspaltung der Methylenprotonen an C-12 zu untersuchen wurde ein ^1H -NMR Spektrum von Verbindung **26** in CDCl_3 aufgenommen (Abbildung 21). Die Protonen an C-12 sind magnetisch nicht äquivalent, sodass sie beide unabhängig mit dem Proton an C-11, sowie miteinander ($\text{H-12}'$, $\text{H-12}''$) koppeln.

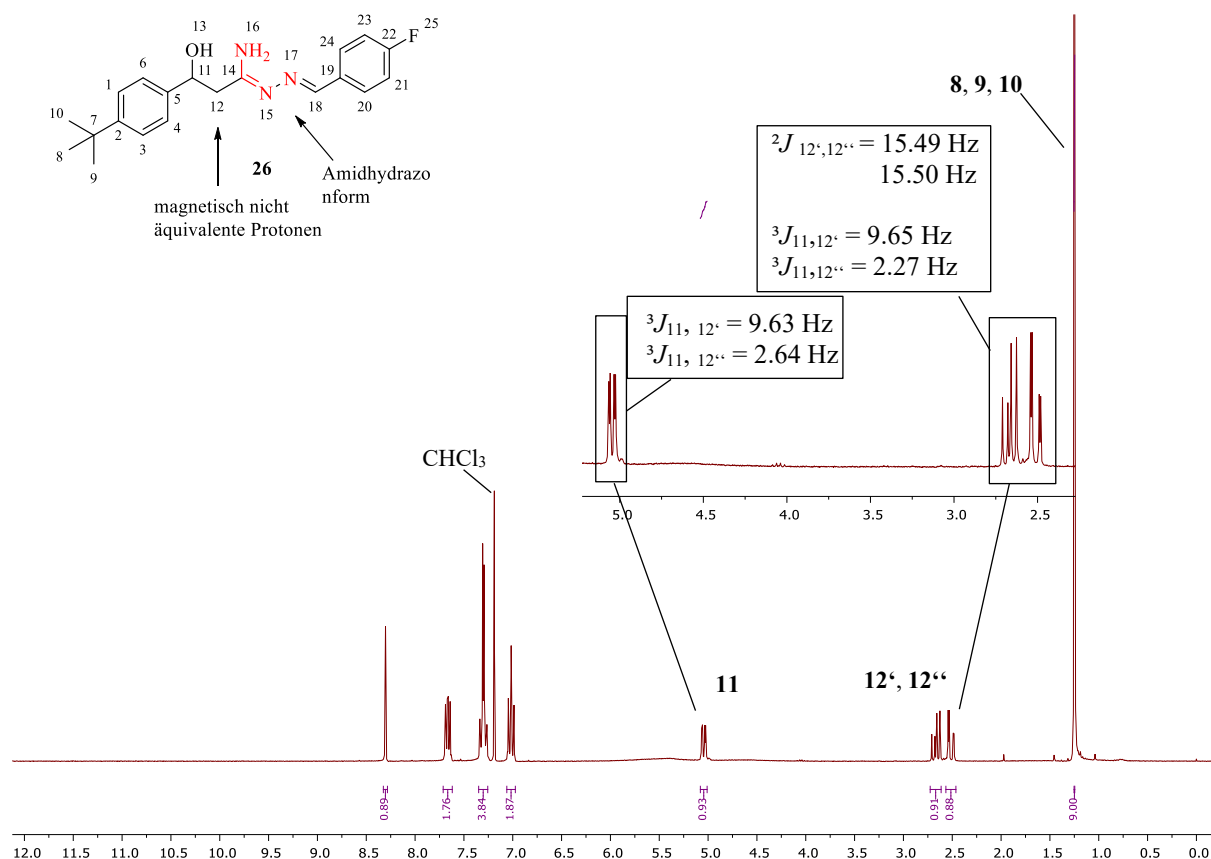
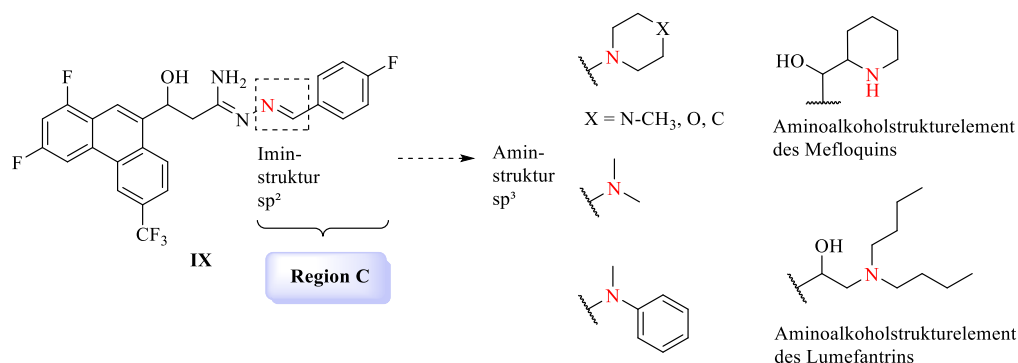


Abbildung 21. ^1H -NMR Spektrum von **26** (300 MHz) (aufgenommen in Chloroform-*d*).

Bei dieser Reaktion konnten die dimerisierte Nebenprodukte **78–80** isoliert werden, die durch den Angriff der freien Aminofunktion der Amidrazone **24**, **XXV** und **XXVI** an das entsprechende Nitril **16–18** entstanden sind (siehe Kapitel 5).

3.2 Hydrazonamide mit Modifikationen in Region C

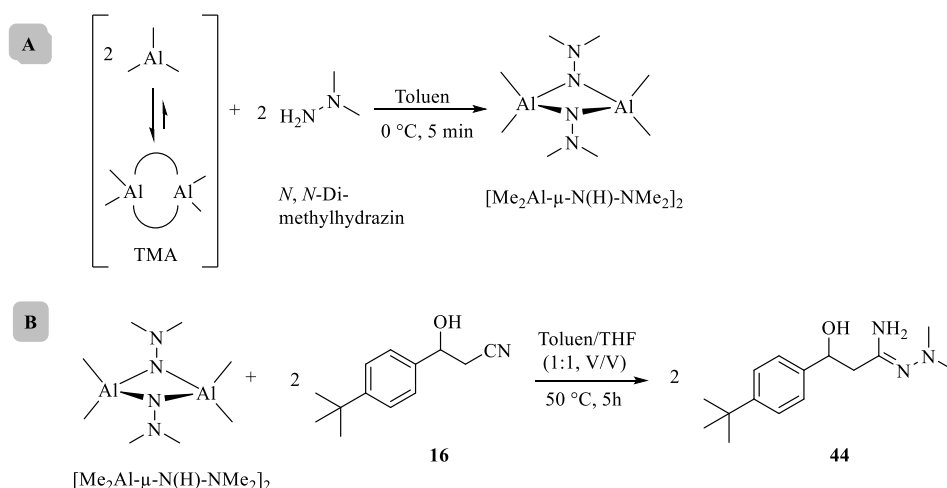
Die Leitstruktur **IX** weist am N' Stickstoff eine Iminostruktur auf. Diese galt es zu modifizieren, indem der N' Stickstoff aromatisch oder zweifach aliphatisch substituiert werden sollte. Dadurch ändert sich seine Hybridisierung von sp^2 zu sp^3 , welches der Hybridisierung der sekundären und tertiären Aminstrukturen der Arylaminoalkohole Chinin, Mefloquin Halofantrin und Lumefantrin entspricht (Schema 23).



Schema 23. Geplante Modifikationen der Region C.

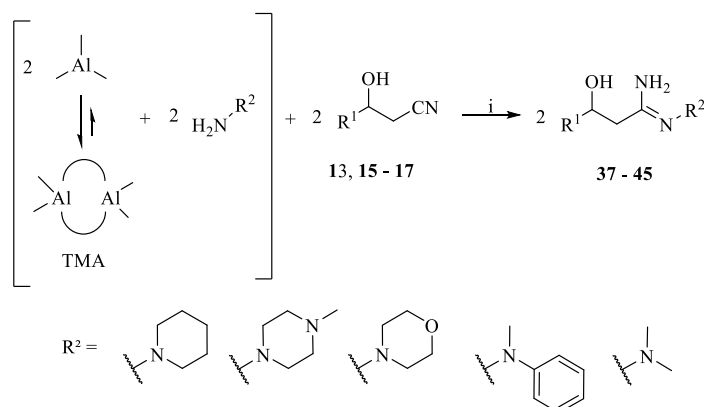
Schneider et al. zeigten in einer computergestützten Analyse von Patenten der letzten 40 Jahre, dass Piperazin- und Morpholinreste immer häufiger als Bausteine in Arzneistoffe eingebaut wurden, welches sich auf ihre Löslichkeitsverbessenden Eigenschaften zurückführen lässt.¹³² Demnach wurden diese Gruppen als aliphatische, cyclische Modifikationen in Region C ausgewählt, um sie mit aliphatischen, offenkettigen und einer aromatischen Substitution am N' -Stickstoff zu vergleichen.

Für die Darstellung der Hydrazonamidderivate mit Modifikationen in Region C sollte die unter 3.1 beschriebene Syntheseroute, welche TMA als Reaktionsaktivator verwendet, angewendet werden. Anstelle von Hydrazin als Nukleophil sollten direkt alkylierte und arylierte Derivate des Hydrazins (1-Aminopiperidin, 4-Methyl-piperazin, 1-Aminomorpholin, N,N -Dimethylhydrazin, N -Methyl- N -phenyl-hydrazin) verwendet und diese mit TMA zu aktiven Komplexen umgesetzt werden. *Kim et al.* zeigten, dass Trimethylaluminium mit N,N -Dimethylhydrazin einen viergliedrigen- (Al_2N_2) -Komplex bildet, bei dem zwei N-N-Bindungen exozyklisch und *trans*-ständig zueinander liegen (Schema 24, A).¹³⁰ Dieser Komplex wurde zunächst in einem orientierenden Versuch als reaktive Verbindung mit dem Nitril **16** zum Hydrazonamidderivat **44** umgesetzt (Schema 24, B).



Schema 24. TMA-vermittelte Darstellung des Hydrazonamidderivates **44**.

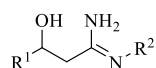
Weitere *N,N*-disubstituierte Hydrazinderivate wurden mit den Nitrilen **13** und **15–17** erfolgreich zu den Hydrazonamiden **37–45** in einer Einstufensynthese umgesetzt (Schema 25).



Schema 25. Darstellung der Hydrazoneamide **37–45**. i) 2.00 equiv. $\text{R}^2\text{-NH}_2$, 2.00 equiv. $\text{Al}(\text{CH}_3)_3$ (2 M in Toluene), Toluene/THF (1:1, V/V), 50 °C, 5 h.

Neben dem geringeren Syntheseaufwand (Einstufen- statt Zweistufensynthese), hatte diese Versuchsdurchführung den Vorteil, dass eine Bildung von dimerisierten Nebenprodukten nicht möglich war. Jedoch konnten α , β -ungesättigte (dehydratisierte) Nebenprodukte (**73**, **76** und **77**) isoliert werden (siehe Kapitel 5).

Tabelle 4. Hergestellte Hydrazoneamide mit Modifikationen in Region C (37–45).



Verb.	R ¹	R ²	Ausbeute [%]
37	phenanthren-9-yl	piperidin-1-yl	46
38	phenanthren-9-yl	4-methyl-piperazin-1-yl	56
39	phenanthren-9-yl	morpholino-4-yl	40
40	phenanthren-9-yl	<i>N</i> -methyl- <i>N</i> -phenyl-amino	49
41-HCl	1,3-dichlor-6-(trifluormethyl)phenanthren-9-yl	piperidin-1-yl	38
42-HCl	4- <i>tert</i> -butylphenyl	piperidin-1-yl	50
43	4- <i>tert</i> -butylphenyl	<i>N</i> -methyl- <i>N</i> -phenyl-amino	41
44	4- <i>tert</i> -butylphenyl	<i>N</i> -di-methyl-amino	34
45-HCl	3,5-di- <i>tert</i> -butylphenyl	piperidin-1-yl	33

41, 42 und 45 wurden als Hydrochloride isoliert. Die ¹H-NMR Spektren von 42 und 45 zeigten zwei bis drei Signale zwischen 8.3 und 10.9 ppm, die den NH Protonen der Imidhydrazin Form zugeordnet wurden (Abbildung 22). Interessanterweise zeigten die Verbindungen 37–40, 43 und 44 ein Singulett zwischen 5.9 und 6.4 ppm mit einem Integral von 2 Protonen. Dies weist auf die Amidhydrazon-Form hin (Abbildung 20).

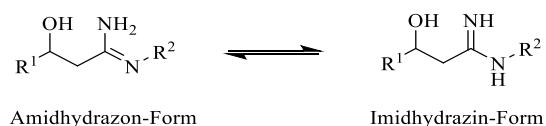


Abbildung 22. Tautomere Formen des Hydrazoneamidstrukturelementes der Verbindungen 37–45.

Das ¹H-NMR Spektrum von Verbindung 41 (Abb. 23) zeigte, dass die Protonen an C-25 und C-29 mit einem Proton an C-19 überlappen. Die Kopplungskonstante von *J* = 14.02 Hz kommt durch eine geminale Kopplung der beiden Protonen an C-19 (H-19', H-19'') zustande. Zudem koppeln die Protonen an C-19 mit dem Methylenproton an C-18 (³*J*). Das Proton an C-1 ergibt ein Signal bei 8.06 ppm und koppelt über eine Allyl-Kopplung (⁴*J*) mit dem Proton an C-3.

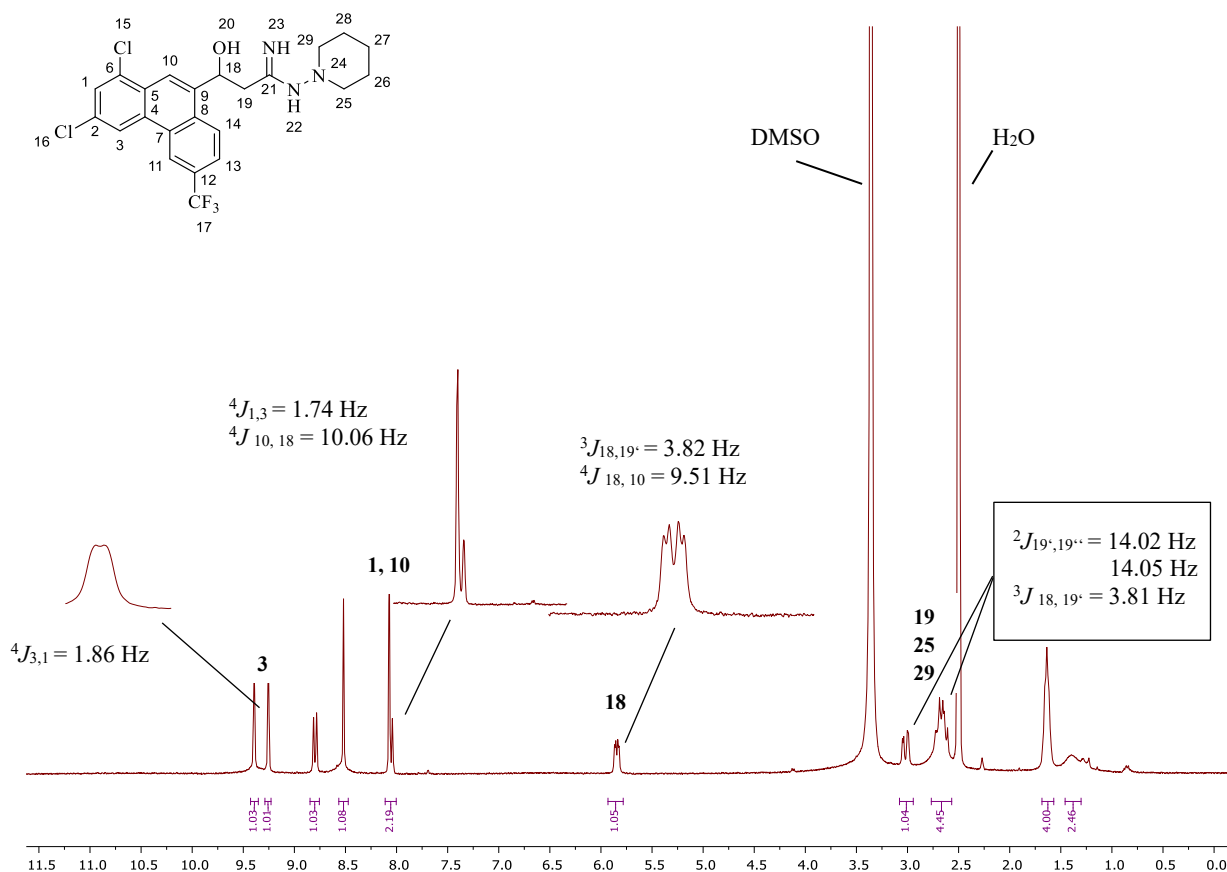
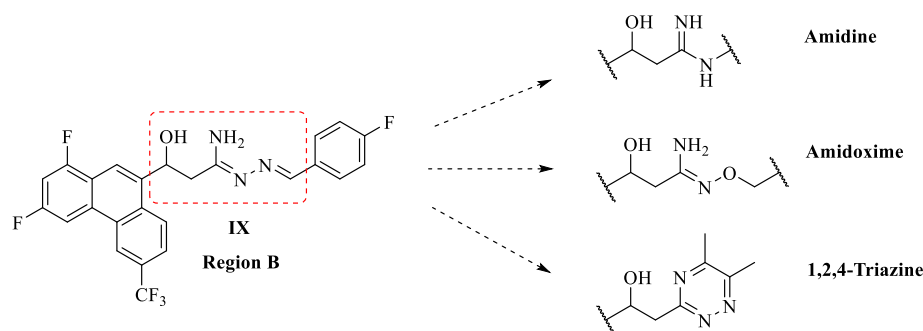


Abbildung 23. ^1H -NMR Spektrum von Verbindung 41 (aufgenommen in $\text{DMSO}-d_6$).

4 Amidine, Amidoxime, 1,2,4-Triazine: Verbindungen mit Modifikationen in Region B



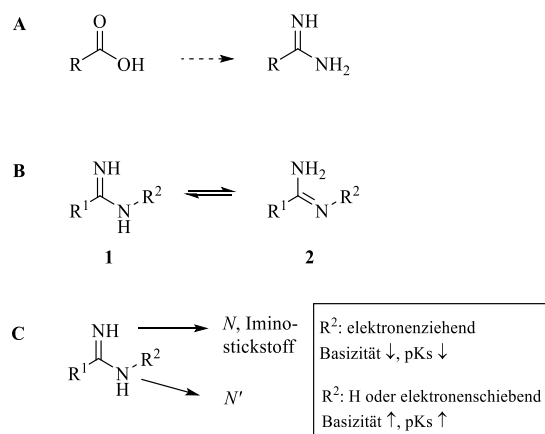
Schema 26. Übersicht der Strukturmodifikationen in Region B.

Die Region B Modifikationen sahen vor, das Hydrazonamidstrukturelement gegen Amidine, Amidoxime und 1,2,4-Triazine als Strukturelemente auszutauschen (Schema 26). Durch den Austausch der Hydrazonamidstruktur gegen eine Amidinstruktur sollte u.a. der Einfluss der Basizität auf die antiplasmodiale Wirkung untersucht werden. Die Modifikation mit einem Amidoximstrukturelement sollte den Einfluss der Substitution des *N'* Stickstoffs des Hydrazonamidelementes gegen ein Sauerstoffatom untersuchen. Beide Strukturmodifikationen sollten zudem den Nachteil der möglichen Hydrazinfreisetzung ausgleichen. Ein rigides 1,2,4-Triazinstrukturelement sollte dem Vergleich zwischen einer offenen und einer ringgeschlossenen, aromatischen Hydrazonamidstruktur dienen.

4.1 Region B Modifikationen: Amidinderivate

4.1.1 Literaturübersicht

Amidine (Carboxamidine) leiten sich formal von Carbonsäuren ab, bei denen beide Sauerstoffatome durch Stickstoffatome ausgetauscht wurden (Schema 27, A). Amidine können in zwei tautomeren Formen vorliegen, dies ist vor allem bei *N'* substituierten Amidinen entscheidend (Schema 27, B).



Schema 27. Eigenschaften des Amidinstrukturelements.

Amidine besitzen basische Eigenschaften. Die Protonierung erfolgt am freie Elektronenpaar des sp²-hybridisierten Stickstoff (Iminostickstoff). Die Basizität, ausgedrückt als pK_s Wert der korrespondierenden Säure, hängt von dem Substitutionsmuster an N' ab. Elektronenziehende Substituenten verringern den pK_s Wert, unsubstituierte Amidine oder Amidine mit elektronenschiebenden Substituenten an N' sind basischer und haben somit höhere pK_s Werte.

Als Strukturelemente kommen Amidine u.a. in einigen Antiprotozoenmittel wie Pentamidin vor.⁹ Unterschieden wird dabei zwischen Diamidinen, bei denen zwei Amidinfunktionen endständig am Molekül lokalisiert sind (Bsp. Pentamidin), und „inversen“ Amidinen (Bsp. DB745) (Abbildung 26).

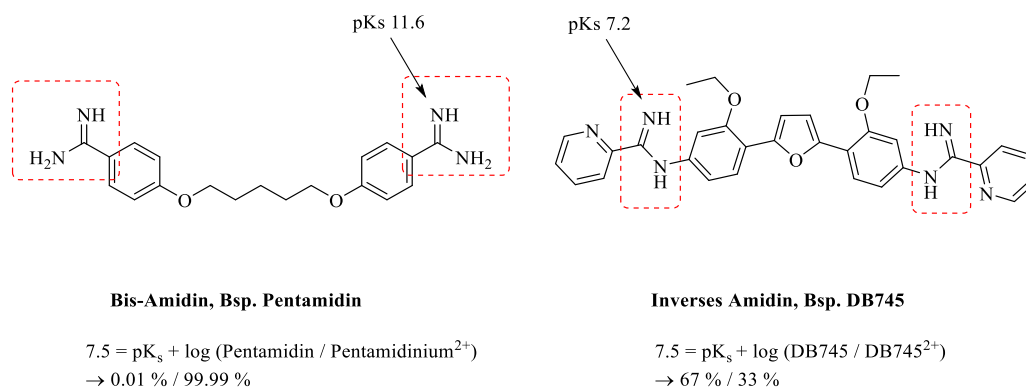


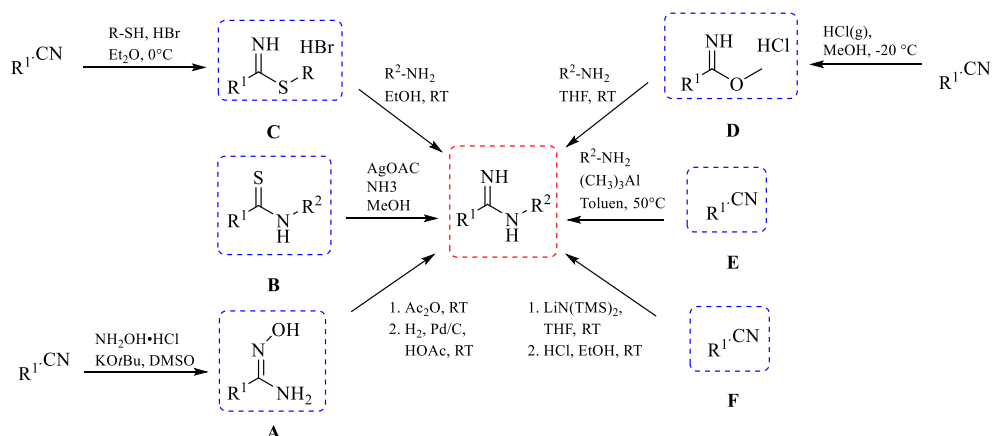
Abbildung 24. Strukturelle Gegenüberstellung eines Diamidins und eines "inversen" Amidins.

„Invers“ bedeutet in diesem Zusammenhang, dass die Iminofunktion an einen Anilin-Stickstoff gebunden ist, N' ist demnach aromatisch substituiert (Arylamidin).¹³³ Wang et

⁹ Pentamidin wird zur Behandlung der Schlafkrankheit (Afrikanische Trypanosomiasis), Leishmaniose und Pneumocystis jirovecii eingesetzt. Dieser Wirkstoff besitzt zwei endständige Amidinfunktionen, die im physiologischen Milieu protoniert vorliegen. Dies begründet seine geringe Fähigkeit zur Membranpermeabilität. Pentamidin wird parenteral verabreicht (Pentacarinat®), da es nach oraler Gabe kaum resorbiert wird.

al. zeigten, dass Arylamidine wesentlich geringere pK_s Werte besitzen als Diamidine. Für Pentamidin wird ein pK_s von 11.6 gelistet, DB745 weist hingegen nur einen pK_s von 7.1 auf.¹³⁴ Pentamidin liegt somit bei einem pH von 7.5 (physiologisches Milieu) vollständig protoniert vor, DB745 hingegen nur zu 33 % (Abbildung 24). Dies kann sich u.a. auf die Membranpermeabilität auswirken, da geladene (protonierte) Moleküle eine geringere Membranpermeabilität aufweisen, als ungeladene Moleküle.

Amidine lassen sich über verschiedene Syntheserouten darstellen (Schema 28). Dabei kann die Synthese des Amidinstrukturelementes entweder aus Amidoximen (A), die katalytisch zum Amidin hydriert werden, erfolgen. Oder reaktive Stoffklassen, wie Thioimide (B), Thioamide (C) und Imide (D) werden mit einem primären, sekundären Amin oder Ammoniak als nukleophiles Agens zu Amidinen umgesetzt. Eine direkte Umsetzung eines Nitrils (E) mit einem aromatischen Amin kann ebenfalls als Methode zur Synthese von Amidinen genutzt werden. Ein N' -unsubstituiertes Amidin wird u.a. durch die Addition eines trimethylsilyl-geschütztes Amins an ein Nitril (F) hergestellt. In dieser Arbeit sollten die Syntheserouten D und E (Schema 28) Anwendung finden.



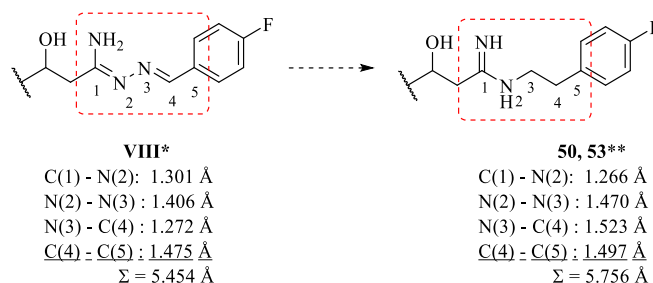
Schema 28. Literaturbekannte Methoden zur Darstellung von Amidinen.^{125,135,136}

4.1.2 Synthese von Amidinen aus Imidomethylester-Hydrochloriden und Aminen

Die Amidinderivate **47–53** und **55** die am N' Stickstoff arylalkyl-substituiert sind, wurden aus den Imidaten **XV–XVII** und primären Aminen (Benzylaminderivate, Phenethylaminderivate) hergestellt. Die Kettenlänge der arylalkyl-substituierten Amidine wurden dabei so gewählt, dass der Abstand zwischen dem Iminokohlenstoff und dem Aromaten in Region C mit dem Abstand des Iminokohlenstoffs der

Hydrazonamidfunktionalität (**VIII**) und dem 4-Fluorphenylrest in Region C vergleichbar ist (Schema 29).

Bindungslängenvergleich



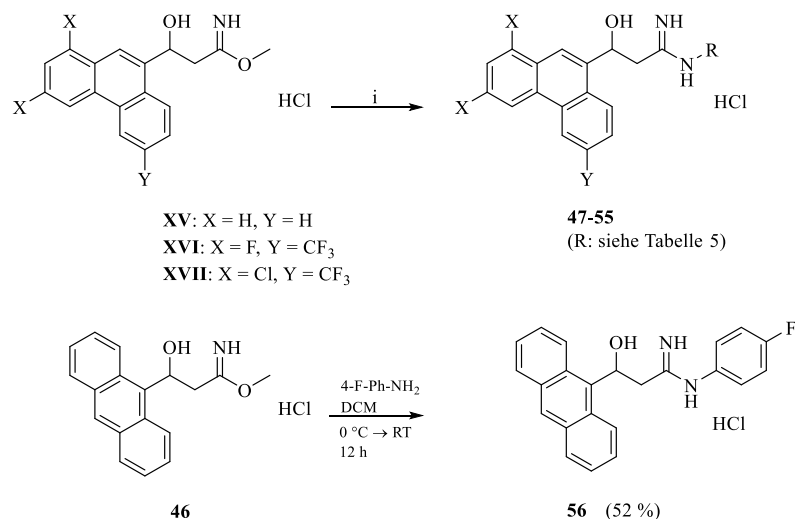
* Die Bindungslängen von **VIII** wurden mittels Röntgenkristallstrukturanalyse ermittelt

** Die Bindungslängen von **50, 53** wurden mittels ChemDraw3D berechnet

Schema 29. Vergleich der Bindungslängen zwischen C1 – C5 des Hydrazonamids **VIII** und der Amidine **50** und **53**.

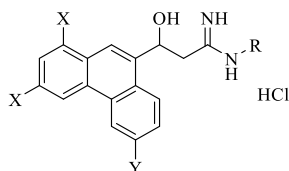
Die *N'*-arylierten Amidine **54** und **56** wurden ebenfalls aus den Imidaten **XVI** und **46** und den Anilinderivaten 4-Fluoranilin und 4-Methoxyanilin hergestellt.

Zur Darstellung der β -Hydroxypropanamidinderivate **47–56** wurden die Imidoester-Hydrochloride **XIII–XV** und **46** ohne vorherige Freisetzung der Base bei 0 °C in Dichlormethan suspendiert und mit den entsprechenden Aminen (Benzylaminderivate, Phenethylaminderivate) oder einem Anilinderivat (4-Fluoranilin, 4-Methoxyanilin) versetzt (Schema 29). Dabei bildete sich mit der Zeit eine klare Lösung, aus der nach einigen Stunden (2-6 h) die Verbindungen **47–56** als Hydrochloride langsam ausfielen. Nach dem Abfiltrieren der Amidin-Hydrochloride konnten diese aus Diethylether/Methanol umkristallisiert werden.



Schema 30. Syntheschema der 3-Hydroxypropanamidine **47–56**. i) 1.00 equiv. R-NH₂, DCM, 0 °C → RT, 12 h.

Tabelle 5. Hergestellte Amidine **47–55**.



Verb.	X	Y	R	Ausbeute [%]
47	H	H	4-fluorbenzyl	86
48	H	H	phenethyl	61
49	H	H	benzyl	72
50	H	H	4-fluorphenethyl	86
51	H	H	2-(2-pyridin-2-yl)-ethyl	84
52	H	H	4-methoxyphenethyl	70
53	F	CF ₃	4-fluorphenethyl	80
54	F	CF ₃	4-methoxyanilin	39
55	Cl	CF ₃	4-fluorphenethyl	50

Durch die Elementaranalyse ausgewählter Verbindungen (**47**, **48**, **50**, **51** und **55**) konnte das Vorliegen der Salzform (Hydrochlorid) bestätigt werden.

Das ¹H-NMR Spektrum (aufgenommen in DMSO-*d*₆) von Verbindung **54** zeigte zwischen 5.5 und 6.7 ppm zwei Signale (Abbildung 27). Ein breites Singulett bei 6.50

ppm, welches der β -Hydroxyfunktion zugeordnet werden konnte und ein Duplett bei 5.97 ppm, welches durch die Protonen an C-18 hervorgerufen wurde. Da kein weiteres Singulett mit dem Integral von 2 H in diesem Bereich zu detektieren war, jedoch breite Singuletts im Tieffeld (> 8 ppm) zu detektieren waren, wurde als vorliegende tautomere Form die Form 1 (Abbildung 25) beschrieben. Das Proton an N-21 ist am weitesten tieffeldverschoben, da es aufgrund des -I-Effektes des Aromaten und der benachbarten positiven Ladung am Iminostickstoff eine starke elektronische Entschirmung erfährt.

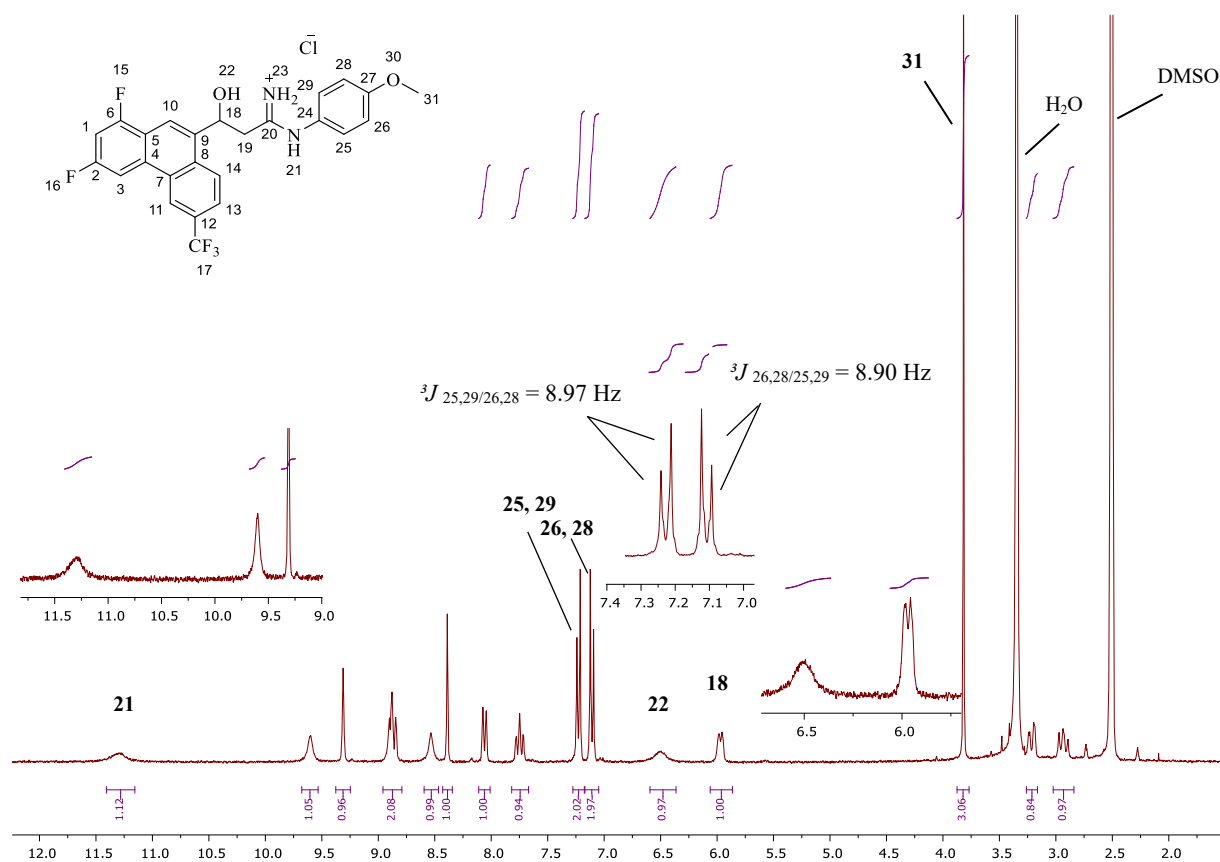


Abbildung 25. ^1H -NMR Spektrum von **54**, aufgenommen in $\text{DMSO}-d_6$.

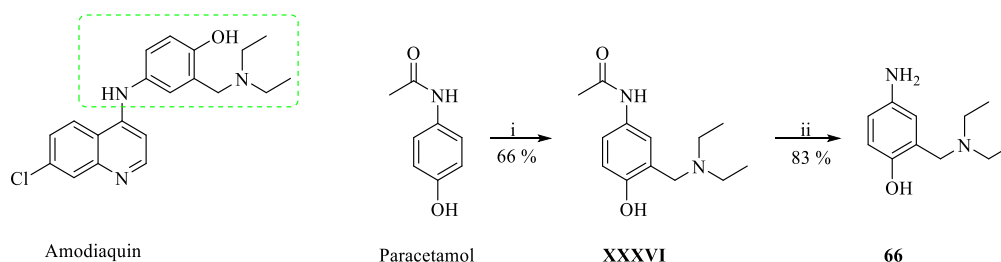
Bei der Synthese der Amidinderivate **49** und **50** konnten die analogen α , β -ungesättigten (dehydratisierte) Nebenprodukte **74** und **75** detektiert und isoliert werden (siehe Kapitel 5).

4.1.3 Direkte Synthese von *N'*-Arylamidinen aus Nitrilen und Anilinderivaten

Wie unter 1.6 beschrieben, konnten chinolinsubstituierte Imidate nicht mittels *Pinner* Reaktion aus den entsprechenden Nitrilen generiert werden. Daher wurde die von *Korbad*

et al. beschriebene Methode zur Darstellung von *N'*-Arylamidinen mit heterozyklischer Substitution in Region A als Synthesestrategie herangezogen.¹²⁵ Dabei wurden zunächst die Anilinderivate 4-Fluoranilin, 4-Methoxyanilin, 4-*tert*-Butylanilin und **66** mit Trimethylaluminium versetzt.

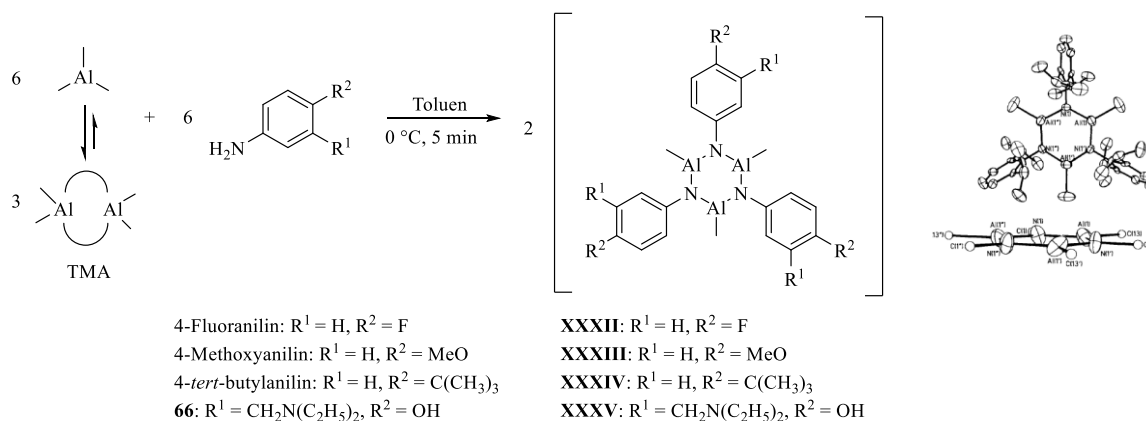
Das Amidinderivat **58**, welches in Region C einen 4-Hydroxy-3-(diethylamino)methylphenyl Substituenten trägt, wurde in Anlehnung an die hochaktiven Hydrazoneamide **27** und **31** hergestellt (*Pf3D7* IC₅₀: **27**: 0.0042 µM, **31**: 0.0002 µM). Das Strukturmerkmal, des mit einer Diethylaminomethyl-Gruppe substituierten 3-Hydroxyanilins, ist zudem aus dem Antimalariawirkstoff Amodiaquin bekannt (Schema 31). Das zur Synthese des Amidinderivates **58** notwendige Anilinderivat **66** wurde nach literaturbekannten Vorschriften hergestellt, indem Paracetamol (Acetaminophen) als Ausgangssubstanz diente (Schema 31).¹³⁷



Schema 31. Darstellung von **66**. i) 1.00 equiv. DEA, 1.00 equiv. OH-[CH₂O]_n-H, EtOH, Reflux, 6 h. ii) 20 % HCl, Reflux, 3 h.

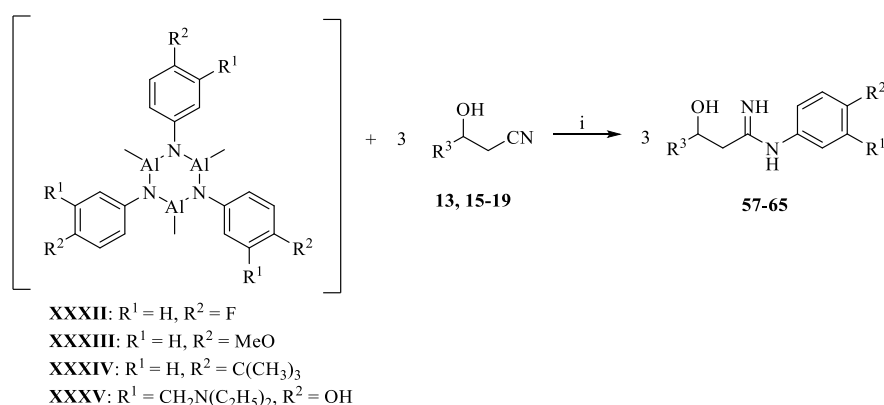
Paracetamol konnte selektiv durch ein intermediär gebildetes Carbenium-Iminium-Ion (aus Diethylamin (DEA) und Paraformaldehyd OH-[CH₂O]_n-H) an der meta-Position zur Amidfunktion durch eine S_EAr-Reaktion substituiert werden (**XXXVI**). Die saure Hydrolyse der Amidfunktion lieferte **66** in guter Ausbeute von 83 %.

Eine Umsetzung der Anilinderivate 4-Fluoranilin, 4-Methoxyanilin, 4-*tert*-Butylanilin und **66** mit Trimethylaluminium führt vermutlich zur Bildung sechsgliedriger Komplexe. *Waggoner et al.* isolierten 1988 einen [MeAlN(2,6-*i*-Pr₂C₆H₃)]-Komplex, indem sie Trimethylaluminium (TMA) mit 2,6-*i*-Propylanilin reagieren ließen.¹³⁸ Die Kristallstrukturanalyse zeigte, dass dabei 3 Moleküle TMA mit 3 Molekülen 2,6-*i*-Propylanilin reagierten und einen sechsgliedrigen, planaren Komplex ausbildeten (Schema 32).¹³⁸ Auf Grundlage dessen wurden die sich intermediär bildenden Aluminiumamid-Derivate **XXXII–XXXV** als sechsgliedrige Komplexe beschrieben, bei denen 3 Moleküle TMA mit 3 Molekülen Anilinderivat reagierten (Schema 32).



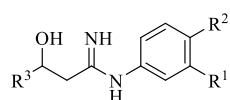
Schema 32. Synthese der Intermediate **XXXII-XXXV**, Darstellung in Anlehnung an die Kristallstrukturanalyse von $[\text{MeAlN}(2,6\text{-}i\text{-Pr}_2\text{C}_6\text{H}_3)]$ nach *Waggoner et al.*¹³⁸

Die intermediären Aluminium-Komplexe (**XXXII-XXXV**) reagierten anschließend nach Zugabe des entsprechenden Nitrils (**13, 15-19**) zur TMA-Anilin-Lösung zu den gewünschten *N'*-arylierten Amidinderivaten (Schema 33). Dabei wurde nach dem Syntheseprotokoll von *Korbad* verfahren und ein Stoffmengenverhältnis von 2:2:1 (Amin:TMA:Nitril) angewendet.¹²⁵ So konnten in einer Einstufensynthese die Verbindungen **57-65** dargestellt werden.



Schema 33. Synthese der 3-Hydroxypropanamidine **57-65**. i) Toluol/THF (1:1, V/V), $0 \rightarrow 50^\circ\text{C}$, 5 h.

Durch die Verwendung von TMA konnten Amidinderivate dargestellt werden, die in Region A sowohl aromatische Substituenten, wie Phenanthren- (**57-59**) und *tert*-Butylphenylbausteine (**60-63**), als auch heteroaromatische Substituenten, wie Chinolinbausteine (**64, 65**) tragen (Tabelle 6).

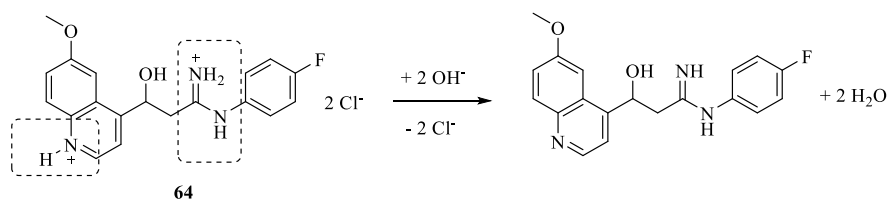
Tabelle 6. Hergestellte Amidinderivate **57–65**.

Verb.	R ¹	R ²	R ³	Ausbeute [%]
57	H	F	phenanthren-9-yl	28
58-2HCl	3-(diethylamino)-methyl	OH	phenanthren-9-yl	22
59	H	F	1-(1,3-dichlor-6-(trifluormethyl)-phenanthren-9-yl	51
60	H	F	4-(<i>tert</i> -butyl)phenyl	68
61	H	MeO	4-(<i>tert</i> -butyl)phenyl	36
62	H	4- <i>tert</i> -butyl	4-(<i>tert</i> -butyl)phenyl	68
63-HCl	H	F	3,5-(<i>di-tert</i> -butyl)phenyl	50
64-2HCl	H	F	6-methoxychinolin-4-yl	36
65	H	F	chinolin-4-yl	57

Alle Amidine bis auf **58**, **63** und **64** wurden als freie Basen isoliert. **58**, **63** und **64** konnten nicht als kristalline Produkte isoliert werden, sodass diese als Hydrochlorid-Salze isoliert wurden.

Das Amidin **64** besitzt zwei basische Zentren, daher sollte untersucht werden, ob die Substanz als Dihydrochlorid vorlag. Dazu wurde eine Titration des Salzes mittels NaOH und potentiometrischer Endpunktsanzeige durchgeführt. Zwei Wendepunkte zeigten, dass **64** als Dihydrochlorid ausgefallen ist (Schema 34).[†]

[†] Es wurde das Prinzip der Rücktitration angewendet, bei der der Stoff mit einem Überschuss Salzsäure versetzt wird, diese mit Natronlauge neutralisiert wird und anschließend die Neutralisierung des Hydrochlorid-Salzes erfolgt. Das Volumen zwischen dem 1. und 3. Wendepunkt wird abgelesen und zur Berechnung der Äquivalente verwendet. Es erfolgte eine potentiometrische Endpunktsanzeige.

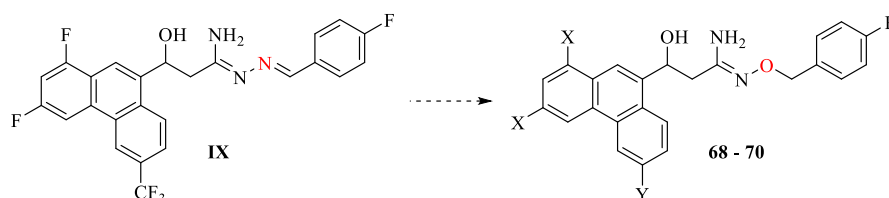


Schema 34. A. Neutralisierungsreaktion von **64** mit 0.1 N NaOH.

4.2 Region B Modifikationen: Amidoximderivate

4.2.1 Literaturübersicht

Als weitere Modifikation der Leitstruktur **IX** sollte in Region B ein Stickstoffatom des Hydrazonamidstrukturelementes durch ein Sauerstoffatom ersetzt werden, sodass sich die Struktur eines Amidoxims ergibt (Schema 35).



Schema 35. Geplante Strukturmodifikation der Region B der Leitstruktur **IX**.

Amidoxime (*N'*-Hydroxyamidine) leiten sich formal von Amidinen ab, die an *N*hydroxyliert sind, oder von Carbonsäureamiden, bei denen der Sauerstoff der Carbonylfunktion gegen die Hydroxyiminogruppe ausgetauscht wurde (Abbildung 26). Amidoxime sind amphotär. Das Proton der OH-Funktion lässt sich durch Basen abstrahieren ($pK_a \sim 13$), wohingegen Mineralsäuren den Stickstoff der Oximfunktionalität protonieren können (Abbildung 26).¹³⁹

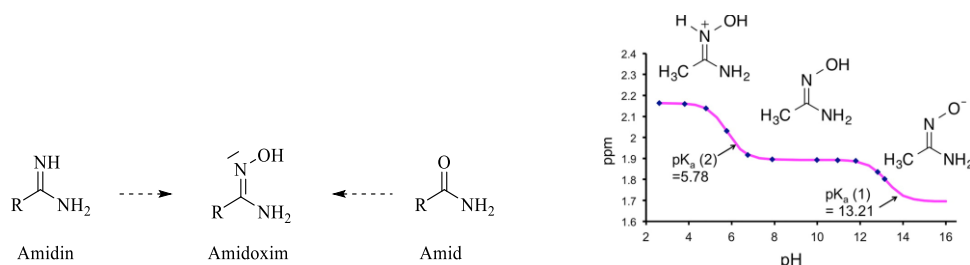
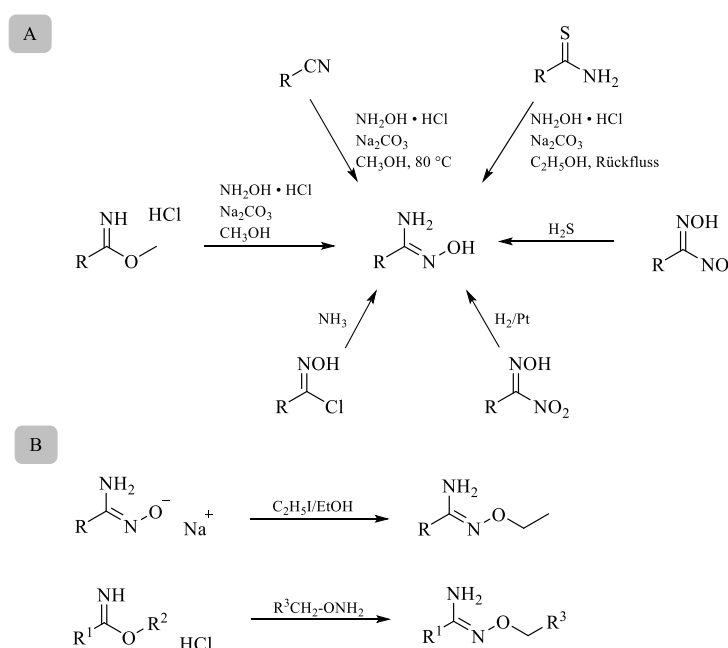


Abbildung 26. Das Amidoximstrukturelement und dessen Säure-Base-Verhalten, ermittelt durch die Veränderung der chemischen Verschiebung (ppm) des Signals der CH_3 -Gruppe von Acetamidoxim, modifiziert nach *Mehio et al.*¹³⁹

Das Schema 36 zeigt literaturbekannte Synthesen zur Darstellung der Amidoximstruktur. Sowohl die Umsetzung von Carbonsäurederivaten (Imidate, Nitrile, Thioamide) mit Hydroxylamin, als auch die Reduktion von Nitroso- und Nitrosylsäuren liefert Amidoximderivate. Werden Hydroximsäurechloride mit Ammoniak versetzt, können ebenfalls Amidoximstrukturen generiert werden (Schema 36, A).¹⁴⁰ Eine Möglichkeit zur Darstellung von *O*-alkylsubstituierten Amidoximen ist die Umsetzung eines Amidoxim-Natriumsalzes mit einem Iodethan (Schema 36, B).¹⁴¹ Des Weiteren lassen sich *O*-alkylsubstituierten Amidoxime durch die Umsetzung eines Imidat-Hydrochlorides mit einem alkylierten Hydroxylamin generieren (Schema 36, B).

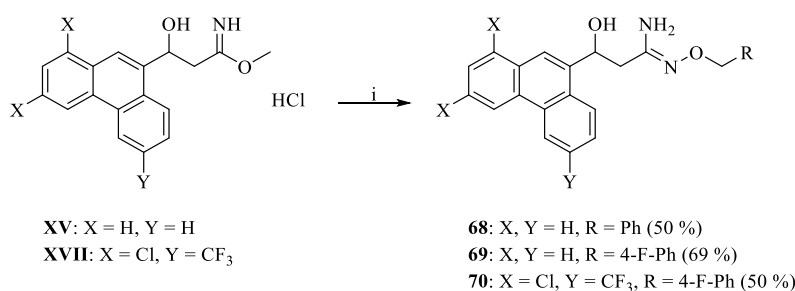


Schema 36. Übersicht zu literaturbekannten Synthesen von Amidoximen.

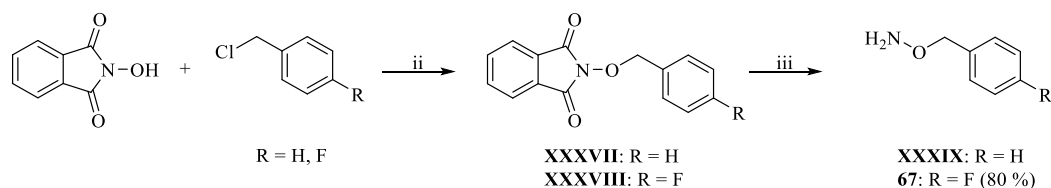
4.2.2 Synthese von Amidoximderivaten aus Imidat-Hydrochloriden und *O*-benzylsubstituierten Hydroxylaminen

In dieser Arbeit wurde zur Darstellung des Amidoximstrukturmerkmals die Umsetzung der Imidat Hydrochloride **XV** und **XVII** mit den Hydroxylaminderivaten **XXXIX** und **67** gewählt. So wurden drei Amidoximderivate mit *O*-Benzyl- bzw. *O*-(4-Fluor)benzylsubstitution hergestellt (**68–70**) (Schema 37, A).

A



B



Schema 37. A. Darstellung der Amidoxime **68–70**. B. Darstellung der Hydroxylamine **XL** und **67**. i) 1.00 equiv. **XXXIX** oder **67**, DCM, RT, 12 h. ii) 1.10 equiv. NHPI, 1.10 equiv. Et₃N, ACN, Reflux, 5 h. iii) 3.00 equiv. N₂H₄·H₂O, MeOH, RT, 1 h.

O-Benzylhydroxylamin **XXXIX** und *O*-(4-Fluorbenzyl)hydroxylamin **67** wurden nach bekannten Synthesevorschriften hergestellt.^{142,143} Benzylchlorid bzw. 4-Fluorbenzylchlorid wurden mit *N*-Hydroxyphthalimid umgesetzt, sodass sich die phthaloyl-geschützten Derivate **XXXVII** und **XXXVIII** ergaben. Die *O*-benzylsubstituierten Hydroxylamine **XXXIX** und **67** wurden nach Hydrazinolyse der Phthaloylschutzgruppe erhalten (Schema 37, B).

Die ¹H-NMR Spektren der Verbindungen **68** und **69** zeigten bei 5.83–5.86 ppm ein breites Singulett mit dem Integral von 2 Protonen, sodass davon auszugehen war, dass die in Abbildung 27 dargestellte tautomere Form I vorlag. Das Amidoxim **70** zeigte im ¹H-NMR Spektrum zwei Signale für die NH Protonen, die zwei Singulets bei 7.31 und 7.14 ppm ergaben. Dies ist wahrscheinlich auf eine intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung (WBB) zwischen dem Proton der NH Funktion der Amidoximstruktur und dem freien Elektronenpaar des Sauerstoffatoms der β-Hydroxyfunktion zurückzuführen (Abbildung 27).

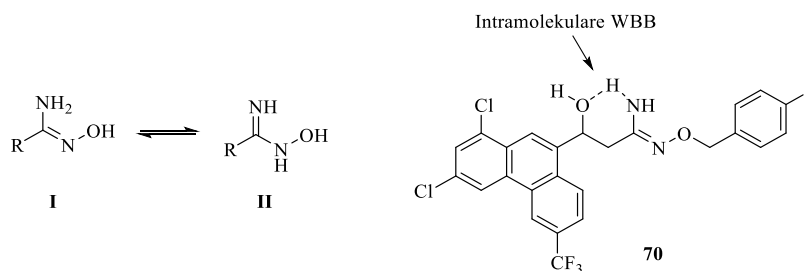


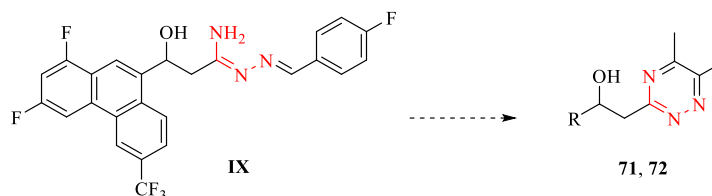
Abbildung 27. Tautomere Formen des Amidoximstrukturelementes und mögliche intramolekulare Interaktionen des Amidoxims **70**.

Die Ausbeuten der Amidoxime **68** und **69** waren im Vergleich zu den Amidinanaloga **47** und **49** die ebenfalls aus Imidat Hydrochloriden dargestellt wurden, geringer (Ausbeuten: **68**: 50 % vgl. **49**: 72 %; **69**: 69 % vgl. **47**: 72 % (Kapitel 3.2)). Trotz einer geringeren Ausbeute von bis zu 22 % wurden die Amidoxime **68–70** direkt aus den Imidat-Hydrochloriden **XV** und **XVII** hergestellt. Eine Freisetzung der Imidatbase wurde aufgrund der Hydrolyseempfindlichkeit und der schlechten Löslichkeit der Imidat-Hydrochloride **XVII** und **XVII** in wässrigen Medien nicht durchgeführt.

4.3 Region B Modifikationen: 1,2,4-Triazine

4.3.1 Literaturübersicht

Die dritte Modifikation der Leitstruktur **IX** in Region B sah eine Integration des Hydrazonamidstrukturelementes in ein heterozyklisches Ringsystem vor (Schema 38). So wurde die Konstitution eines Hydrazonamids beibehalten, aber dessen Möglichkeit zur Ausbildung von Tautomerie, E/Z Isomerie und Komplexbildung einschränkt bzw. verhindert.



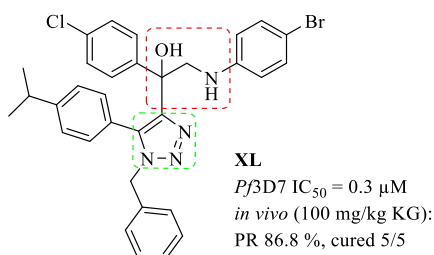
Schema 38. Modifikation der Region B der Leitstruktur **IX** zu einem 1,2,4-Triazin.

Allgemein stellen stickstoffhaltige Heterozyklen interessante Bausteine für die Entwicklung neuer Arylaminoalkohol Analoga dar (Schema 39, **XL**).¹⁴⁴ Das Antimalariamittel Proguanil wird in vivo in den aktiven Metaboliten Cycloguanil, ein 1,6-

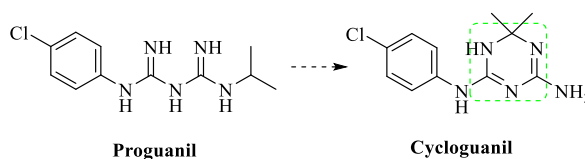
Dihydro-1,3,5-triazin umgewandelt (Schema 39).^s Neben der antiplasmodialen Wirkung weisen einige Triazinisomere antimikrobielle¹⁴⁵, leishmanielle (**XLI**)^{146,147} und fungizide (**XLII**)¹⁴⁸ Wirkungen auf (Schema 39), sodass das Triazinstrukturmerkmal als interessanter Baustein für die Modifikation in Region B ausgewählt wurde.

Triazine sind sechsgliedrige Heterozyklen mit drei Stickstoffatomen, wobei zwischen den Konstitutionsisomeren 1,2,3- , 1,2,4- und 1,3,5-Triazin unterschieden wird. 1965 beschrieb *Paudler* auf der Grundlage von *Ratz* und *Schröder* (1958) die Darstellung eines 1,2,4-Triazins ausgehend von einem Hydrazonamid mit Glyoxal (Schema 39, I).¹⁴⁹ Eine weitere Methode zur Darstellung von 1,2,4-Triazinen ist die Umsetzung von Hydrazidderivaten mit Ammoniak (II).¹⁵⁰ Die Zyklisierung eines Semicarbazids mit *N*-Methylisatin liefert ein an C3 funktionalisiertes Triazin (III).¹⁴⁶

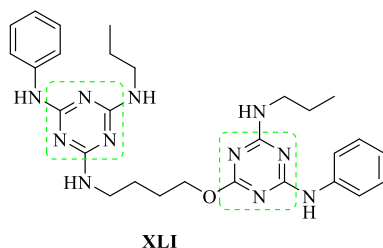
^s Die synergistische Wirkung der Kombination Atovaquon/Proguanil (Malarone®) kommt vermutlich direkt durch Proguanil und nicht durch seinen aktiven Metaboliten Cycloguanil zustande. Der durch Atovaquon hervorgerufene Zusammenbruch des Membranpotentials wird dabei durch Proguanil unterstützt.¹⁷⁰ Atovaquon hemmt den mitochondrialen Elektronentransport, da es eine strukturelle Ähnlichkeit zum Ubichinon aufweist.

Arylaminoalkohol **XL** mit 1,2,3-Triazolstruktur


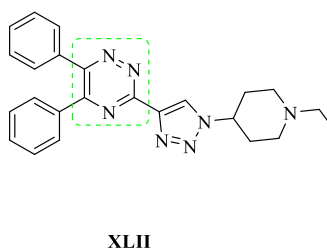
Bioaktivierung des Proguanils zum 1,3,5,2-Dihydrotriazin (Cycloguanil)



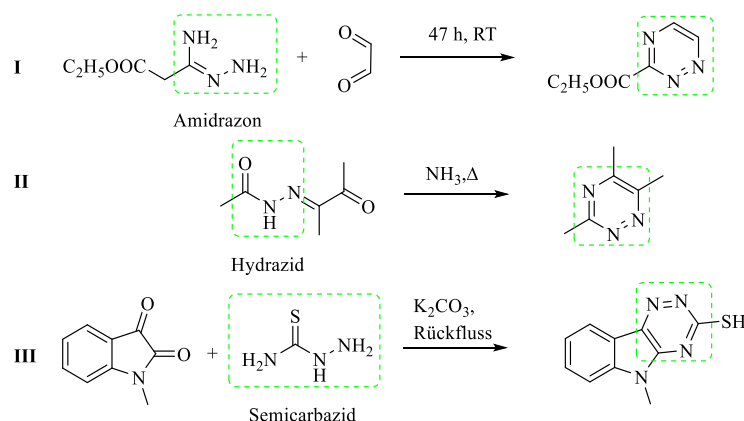
1,3,5-Triazin mit antileishmanialer Wirkung



1,2,4-Triazin mit fungizider Wirkung



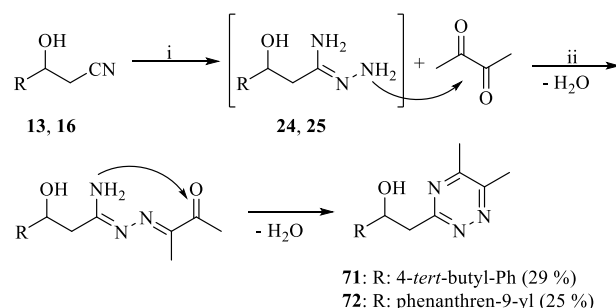
Darstellung von 1,2,4-Triazinen


Schema 39. Literaturübersicht über stickstoffhaltige Heterozyklen in der antiparasitären Arzneistoffforschung und bekannte Synthesemethoden zur Darstellung von 1,2,4-Triazinen.

4.3.2 Synthese der 1,2,4-Triazine **71** und **72**

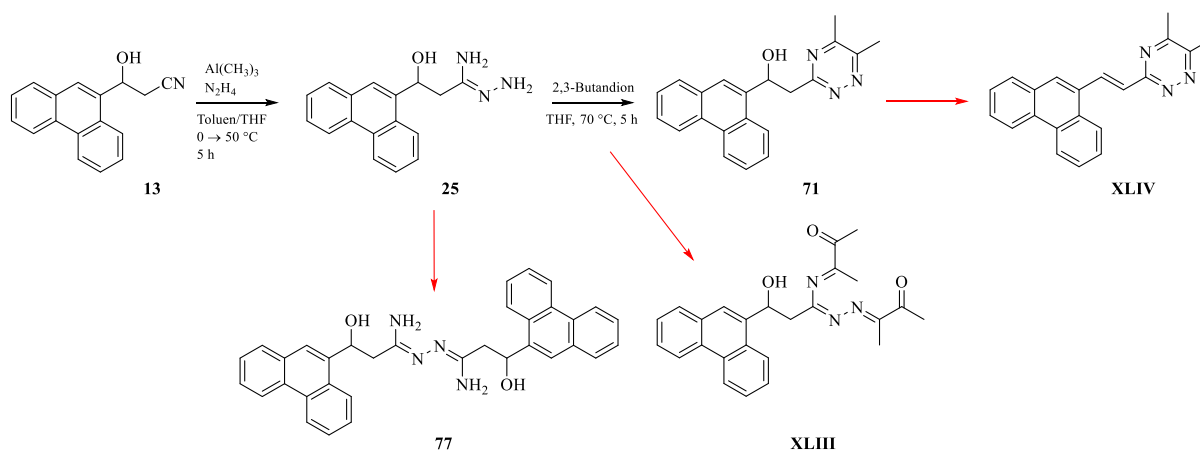
Zur Darstellung der 1,2,4-Triazine **71** und **72** wurden zunächst die Amidrazone **24** und **25** über den in Kapitel 3.1 beschriebenen Syntheseweg dargestellt, indem eine 1 M Lösung von Hydrazin in THF mit einer 2 M TMA-Lösung in Toluol versetzt wurde und sich so intermediär ein Aluminium-Hydrazin-Komplex bildete. Dieser reagierte mit den Nitrilen **13** und **16** zu den Amidrazonen **24** und **25** (Schema 40).

Anschließend wurde die in Schema 39, I dargestellte Zyklisierungsreaktion durchgeführt, wobei die Reaktionszeit von mehr als 40 Stunden durch Erhitzen der Reaktionslösung verkürzt wurde. **24** und **25** wurden mit 2,3-Butandion bei 70 °C zu den 1,2,4-Triazinen **71** und **72** umgesetzt (Schema 40).



Schema 40. Darstellung der Verbindungen **71** und **72**. i) 2.00 equiv. N_2H_4 (1 M in THF), 2.00 equiv. $\text{Al}(\text{CH}_3)_3$ (2 M in Toluol), Toluol/THF (1:1, V/V), 0 $\rightarrow$ 50 °C, 5 h. ii) 1.50 equiv. 2,3 - Butandion, THF, 70 °C, 5 h.

Allerdings waren die Ausbeuten dieser Reaktionen mit 29 % (**71**) bzw. 25 % (**72**) gering. Die Ursache für die geringen Ausbeuten lässt sich unter anderem auf die Bildung von Nebenprodukten während der Zyklisierungsreaktion zurückführen. Die massenspektrometrische Analyse des Reaktionsansatzes von **71** vor dem Reinigungsschritt zeigte die Bildung dehydrierter (**XLIII**) und dimerisierter (**77**) Nebenprodukte, sowie ein weiteres Nebenprodukt bei dem zwei Moleküle 2,3-Butandion mit dem Hydrazonamidstrukturelement kondensierten (**XLIV**) (Schema 41).



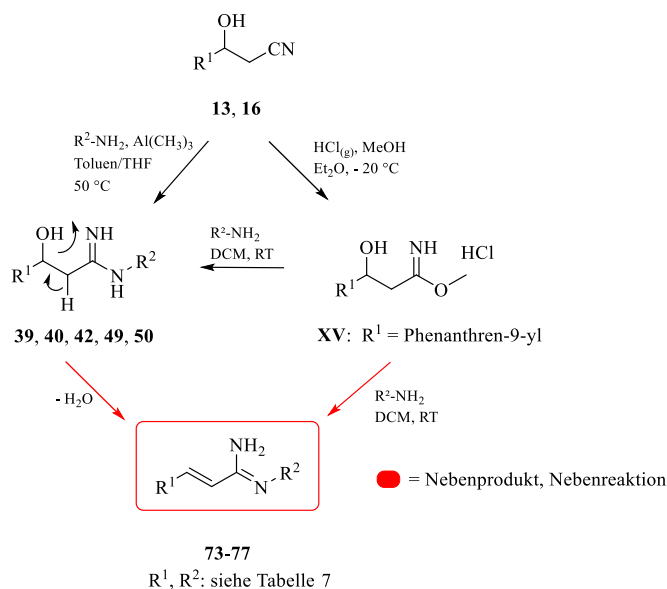
Schema 41. Synthese von **71** und während der Synthese aufgetretende Nebenprodukte (**77**, **XLIII**, **XLIV**).

5 Nebenprodukte aus den Kapiteln 3 und 4

5.1 Dehydratisierte Nebenprodukte

Durch die benzyliche Lage der Hydroxyfunktion zum Aromaten und der β -Ständigkeit zu den mesomeriestabilisierten Strukturen der Imidate, Hydrazonamide und Amidine ist eine Dehydratisierungsreaktion möglich. Denn die sich bildenden α , β -ungesättigte Analoga sind wahrscheinlich thermodynamisch stabiler. Getrieben durch die Reaktionsentropie bedurfte es nur geringer Aktivierungsenergie (RT, 50 °C), um diese Nebenprodukte zu erhalten und zu detektieren.

Die Nebenprodukte **73**, **76** und **77** wurden bei der Darstellung der Zielverbindungen **39**, **40**, und **42** isoliert. Die Synthese der Hydrazonamidderivate **39**, **40** und **42** ging dabei direkt von dem entsprechenden Nitril (**13**, **16**) aus, welches mit TMA umgesetzt wurde. Da bei der Darstellung der Nitrile **13** und **16** keine dehydratisierten Nebenprodukte detektiert wurden, lässt sich rückschließen, dass die Entstehung der Nebenprodukte **73**, **76** und **77** während der Darstellung der Hydrazonamidderivate **39**, **40** und **42** stattgefunden hat (Schema 42).

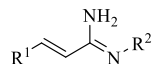


Schema 42. Postulierte Dehydratisierungsreaktionen am Beispiel der isolierten Nebenprodukte **73–77** und ihren entsprechenden Vorstufen.

Die Nebenprodukte **74** und **75** wurden während der Umsetzung des Imidat Hydrochlorids **XV** mit dem entsprechenden Amin (Benzylamin, 4-Fluorphenethylamin) detektiert und

anschließend bei der Reinigung der eigentlichen Produkte, der Amidinderivate **49** und **50**, isoliert (Schema 42).

Tabelle 7. Isolierte Dehydratisierungsprodukte **73–77**.



	R ¹	R ²
73	phenanthren-9-yl	morpholin-1-yl
74-HCl	phenanthren-9-yl	benzyl
75-HCl	phenanthren-9-yl	4-fluorphenethyl
76	phenanthren-9-yl	<i>N</i> -methyl- <i>N</i> -phenyl
77	4- <i>tert</i> -butylphenyl	piperidin-1-yl

Alle isolierten Nebenprodukte **73–77** zeigten eine leicht gelbliche Farbe. Dies ist nach bisherigen Erkenntnissen auf die Vergrößerung des mesomeren Systems durch Ausbildung der α,β-ungesättigten Doppelbindung zurückzuführen. Durch die vergrößerte Konjugationsfähigkeit des Moleküls ist weniger Anregungsenergie notwendig, sodass die Absorption elektromagnetischer Strahlung um einen Wellenlängenbereich von 400 - 500 nm erfolgte und damit das Molekül eine gelbliche Farbe annahm. Die dehydratisierten Verbindungen zeigten aufgrund der geringeren Hydrophilie höhere R_f-Werte bei einer dünnsschichtchromatographischen Reaktionskontrolle und längere Retentionszeiten bei HPLC-Reinheitsuntersuchungen.

Abbildung 28 zeigt das ¹H-NMR Spektrum von Verbindung **76**. Die beiden Protonen an C-11 und C-12 zeigten Kopplungskonstanten von ³*J* = 16.73 Hz bzw. 16.75 Hz. Diese Kopplungskonstanten wiesen auf eine *E*-Ständigkeit der Doppelbindung hin. Ein Vergleich mit literaturbekannten Spektren von *E*-Zimtsäure zeigte ebenfalls Kopplungskonstanten von *J* = 16 Hz für die entsprechenden Protonen.¹⁵¹ Das Singulett bei 5.96 ppm ließ sich den Protonen an N-14 zuordnen. Das Integral von 2 H weist auf die in Abb. 31 dargestellte tautomere Form hin.

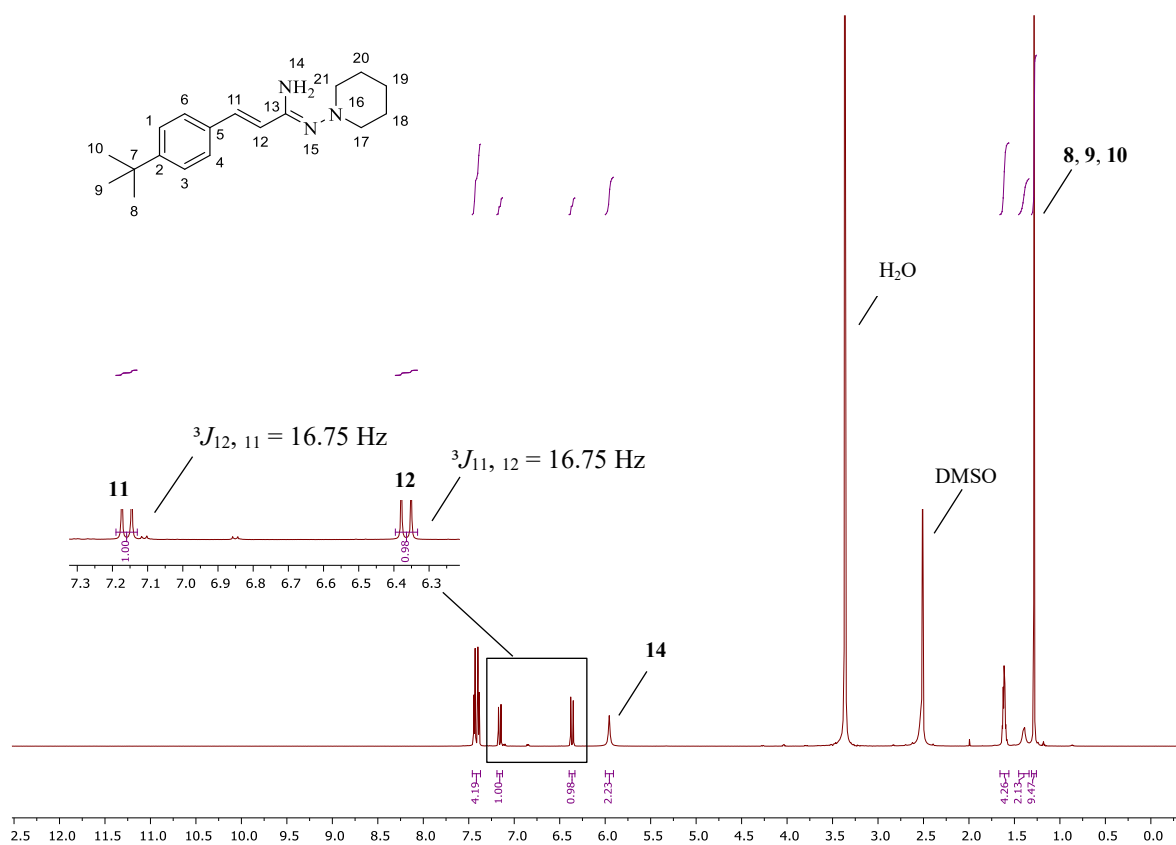
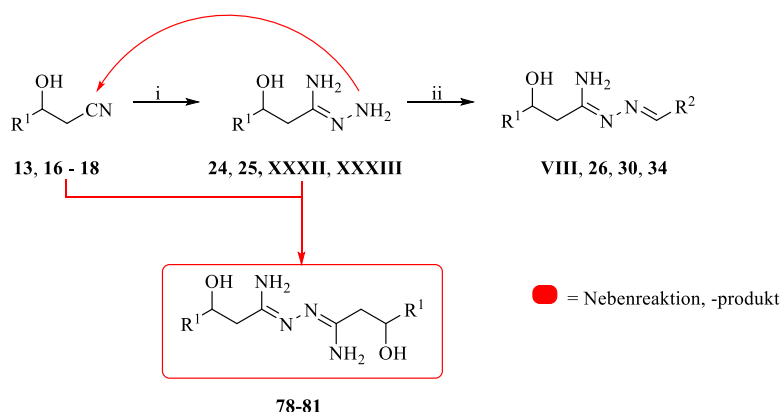


Abbildung 28. ^1H -NMR Spektrum der Nebenkomponente **76**, aufgenommen in $\text{DMSO}-d_6$.

5.2 Dimerisierte Nebenprodukte

Dimerisierte Nebenprodukte konnten bei der Umsetzung der Nitrile **13**, **16–18** mit Hydrazin (1 M in THF) und TMA (2 M in Toluol) zum Amidrazon detektiert werden. Dimerisierte Nebenprodukte können dadurch entstehen, dass die Aminofunktion der sich bildenden Amidrazonstruktur an das sp-hybridisierte Kohlenstoff der Nitrilstruktur angreift (Schema 43).^t



Schema 43. Entstehung der Dimere **78–81**, dargestellt anhand der unter Kapitel 2 beschriebenen Syntheseroute. i) 2.00 equiv. N_2H_4 (1 M in THF), 2.00 equiv. $\text{Al}(\text{CH}_3)_3$ (2 M in Toluol), Toluol/THF (1:1, V/V), 0 $\rightarrow$ 50 $^\circ\text{C}$, 5 h. ii) 1.00 equiv. 4-F-PhCHO, THF, RT, 12 h

Tabelle 8. Isolierte dimerisierte Nebenprodukte.

	R^1	Isolierter Anteil [%]	Ausbeute des Hauptprodukts [%]
78	phenanthren-9-yl	18	55
79	4- <i>tert</i> -butylphenyl	14	41
80	3,5-di- <i>tert</i> -butylphenyl	10	33
81	chinolin-4-yl	10	14

^t Im Rahmen dieser Arbeit wurden Hydrazonamide direkt aus Nitrilen hergestellt. Frühere Synthesearbeiten zeigten bei der Darstellung der Hydrazonamide **VIII–XII** aus Imidat Hydrochloriden (**XV–XVII**) ebenfalls das Auftreten von dimerisierten Nebenprodukten. Während orientierender Versuche zur Darstellung von **VIII** über den neuen Syntheseweg mit TMA wurden das Dimer **77** isoliert.

6 Physikochemische und biologische Evaluation

6.1 Drug-likeness Evaluation und Stabilitätsuntersuchung

6.1.1 Lipinski's Rule of Five

Die Lipinski Rule of Five (RoF) beruht auf der empirischen Annahme, dass Wirkstoffe eine gute orale Bioverfügbarkeit besitzen, deren Molekulargewicht unter 500 Dalton liegt, die zudem weniger als 5 Wasserstoffbrücken-Donoren und weniger als 10 Akzeptoren besitzen und einen logP Wert kleiner 5 aufweisen.

Jedoch hat eine Auswertung von *Schneider et al.*, bei der die Molekülstrukturen von Arzneistoffen aus Patenten der letzten 40 Jahre ausgewertet wurden, gezeigt, dass der Trend in der Arzneistoffentwicklung von dieser Regel immer mehr abweicht. Die Autoren ziehen aus ihrer Analyse den Schluss, dass heutige Arzneistoffmoleküle größer, hydrophober und starrer sind, als noch vor 40 Jahren.¹³²

Der *drug-likeness score* vergleicht die Strukturen (chemischer Fingerprint) zugelassener Arzneistoffe, mit denen von nicht als Arzneistoffen angewendeten Molekülen. Je näher der Wert der Zahl 1 ist, desto größer ist die *drug-likeness* dieser Verbindung.^u

Tabelle 10 zeigt eine Auflistung der Deskriptoren für ausgewählte Verbindungen aus den Kapitel 3 und 4.

Tabelle 9. Lipinskys Rule of five und *drug likeness* score für ausgewählte Verbindungen.

	Mr	<i>n</i> OHNH ^a	<i>n</i> ON ^b	MolLogP ^c	<i>n</i> rot ^d	<i>drug-likeness score</i> ^c
RoF	< 500	< 5	< 10	< 5	--	--
IX	489.42	3	4	7.15	6	0.38
27	424.59	4	6	4.53	10	1.22
31	480.70	4	6	6.15	11	0.72
33	366.40	3	6	3.26	6	1.04
37	347.46	3	4	4.13	4	0.79
54	510.89	4	2	6.73	7	0.68

^aAnzahl der Wasserstoffbrückendonoren, ^bAnzahl der Wasserstoffbrückenakzeptoren, ^cmolsoft, Version 2018, ^dfrei drehbare Bindungen

^u Der Trainingssatz für diesen Modus bestand aus: 5K der vermarkteten Arzneistoffe (positiv); 10K sorgfältig ausgewählte Nicht-Arzneimittel-Verbindungen (negativ)

Verbindung **27**, ein in Region A 4-*tert*-Butylphenyl-substituiertes Hydrazonamidderivat, war die vielversprechenste aller gelisteten Verbindungen (Tabelle 10). Sie entsprach vollständig der Lipinski's Rule of Five (**27**: 424.59 g/mol, *n*OHNH: 4, *n*ON: 6, MollogP: 4.53) und zeigte einen guten *drug-likeness score* (1.22).

Die *in vitro* und *in vivo* sehr aktive Leitstruktur **IX** zeigte in Löslichkeitsstudien eine geringe Wasserlöslichkeit⁸⁵, die sich auf die orale Bioverfügbarkeit auswirken könnte.^v Sowohl Modifikationen in Region A (**27**, **31** und **33**), in Region C (**37**), als auch in Region B (**54**) verbesserten die kalkulierten Parameter Molekulargewicht, Wasserstoffbrücken-Donoren und Akzeptoren und logP, die nach Lipinski mit der oralen Bioverfügbarkeit in Zusammenhang stehen.

6.1.2 Stabilität der Verbindungen **31** und **54**

Verbindung **31** ist ein 3-Hydroxy-*N'*-arylidienpropanhydrazonamid-Derivat mit einem Diethylaminomethylensubstituenten in Region C (Abbildung 29). **31** wurde als Testverbindung für eine Stabilitätsuntersuchung ausgewählt, da sie sehr gute antiplasmodiale Ergebnisse lieferte (*Pf3D7* IC₅₀: 0.0002 µM, *PfDd2* IC₅₀: 0.037 µM, SI: 35 590).

Um eine weitere Substanz mit guter antiplasmodialer Wirksamkeit gegen *Pf3D7* und *PfDd2* auf ihre Stabilität im wässrigen Medium zu testen, wurde das Amidinderivat **54** (*Pf3D7* IC₅₀: 0.0003 µM, *PfDd2* IC₅₀: 0.0003 µM, SI: 14 353) ausgewählt.

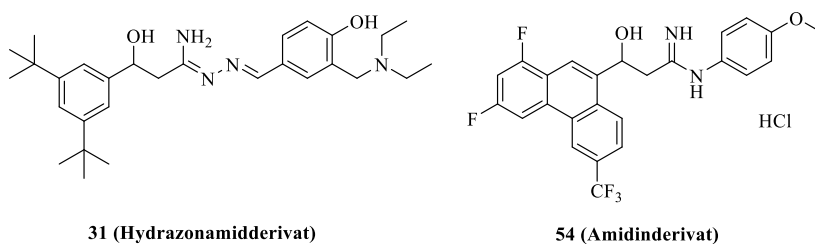


Abbildung 29. Ausgewählte Verbindungen **31** und **54** zur Stabilitätsuntersuchung.

^v Die orale Bioverfügbarkeit ist abhängig von mehreren Faktoren, dazu zählen die Wasserlöslichkeit des Wirkstoffes, die Permeation, sowie die metabolische Stabilität. Das biopharmazeutische Klassifizierungssystem (BCS) teilt Arzneistoffe hinsichtlich ihrer Löslichkeit und Permeabilität in vier Klassen (I-IV) ein, hohe Löslichkeit und Permeabilität (Klasse I) bis schlechte Löslichkeit und Permeabilität (Klasse IV). Die Leitstruktur **IX** zeigte eine geringe Wasserlöslichkeit, sodass sie den Klassen II oder IV zuzordnen ist.

Im Rahmen der präklinischen Wirkstoffentwicklung gilt es, die Stabilität von möglichen Arzneistoffkandidaten zu evaluieren, um ihre Empfindlichkeit gegenüber verschiedenen Parameter wie z.B.: Feuchte, pH-Wert zu untersuchen.^w Die ICH Guideline Q1A(R2) beschreibt zwei Arten von Stabilitätsuntersuchungen.¹⁵² Den sogenannten Stresstest, bei dem Parameter wie Wärme, Feuchte, pH und Oxidationsempfindlichkeit getestet werden. Diese Einflüsse sollen Extrembedingungen nachstellen, können aber auch bei entsprechendem Bedarf durch Extrapolation als Anhaltspunkt zur Überprüfung der Langzeitstabilität dienen. Dies ist die zweite Stabilitätsforderung, die sogenannten Langzeituntersuchungen, bei denen ein Arzneistoff mehrere Monate konstanten Bedingungen (z.B. gemäßigte Zone: Temperatur / Feuchte; $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ / $60\% \pm 5\%$) ausgesetzt wird.

In diesem Kapitel sind erste, orientierende Versuche anhand der Veränderung dreier Parameter aufgeführt, die im Rahmen der Herstellung und Lagerung, sowie der *in vitro* und *in vivo* Evaluation Einfluss auf die Stabilität der Testverbindung haben könnten.

Da alle Syntheseendstufen als Feststoffe in Pillengläsern gelagert wurden, sollte der Einfluss von Tageslicht untersucht werden.

Als allgemeine Vorgehensweise bei der *in vitro* Testung wurden Stammlösungen aus den Testverbindungen in DMSO in 1.5 mL Mikroreaktionsgefäßen (Sarstedt) hergestellt. Diese Stammlösungen wurden bei -20 °C gelagert und kurz vor der Durchführung der entsprechenden Assays aufgetaut. Um die Stabilität in DMSO zu untersuchen, wurden die Testverbindungen einen Monat in DMSO gelagert^x, anschließend lyophilisiert und mittels HPLC-Analytik untersucht (Experimenteller Teil, Methode 1).

Bei der Durchführung des *in vivo* Tests im Mausmodell werden die Testverbindungen alle 24 Stunden oral appliziert (siehe Kapitel 6.3). Um zu analysieren, ob die Testverbindungen bei physiologischem pH-Wert (7.5) in wässrigem Medium über 24

^w Dabei kann zwischen den verschiedenen Phasen der Arzneistoff- und auch der Arzneimittelentwicklung unterschieden werden. Potentielle Wirkstoffkandidaten sollten schon frühzeitig während der präklinischen Entwicklung auf ihre chemische und metabolische Stabilität untersucht werden. Im Rahmen der Arzneimittelherstellung werden Haltbarkeitstests durchgeführt, die letztendlich für die Zulassung eines Arzneimittels erforderlich sind.

^xAls Proben wurden die NMR Proben verwendet, sodass streng genommen eine Lagerung in DMSO-*d*₆ stattgefunden hat. Jedoch findet mit der Zeit ein Austausch der deuterierten Wasserstoffatome gegen ¹H statt, sodass von dieser Spitzfindigkeit abgesehen werden kann.

Stunden stabil sind, wurden die Verbindungen **31** und **54** in Phosphatpuffer pH 7.5 gelöst und zu festgelegten Zeitpunkten ($t = 0, 1, 3, 6$ und 24 Stunden) mittels HPLC-Analytik untersucht (Experimenteller Teil, Methode 1).^y

Um zu bewerten, ob sich die bei der Reinheitsuntersuchung verwendete HPLC Methode auch zur Stabilitätsmessung eignet, wurde eine Linearitätsbestimmung mittels 5–Punkt–Kalibrierung für die Verbindung **31** durchgeführt (Abbildung 30).

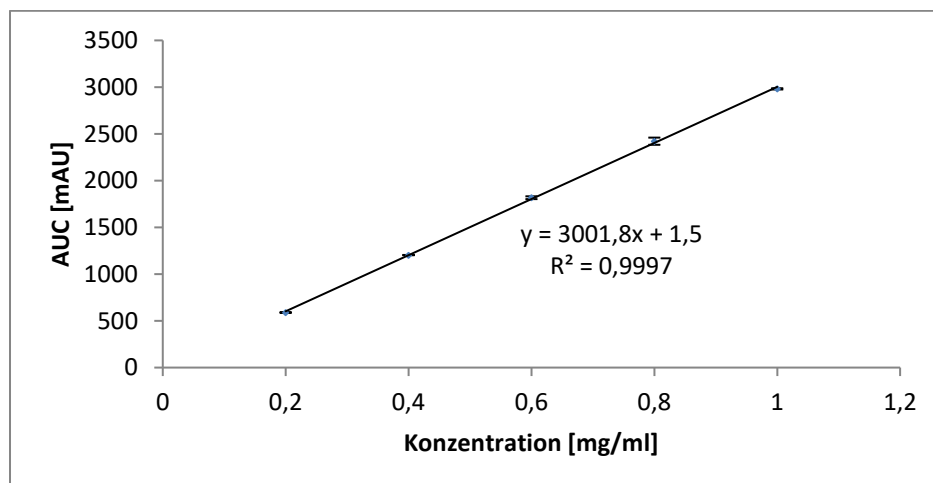


Abbildung 30. Linearitätsbestimmung von **31**, $n = 3$, $m \pm s$.

Abbildung 30 zeigt, dass mit der gewählten HPLC-Methode in dem Konzentrationsbereich $0,2 \text{ mg/mL} - 1,0 \text{ mg/mL}$ ein linearer Zusammenhang zwischen der Konzentration und dem Detektorsignal bestand. Daher war diese Methode geeignet, für den Arbeitsbereich $0,2 \text{ mg/mL}$ bis 1 mg/mL einen Zusammenhang zwischen Konzentration und AUC zu untersuchen. Um eine Aussage über die Reproduzierbarkeit der Analysenergebnisse zu tätigen, müsste die Methode validiert werden. Dies beinhaltet u.a. neben der Untersuchung auf Linearität, die Überprüfung auf Richtigkeit, Wiederhol- und Vergleichspräzision, sowie die Ermittlung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze (ICH Q2(R1)).¹⁵³ Dies macht deutlich, dass ein Substanzvorrat von mehreren Gramm vorhanden sein muss. Da eine Validierung der Methode aufgrund des Zeit- und Materialumfanges nicht möglich war, wurde die Angabe des Gehaltes in Relation zum Zeitpunkt $t = 0 \text{ h}$ gesetzt.

^y **31** und **54** waren nicht vollständig in Phosphatpuffer pH 7.5 löslich, sodass eine Stammlösung von **31** und **54** mittels Tween20/EtOH (7:3, V/V) hergestellt und diese mit Phosphatpuffer verdünnt wurde, bis eine Endkonzentration von $0,8 \text{ mg/ml}$ erreicht wurde (max. Tween-Konzentration $\leq 5 \%$).

Tabelle 10. Stabilitätsuntersuchungen von **31**.

Puffer ^a		DMSO ^b		Licht ^c	
t [h]	Gehalt [%]	t [d]	Zerfall	t [d]	Zerfall
0	100	0	nein	0	nein
1	99	30	nein	30	nein
3	97	^a Phosphatpuffer pH 7.5 (Ph. Eur.), Einfachmessung zu zwei verschiedenen Zeitpunkten. ^b Probe 1 Monat gelöst in DMSO, anschließend lyophilisiert, n = 1. ^c Tageslicht, n = 1.			
6	98				
24	97				

Tabelle 11. Stabilitätsuntersuchungen von **54**.

Puffer ^a		DMSO ^b		Licht ^c	
t [h]	Gehalt [%]	t [d]	Zerfall	T [d]	Zerfall
0	100	0	Nein	0	nein
1	100	30	nein	30	nein
3	100	^a Phosphatpuffer pH 7.5 (Ph. Eur.), Einfachmessung zu zwei verschiedenen Zeitpunkten. ^b Probe 1 Monat gelöst in DMSO, anschließend lyophilisiert, n = 1. ^c Tageslicht, n = 1.			
6	100				
24	99				

Tabelle 10 und 11 zeigen, dass beide Verbindungen, das Hydrazonamidderivat **31** und das Amidinderivat **54** bei einem pH-Wert von 7.5 über 24 Stunden stabil waren. Der Gehalt von **31** sank dabei nach 24 Stunden in Relation zum Zeitpunkt t = 0 h um 3 %, das Amidinderivat **54** zeigte eine relative Gehaltsabnahme von 1 % nach 24 Stunden. Daraus lässt sich ableiten, dass sowohl das Hydrazonamidstrukturelement (**31**) als auch die Amidinstrukturelement (**54**) nicht bis gering hydrolyseanfällig waren und sich demnach beide Strukturen als Testverbindungen zur weiteren, präklinischen Evaluation im Zell- bzw. Lebendassay eigneten. Auch die Lagerung als Stammlösung in DMSO und als Feststoff in lichtdurchlässigen Gefäßen führten zu keinem detektierbaren Zerfall der Verbindungen, sodass eine Lagerung unter diesen Bedingungen stattfinden kann.

6.2 Biologische Evaluation der antiplasmodialen *in vitro* Aktivität

Die aufgeführten finalen Verbindungen **26–45**, **47–65**, **68–72** und die Nebenprodukte **73–81**, sowie die beiden Referenzen Chloroquin (CQ) und Mefloquin (MFQ) wurden hinsichtlich ihrer antiplasmodiale Aktivität gegenüber dem chloroquin-sensitiven Stamm *Pf3D7* und dem multiresistenten Stamm *PfDd2* in einem zellbasierten Assay untersucht.^z Ein targetbasierter Assay für die Verbindungsklasse der Arylaminoalkohole und deren Analoga ist nach jetzigem Kenntnisstand nicht vorhanden.

Zusätzlich wurde ihre Zytotoxizität gegen HepG2 Zellen bestimmt, um dadurch die selektive Wirkung gegenüber Plasmodien zu ermitteln.^{aa} Angegeben ist der Selektivitätsindex (SI), berechnet aus dem Quotienten des IC₅₀-Wertes gegen HepG2 Zellen und des IC₅₀-Wertes gegen *Pf3D7* ($SI = IC_{50} (HepG2) / IC_{50} (Pf3D7)$).

Alle zellbasierten Assays wurden durch die Arbeitsgruppe von PD Dr. Benjamin Mordmüller am Tropeninstitut der Tübinger Universität durchgeführt.

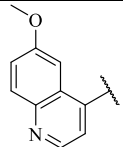
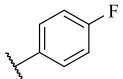
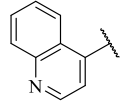
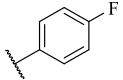
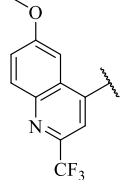
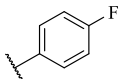
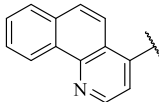
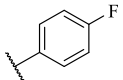
^z Als Multiresistenz wird eine Resistenz gegenüber mind. zwei Arzneistoffklassen bezeichnet.

^{aa} HepG2 Zellen sind menschlichen Zellen, gewonnen aus einem Leberzellkrebs, die sich kontinuierlich kultivieren lassen.

6.2.1 Biologische Evaluation der Hydrazoneamide 26–36

Tabelle 12. *In vitro* Ergebnisse der Hydrazoneamide 26–36.

Verb.	R ¹	R ²	R ³	<i>Pf</i> 3D7 ^a IC ₅₀ [μM]	<i>Pf</i> Dd2 ^a IC ₅₀ [μM]	SI ^b (HepG2/ <i>Pf</i> 3D7)
CQ^c				0.0057 ± 0.0016	0.225 ± 0.095	12914
MFQ				0.0065 ± 0.0010	0.0066 ± 0.0010	n.b.
VIII			H	0.0083 ± 0.0033	0.00114 ± 0.00001	1037
IX			H	0.0023 ± 0.0005	0.0029 ± 0.0022	12043
26			H	0.324 ± 0.127	0.604 ± 0.144	139
27			H	0.0042 ± 0.0011	0.051 ± 0.024	54821
28		cycloheptyliden		11.202 ± 0.095	9.145 ± 3.785	8
29			H	0.577 ± 0.269	0.681 ± 0.263	n.b.
30			H	0.088 ± 0.009	0.089 ± 0.040	159
31			H	0.0002 ± 0.0001	0.037 ± 0.016	35590
32			H	4.148 ± 2.498	5.127 ± 2.125	n.b.

33			H	1.437 ± 0.053	2.416 ± 0.662	n.b.
34			H	5.345 ± 0.829	2.006 ± 0.458	n.b.
35			H	0.061 ± 0.033	0.237 ± 0.139	n.b.
36			H	1.148 ± 0.737	2.999 ± 1.142	n.b.

^aWerte sind Mittelwerte aus mind. zwei unabhängigen Messungen, die jeweils in Duplikaten durchgeführt wurden (serielle 12 Punkt Verdünnung). ^bSelektivitätsindex, berechnet aus dem Quotienten des IC₅₀ Wertes der Zytotoxizitätsmessung und dem IC₅₀ Wert gegen *Pf*3D7. ^cChloroquin wurde in jedem *Pf*3D7, *Pf*Dd2 Assay als positive Kontrolle mitgemessen.

Tabelle 12 zeigt neue Hydrazonamidderivate mit Modifikationen in Region A. Dabei wurde der Phenanthrensubstituent der Leitverbindungen **VIII** und **IX** gegen kleinere, aromatische Reste mit flexiblen Substituenten (4-*tert*-Butylphenyl (**26–29**), 3,5-Di-*tert*-butylphenyl (**30, 31**) oder gegen heterozyklische Ringsysteme (4-(Pyridin-2-yl)-phenyl (**32**), 6-Methoxychinolin-4-yl (**33**), Chinolin-4-yl (**34**), 6-Methoxy-2-trifluormethylchinolin-4-yl (**35**) und Benzo[*h*]chinolin-4-yl (**36**)) ausgetauscht.

Die Verbindungen **27** und **31**, beide mit *tert*-Butylphenyl-substitution in Region A und einem 4-Hydroxy-3-(diethylamino)methylphenyl-Substituenten in Region C, zeigten hervorragende *in vitro* Ergebnisse. Verbindung **27** zeigte eine vergleichbare Aktivität gegen *Pf*3D7 wie das 4-Aminochinolin Chloroquin und das Hydrazonamidderivat **IX** (*Pf*3D7 IC₅₀: **27**: 0.0042 µM, **CQ**: 0.0057 µM, **IX**: 0.0023 µM). **31** zeigte sogar eine antiplasmodiale Aktivität bis in den subnanomolaren Konzentrationsbereich (*Pf*3D7 IC₅₀: **31**: 0.0002 µM) und stellte damit die aktivste Verbindung aller neuen Derivate dar. **27** und **31** wiesen zudem eine sehr gute Wirksamkeit gegen den multiresistenten Stamm *Pf*Dd2 auf (*Pf*Dd2 IC₅₀: **27**: 0.051 µM, **31**: 0.037 µM, **CQ**: 0.225 µM, **IX**: 0.0029 µM). Jedoch war die Wirksamkeit beider Hydrazonamidderivate gegen *Pf*Dd2 im Vergleich zur Leitstruktur **IX** um eine zehnerpotenz geringer. Der Selektivitätsindex von **27** und **31** war wesentlich höher als der des bekannten Antimalariamittels Chloroquin (SI: **27**: 54821, **31**: 35590, **CQ**: 12914). Dabei war der HepG2 Wert für **27** äußerst interessant, da diese

Verbindung eine 3-fach geringere Zytotoxizität als Chloroquin aufwies (HepG2 IC₅₀: **27**: 230.249 µM; **31**: 7.118 µM; **CQ**: 73.609 µM). Dies zeigt, dass diese beiden neuen Hydrazonamidderivate selektiv gegen *Plasmodium falciparum* wirken und für weitere Studien im Tiermodell aufgrund ihrer geringen Zytotoxizität geeignet sind.

Auch die Analoga von **27** und **31**, die *tert*-Butylphenylhydrazonamidderivate **26** und **30**, welche in Region C einen 4-Fluorphenylsubstituenten tragen, zeigten ebenfalls eine gute antiplasmodiale Aktivität gegen *Pf3D7* und *PfDd2* (**26**: *Pf3D7* IC₅₀: 0.324 µM, *PfDd2* IC₅₀: 0.604 µM; **30**: *Pf3D7* IC₅₀: 0.088 µM, *PfDd2* IC₅₀: 0.089 µM). Auch hier war das 3,5-Di-*tert*-butylphenylsubstituierte Derivat **30**, dem 4-*tert*-Butylphenylderivat **26** in seiner Aktivität überlegen.

Interessanterweise zeigte das in Region A 4-*tert*-Butylphenyl-substituierte Hydrazonamidderivat **28**, welches an *N'* mit einem Cycloheptylidenrest derivatisiert ist, eine sehr starke Aktivitätsabnahme (IC₅₀ > 9 µM) im Vergleich zu seinen Analoga **26**, **27** und **29** (*Pf3D7* IC₅₀: 0.0042–0.577 µM).

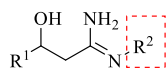
Die in Region A heterozyklisch substituierten Hydrazonamidderivate **32–34** und **36** zeigten sowohl gegen *Pf3D7*, als auch gegen *PfDd2* nur noch eine Wirksamkeit im mikromolaren Konzentrationsbereich (*Pf3D7* IC₅₀: 1.148–5.345 µM, *PfDd2* IC₅₀: 2.006–5.127 µM). Das an Position 2 der Chinolinstruktur Trifluormethyl-substituierte Hydrazinamidderivat **35** erwies sich als antiplasmodial wirksames Chinolinderivat, welches im nanomolaren Konzentrationsbereich eine Aktivität gegen beide Plasmodienstämme zeigte (*Pf3D7* IC₅₀: 0.061 µM, *PfDd2* IC₅₀: 0.231 µM). Eine mögliche Ursache der besseren Wirksamkeit von **35** im Vergleich zu den anderen Chinolinderivaten **33**, **34** und **36** könnte die höhere Lipophilie von **35**, hervorgerufen durch den zusätzlichen Trifluormethylsubstituenten, sein. Eine Erhöhung der Lipophilie kann bis zu einem gewissen Grad die Membrangängigkeit von Wirkstoffen beeinflussen, sodass diese in einer höheren Konzentration den Wirkort erreichen.

Die Integration eines Stickstoffatoms in die Phenanthrenstruktur von **VIII** führte zu Verbindung **36**. Das Hydrazonamidderivat **36** trägt in Region A einen Benzo[*h*]chinolin-Substituenten, der über die Position 4 an die β-Hydroxypropanstruktur gebunden ist. Im Vergleich dazu ist der Phenanthrensubstituent der Leistruktur **VIII** über die Position 9 verknüpft. **36** wies eine starke Abnahme der antiplasmodialen Aktivität im Vergleich zu **VIII** auf (*Pf3D7* IC₅₀: **36**: 1.148 µM, **VIII**: 0.0083 µM). Ob die Integration des

Stickstoffatoms oder die verschiedene Verknüpfung Ursache der geringeren Wirksamkeit von **36** sind, müsste durch weitere Studien untersucht werden.

Die *in vitro* Daten der Hydrazoneamide mit Modifikation in Region A zeigten, dass sowohl kleinere, nicht halogenierte aromatische Substituenten (**26**, **27** und **29–31**), sowie heteroaromatische Substituenten mit einer Trifluormethylgruppe (**35**) interessante Modifikationen der Region A der Leitstrukturen **VIII** und **IX** darstellen.

6.2.2 Biologische Evaluation der Hydrazoneamide 37–45

Tabelle 13. *In vitro* Ergebnisse der Verbindungen 37–45.

Verb.	R ¹	R ²	<i>Pf</i> 3D7 ^a IC ₅₀ [μM]	<i>Pf</i> Dd2 ^a IC ₅₀ [μM]	SI (HepG2 / <i>Pf</i> 3D7)
CQ			0.0057 ± 0.0016	0.225 ± 0.095	12 914
37			0.061 ± 0.036	0.063 ± 0.001	262
38			0.063 ± 0.038	1.532 ± 0.117	205
39			2.435 ± 1.093	2.072 ± 0.445	n.b.
40			0.106 ± 0.019	0.086 ± 0.016	111
41- HCl			0.0079 ± 0.0022	0.014 ± 0.001	1043
42- HCl			7.286 ± 3.015	2.124 ± 0.992	14
43			>27	>27	n.b.
44			13.301 ± 4.128	4.308 ± 1.689	n.b.
45- HCl			0.105 ± 0.017	0.039 ± 0.016	166

^aWerte sind Mittelwerte aus mind. zwei unabhängigen Messungen, die jeweils in Duplikaten durchgeführt wurden (serielle 12 Punkt Verdünnung).

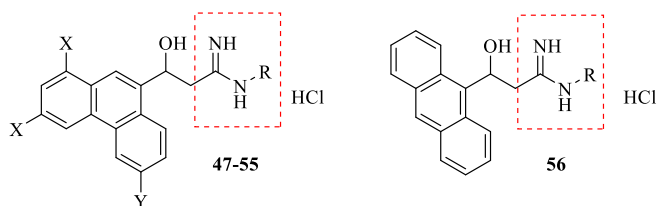
37 und **38** besitzen in Region A eine Phenanthrenstruktur und sind analoge Hydrazonamiderivate von **VIII**. Sie sind in Region C mit einem Piperidinring (**37**) und einen 4-Methyl-Piperazinring (**38**) substituiert. Beide Verbindungen wiesen eine sehr gute antiplasmodiale Wirkungen auf (Tabelle 13). Wobei interessant war, dass Verbindung **37** gegen den chloroquine-sensitiven Stamm *Pf3D7*, als auch gegen den chloroquin-resistenten Stamm *PfDd2* im zweistelligen nanomolaren Bereich aktiv war (**37**: *Pf3D7* IC₅₀: 0.061 µM, *PfDd2* IC₅₀: 0.063 µM). **38** hingegen hatte eine um den Faktor 24 geringere Potenz gegen den chloroquin-resistenten Stamm *PfDd2*, zeigte jedoch gegen *Pf3D7* eine gute Aktivität (**38**: *Pf3D7* IC₅₀: 0.063 µM, *PfDd2* IC₅₀: 1.532 µM).

Die Einführung von Halogenen (Chlor, Fluor an Position 1 und 3, Trifluormethyl an Position 6 des Phenanthrenbausteins) zeigte schon bei den Leitverbindungen **IX** und **XI** eine Aktivitätssteigerung im Vergleich zu **VIII** (*Pf3D7* IC₅₀: **VIII**: 0.0083 µM, **IX**: 0.0023 µM, **XI**: 0.0018 µM). Die Einführung eines Chlorsubstituenten in Position 1 und 3, sowie ein Trifluormethylsubstituent in Position 6 führten zu einer 8-fach höheren Aktivität von **41** (*Pf3D7* IC₅₀: 0.0079 µM, Tabelle 13) im Vergleich zu seinem Pendant **37** (*Pf3D7* IC₅₀: 0.060 µM). Der SI von **41** ist ebenfalls besser als der von **37** (**41**: 1043, **37**: 262). Dies lässt sich auf die sehr gute Aktivität von **41** zurückführen, da beide Hydrazonamide eine geringe Zytotoxizität aufwiesen (HepG2 IC₅₀: **41**: 8.243 µM, **37**: 16.011 µM).

Der Austausch des Piperidinrings der Verbindung **37** gegen einen Morpholinring (**39**), führte zu einem Aktivitätsverlust bis in den mikromolaren Bereich (*Pf3D7* IC₅₀: 2.435 µM, *PfDd2* IC₅₀: 2.072 µM). Demnach scheint der Einbau eines Sauerstoffatoms als Wasserstoffbrückenakzeptor ohne basische Eigenschaften einen nachteiligen Einfluss auf die Aktivität auszuüben.

Die Hydrazonamiderivate **42–44**, welche einen 4-*tert*-Butylphenylsubstituenten in Region A tragen, zeigten keine vergleichbare oder verbesserte Wirkung als ihre Phenanthrenanaloge **37–41** (*Pf3D7* IC₅₀: **37–41**: ≤ 2.4 µM, **42–44**: ≥ 7.3 µM). Nur Verbindung **45**, ein 3,5-Di-*tert*-butylphenylderivat, war im nanomolaren Konzentrationsbereich antiplasmodial aktiv (*Pf3D7* IC₅₀: 0.105 µM) (Tabelle 13).

6.2.3 Biologische Evaluation der Amidine 47–56

Tabelle 14. *In vitro* Ergebnisse der Amidine 47–56.

Verb.	X	Y	R	<i>Pf</i> 3D7 ^a IC ₅₀ [μM]	<i>Pf</i> Dd2 ^a IC ₅₀ [μM]	SI (HepG2/ <i>Pf</i> 3D7)
CQ				0.0057 ± 0.0016	0.225 ± 0.095	12914
47	H	H		0.903 ± 0.598	2.156 ± 0.603	10
48	H	H		0.689 ± 0.146	1.091 ± 0.357	8
49	H	H		0.386 ± 0.043	1.268 ± 0.774	n.b.
50	H	H		0.326 ± 0.259	1.071 ± 0.831	16
51	H	H		13.056 ± 1.429	24.229 ± 5.267	4
52	H	H		0.072 ± 0.011	0.775 ± 0.437	n.b.
53	F	CF ₃		0.245 ± 0.141	0.120 ± 0.001	n.b.
54	F	CF ₃		0.0003 ± 0.0001	0.0003 ^{bb}	14353
55	Cl	CF ₃		0.431 ± 0.271	0.317 ± 0.113	17
56	--	--		0.0040 ± 0.0013	0.0091 ± 0.0034	1863

^aWerte sind Mittelwerte aus mind. zwei unabhängigen Messungen, die jeweils in Duplikaten durchgeführt wurden (serielle 12 Punkt Verdünnung).

^{bb} Die IC₅₀ Werte zweier unabhängiger Messungen wiesen den gleichen Wert auf, sodass für diesen Mittelwert keine Standardabweichung angegeben werden kann.

Die in Tabelle 14 aufgeführten Verbindungen **47–56** stellten die ersten Vertreter einer Reihe von Region B veränderten Derivaten dar. Das Hydrazonamidstrukturmerkmal der Leitstrukturen **VIII** und **IX** wie auch der vorangegangenen neuen Verbindungen **26–45** wurde durch eine Amidinstruktur ersetzt. Diese Modifikation führte bei allen Verbindungen, bis auf die an *N'* mit 2-(Pyridin-2-yl)-ethyl-substituierte Verbindung **51**, zu einer Wirksamkeit gegen *Pf3D7* im nano- bis subnanomolaren Bereich (*Pf3D7* IC₅₀: 0.0003–0.903 µM).

Die an *N'* 4-Methoxyphenylsubstituierte und in Region A einen 1,3-Difluor-6-trifluormethylphenanthren-Substituenten tragende Verbindung **54** war die aktivste aller hergestellten Derivate mit Veränderung in Region B (*Pf3D7* IC₅₀: 0.0003 µM, *PfDd2* IC₅₀: 0.0003 µM). Zudem zeigte **54** einen sehr guten Selektivitätsindex, welcher höher als der des Antimalariamittels **CQ** und der Leitstruktur **IX** lag (SI: **CQ**: 12 914, **IX**: 12 043, HepG2 IC₅₀: **54**: 4.306 µM, **CQ**: 73.609 µM, **IX**: 27.7 µM)).

Auch das in Region A mit einer Anthracenstruktur substituierte Amidinderivat **56** zeigte eine sehr gute antiplasmodiale Aktivität, sowohl gegen *Pf3D7*, als auch gegen *PfDd2* im einstelligen nanomolaren Konzentrationsbereich (**56**: *Pf3D7* IC₅₀: 0.0040 µM, *PfDd2* IC₅₀: 0.0091 µM).

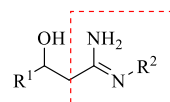
Der Austausch des Phenylrestes (**54**, **56**) an *N'* gegen Benzyl- oder Phenethylreste (**47–50**, **52**, **53** und **55**) führte zu einer Abnahme der antiplasmodialen Aktivität gegen *Pf3D7* bis in den dreistelligen nanomolaren Bereich (*Pf3D7* IC₅₀: 0.072–0.903 µM). Gegen den multiresistenten Stamm *PfDd2* sank die Aktivität sogar in den mikromolaren Konzentrationsbereich (*PfDd2* IC₅₀: 0.120–2.156 µM). Trotz der Aktivitätsabnahme im Vergleich zu **54** und **56** sind die Amidinderivate **47–50**, **52**, **53** und **55** als antiplasmodial wirksam zu betrachten. Anders als das Amidinderivat **51**, welches an *N'* mit einem (Pyridin-2-yl)-ethylrest substituiert ist. Dieses zeigte nur eine sehr geringe Wirksamkeit gegen *Pf3D7* (IC₅₀: 13.056 µM).

Überraschend war, dass die in Region A 1,3-Difluor-6-trifluormethylphenanthren-substituierten Amidinderivate **53** und **55** gegen beiden Plasmodienstämme, *Pf3D7* und *PfDd2*, eine vergleichbare antiplasmodiale Aktivität zeigten (**53**: *Pf3D7* IC₅₀: 0.245 µM, *PfDd2* IC₅₀: 0.120 µM; **55**: *Pf3D7* IC₅₀: 0.431 µM, *PfDd2* IC₅₀: 0.317 µM)). Wohingegen die anderen arylalkyl-substituierten Amidinderivate **47–52** eine bis zu dreifach geringere Aktivität gegen den multiresistenten Stamm *PfDd2* als gegen *Pf3D7*, aufwiesen (Bsp. **49**:

Pf3D7 IC₅₀: 0.386 µM, *PfDd2* IC₅₀: 1.268 µM). Eine Ursache für diesen Unterschied ist anhand der Struktur nicht zu erklären. Eine Resistenz ist oft, wie in Kapitel 1.2.5 erläutert, auf eine Veränderung von Transportproteinen in der Membran der Nahrungsvakuole zurückzuführen (z.B. Veränderungen im *Pfcrf* Gen). Eine Mutation des *Pfcrf* Gens kann zu einem Austausch der Aminosäure Lysin gegen Threonin führen, sodass protonierte Wirkstoffe schneller die Nahrungsvakuole verlassen können.¹⁵⁴ Da die Verbindungen **47–53**, **55** alle Amidine mit arylalkyl-Substitution darstellen, lässt sich eine direkte Korrelation zwischen der Wirkstoffstruktur und der Aktivität gegen resistente Zellen nicht ableiten.

Der niedrige Selektivitätsindex (SI: 3–17) der dargestellten *N'*-arylalkyl-substituierten Amidinderivate (**47**, **48**, **50**, **51**, **55**) stellt eine Anwendungslimitierung dar, sodass hier optimierende Strukturmodifikationen sinnvoll wären.

6.2.4 Biologische Evaluation der Amidine 57–65

Tabelle 15. *In vitro* Ergebnisse der Amidine 57–65.

Verb.	R ¹	R ²	<i>Pf</i> 3D7 ^a IC ₅₀ [μM]	<i>Pf</i> Dd2 ^a IC ₅₀ [μM]	SI (HepG2/ <i>Pf</i> 3D7)
CQ			0.0057 ± 0.0016	0.225 ± 0.095	12914
57			0.027 ± 0.009	0.047 ± 0.017	344
58- 2HCl			0.055 ± 0.031	0.641 ± 0.217	276
59			0.0029 ^{cc}	0.0017 ^{cc}	1170
60			1.362 ± 0.257	0.732 ± 0.507	42
61			3.350 ± 1.195	1.856 ± 0.867	17
62			0.050 ± 0.020	0.051 ± 0.017	236
63- HCl			0.296 ± 0.087	0.278 ± 0.232	n.b.
64- 2HCl			2.074 ± 0.118	5.171 ± 1.360	87
65			3.950 ± 0.799	5.709 ± 3.559	>200

^aWerte sind Mittelwerte aus mind. zwei unabhängigen Messungen, die jeweils in Duplikaten durchgeführt wurden (serielle 12 Punkt Verdünnung).

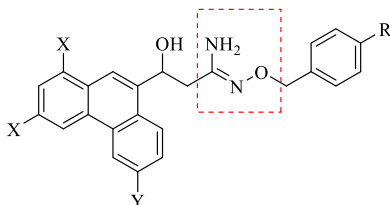
^{cc} Zum Zeitpunkt des Druckes dieser Arbeit wurde nur eine Aktivitätsmessung (n = 1) durchgeführt, sodass keine Standardabweichung angegeben werden kann.

Wie bereits in Tabelle 14 dargestellt, erhöhte eine aromatische Substitution an *N'* die antiplasmodiale Aktivität (**54** und **56**). Die in Tabelle 15 dargestellten Amidinderivate **57–65** sind ebenfalls an *N'* aryliert. Sie weisen in Region A entweder einen unsubstituierten (**57**, **58**), einen 1,3-Dichlor-6-trifluormethyl-substituierten (**59**) Phenanthrenbaustein, einen 4-*tert*-Butyl- (**60–62**), oder einen 1,3-Di-*tert*-butylphenylbaustein (**63**) auf. Des Weiteren sind die Verbindungen **64** (6-Methoxychinolin) und **65** (Chinolin) in Region A mit einem heterozyklischen Ringsystem substituiert.

Die Amidinderivate **57–59**, welche in Region A mit einer Phenanthrenstruktur substituiert sind, zeigten eine antiplasmodiale Aktivität gegenüber *Pf3D7* im ein- bis zweistelligen nanomolaren Konzentrationsbereich (*Pf3D7* IC₅₀: 0.0029–0.055 µM).

Die Verbindungen **62** und **63**, welche zwei 4-*tert*-Butylstrukturmerkmale aufweisen, waren ebenfalls im nanomolaren Bereich aktiv (*Pf3D7* IC₅₀: **62**: 0.050 µM, **63**: 0.296 µM). Die anderen Amidinderivate mit 4-*tert*-Butylphenyl- und Chinolinsubstitution in Region A (**60**, **61**, **64** und **65**) zeigten nur eine Wirkung gegen *Pf3D7* im mikromolaren Konzentrationsbereich (IC₅₀: 1.362–3.950 µM).

Interessant ist, dass die Verbindungen **60** und **61** eine höhere Aktivität gegenüber dem multiresistenten Stamm *PfDd2* als gegenüber *Pf3D7* zeigten (Bsp. **60**: *PfDd2* IC₅₀: 0.732 µM; *Pf3D7* IC₅₀: 1.362 µM). Ob eine Fluor- oder Methoxysubstitution in para-Position zum Amidinstrukturmerkmal die Ursache für diese Wirkung ist, müsste weiter untersucht werden. Denn das vergleichbare Amidinderivat **62**, welches in para-Position einen *tert*-Butylsubstituenten trägt, wies keine bessere Wirksamkeit gegen *PfDd2* im Vergleich zu *Pf3D7* auf (**62**: *Pf3D7* IC₅₀: 0.050 µM, *PfDd2* IC₅₀: 0.051 µM). Der Methoxysubstituent (**61**) übt einen positiven mesomeren Effekt auf den Aromaten aus, der *tert*-Butylsubstituent (**62**) übt einen positiv induktiven Effekt aus. Beide Effekte erhöhen die Basizität des Amidinstrukturmerkmals. Da Arzneistoffe mit Wirkung gegen resistente Stämme aufgrund der sich zuspitzenden Resistenzlage immer gefragter werden, könnte diese Eigenschaft zukünftig weiter untersucht werden.

6.2.5 Biologische Evaluation der Amidoxime **68–70**Tabelle 16. *In vitro* Ergebnisse der Amidoxime **68–70**.

Verb.	X	Y	R	<i>Pf</i> 3D7 ^a IC ₅₀ [μM]	<i>Pf</i> Dd2 ^a IC ₅₀ [μM]	SI (HepG2/ <i>Pf</i> 3D7)
CQ				0.0057 ± 0.0016	0.225 ± 0.095	12914
68	H	H	H	>27	>27	n.b.
69	H	H	F	>27	>27	n.b.
70	Cl	CF ₃	F	0.258 ± 0.140	0.211 ± 0.106	132

^aWerte sind Mittelwerte aus mind. zwei unabhängigen Messungen, die jeweils in Duplikaten durchgeführt wurden (serielle 12 Punkt Verdünnung).

Der Austausch des *N'*-Stickstoffatoms der Hydrazonamidstruktur durch ein Sauerstoffatom (**68–70**) führte zu einer Abnahme der *in vitro* Aktivität im Vergleich zu den Leitstrukturen **VIII** und **XI** (**VIII**: *Pf*3D7 IC₅₀: 0.0083 μM, *Pf*Dd2 IC₅₀: 0.0011 μM; **XI**: *Pf*3D7 IC₅₀: 0.0018 μM, *Pf*Dd2 IC₅₀: 0.0025 μM) (Tabelle 16). Das Amidoximderivat **70**, ein 1,3-Dichlor-6-trifluormethylphenanthren-substituiertes Amidoximanalogon von **XI**, zeigte eine antiplasmodiale Wirkung gegen *Pf*3D7 und *Pf*Dd2 im nanomolaren Bereich (*Pf*3D7 IC₅₀: 0.258 μM; *Pf*Dd2 IC₅₀: 0.211 μM). Ob sich die geringere antiplasmodiale Aktivität von **70** im Vergleich zu **XI** mit der geringeren Basizität des Amidoximstrukturmerkmals im Vergleich zum Hydrazonamidstrukturmerkmal in Verbindung bringen lässt, könnte durch weitere Strukturmodifikationen geklärt werden. Des Weiteren könnte eine Kristallstrukturanalyse die Bindungsmodi von **70** an das vermutete Target, das Hämatin, aufklären, um zu analysieren, ob die Amidoximstruktur mit der Carboxylatfunktion des Propionatrestes interagiert.

Die unsubstituierten Phenanthren-Derivate **68** und **69**, Analoga von **VIII**, waren inaktiv (*Pf*3D7/*Pf*Dd2 IC₅₀: > 27 μM).

6.2.6 Biologische Evaluation der Verbindungen **71** und **72**Tabelle 17. *In vitro* Ergebnisse der 1,2,4-Triazine **71** und **72**.

	R	<i>Pf</i> 3D7 ^a IC ₅₀ [μM]	<i>Pf</i> Dd2 ^a IC ₅₀ [μM]
CQ		0.0057 ± 0.0016	0.225 ± 0.095
71		0.437 ± 0.082	0.324 ± 0.193
72		12.141 ± 6.208	> 27

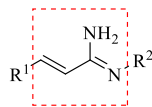
^aWerte sind Mittelwerte aus mind. zwei unabhängigen Messungen, die jeweils in Duplikaten durchgeführt wurden (serielle 12 Punkt Verdünnung).

Die Einführung eines gering basischen, aromatischen 1,2,4-Triazins in Region B hat die antiplasmodiale Aktivität im Vergleich zur analogen Leitverbindung (**71** zu **VIII**, **72** zu **26**) abgeschwächt.

Interessant ist der große Aktivitätsunterschied zwischen **71** und **72**, denn das mit einem Phenanthrenbaustein in Region A substituierte Triazin **71** zeigte noch eine gute antiplasmodiale Wirksamkeit im nanomolaren Bereich (*Pf*3D7: 0.437 μM, *Pf*Dd2: 0.324 μM). Jedoch ist diese um den Faktor 50 geringer als bei **VIII** (*Pf*3D7: 0.0083 μM; *Pf*Dd2: 0.0011 μM). Die Lipophilie von **71**, welche durch den zusätzlichen Aromaten in Region B verstärkt wurde und eine geringere Basizität des 1,2,4-Triazinstrukturelementes im Vergleich zum Hydrazonamidelement, könnten mögliche Ursachen für die geringere antiplasmodiale Wirkung sein.

72 hingegen, ein in Region A 4-*tert*-Butylphenyl-substituiertes 1,2,4-Triazin, war gegen *Pf*3D7 nur sehr schwach aktiv (IC₅₀: 12.141 μM), gegen den multiresistenten Stamm *Pf*Dd2 konnte keine Aktivität gemessen werden (> 27 μM).

6.2.7 Biologische Evaluation der Nebenprodukte 73–77

Tabelle 18. *In vitro* Ergebnisse der dehydratisierten Nebenprodukte 73–77.

Verb.	R ¹	R ²	<i>Pf</i> 3D7 ^a IC ₅₀ [μM]	<i>Pf</i> Dd2 ^a IC ₅₀ [μM]	SI (HepG2/ <i>Pf</i> 3D7)
CQ			0.0057 ± 0.0016	0.225 ± 0.095	12914
73			1.815 ± 0.303	7.410 ± 1.960	n.b.
74- HCl			0.170 ± 0.082	1.101 ± 0.713	38
75- HCl			0.032 ± 0.022	0.821 ± 0.387	167
76			1.435 ± 0.124	0.786 ± 0.335	3
77			0.908 ± 0.479	1.516 ± 0.082	9

^aWerte sind die Mittelwerte aus mind. zwei unabhängigen Messungen, die jeweils in Duplikaten durchgeführt wurden (serielle 12 Punkt Verdünnung).

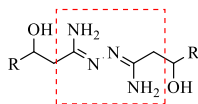
Die dehydratisierten Amidinderivate **74** und **75** wiesen eine gute bis sehr gute antiplasmodiale Aktivität auf (*Pf*3D7 IC₅₀: **74**: 0.167 μM, **75**: 0.032 μM). Dies war sehr überraschend, da **74** und **75** eine bessere antiplasmodiale Aktivität zeigten, als ihre β-ständig hydroxylierten Pedants **49** und **50** (*Pf*3D7 IC₅₀: **49**: 0.386 μM; **50**: 0.326 μM). Dies wirft die Überlegung auf, wie entscheidend die β-ständige Hydroxyfunktion für die Bindung an das vermutliche Target, dem Hämazoin, ist. Die Kristallstrukturanalyse von *de Villiers et al.* zeigte, dass die Hydroxyfunktion mit dem zentralen Eisen-Ion interagiert.^{69,70} Wie bedeutend diese Wechselwirkung für die Koordination der Testverbindungen an Hämazoin ist, könnte durch weitere Struktur-Aktivitäts-Untersuchungen evaluiert werden.

Der 10-fach höhere Selektivitätsindex von **75** (SI: 167) im Vergleich zu **50** (SI: 16) ist auf die höhere antiplasmodiale Aktivität zurückzuführen, da beide Verbindungen einen vergleichbaren IC₅₀-Wert gegen HepG2 aufwiesen (HepG2 IC₅₀: **50**: 5.071 µM, **75**: 5.343 µM).^{dd}

Das dehydratisierte Hydrazonamidderivat **77** zeigte eine antiplasmodiale Aktivität im nanomolaren Konzentrationsbereich gegenüber *Pf*3D7 (IC₅₀: 0.908 µM). Vergleichend zeigte das analoge β-hydroxylierte Hydrazonamidderivat **42** keine nennenswerte Aktivität in beiden Zelllinien (**42**: *Pf*3D7 IC₅₀: 7.268, *Pf*Dd2 IC₅₀: 2.124). Allerdings ist der Selektivitätsindex von **77** niedrig (SI: 9), sodass auch eine allgemeine zytotoxische Eigenschaft der Verbindung gegenüber lebenden Zellen bedacht werden muss. **77** zeigte eine höhere Zytotoxizität als das Pedant **42** (HepG2 IC₅₀: **77**: 11.821 µM, **42**: 99.507 µM). Eine mögliche Ursache der zytotoxischen Eigenschaft von **77** könnte die Reaktivität der α, β-ungesättigten Doppelbindung sein, die sie als Michaelakzeptor mit Nukleophilen, wie z.B. DNA-Basen oder Gluthation, reagieren könnte.

6.2.8 Biologische Evaluation der Nebenprodukte **78**, **80** und **81**

Tabelle 19. *In vitro* Ergebnisse der dimerisierten Nebenprodukte **78**, **80** und **81**.



R		<i>Pf</i> 3D7 ^a IC ₅₀ [µM]	<i>Pf</i> Dd2 ^a IC ₅₀ [µM]
CQ		0.0057 ± 0.0016	0.2247 ± 0.0948
78		n.b.	2.001 ± 0.432
80		1.785 ± 0.494	4.510 ± 2.168
81		4.707 ± 1.089	13.374 ± 1.038

^aWerte sind Mittelwerte aus mind. zwei unabhängigen Messungen, die jeweils in Duplikaten durchgeführt wurden (serielle 12 Punkt Verdünnung).

^{dd} Die *in vitro* Daten der Amidin-Hydrochloride **74** und **75** wurden erst während der Fertigstellung dieser Arbeit erhalten. Weitere Untersuchungen der antiplasmodialen Eigenschaften von α, β-ungesättigter Amidinderivaten wurden daher nicht durchgeführt.

Die dimerisierten Nebenprodukte **78**, **80**, **81** zeigten eine sehr geringe Aktivität gegenüber den asexuellen Blutstadien von *Plasmodium falciparum* (*Pf3D7* IC₅₀: > 1.785 µM, *PfDd2* IC₅₀: > 2.001 µM). Vermutlich ist die Größe der Substanzen hier entscheidend, sodass eine Permeation zum Wirkort oder die Bindung an das Target erschwert waren.

6.3 Korrelation der *in vitro* Daten und der Molekülstruktur

Um eine Wechselseitigkeit zwischen der antiplasmodialen Aktivität (IC₅₀ (*Pf3D7*)) und den verschiedenen, basischen Strukturen der Hydrazonamide, Amidine und 1,2,4-Triazine zu untersuchen, wurden Verbindungen ausgewählt, die in Region A mit einem Phenanthrenbaustein und in Region C mit einem 4-Fluor- oder 4-Methoxyphenylrest substituiert sind (**VIII**, **IX**, **50**, **52**, **54** und **57**, Abbildung 31). Eine Ausnahme stellt das 1,2,4-Triazin **71** dar, welches in Region C nur eine Methylgruppe trägt. Die Hydrazonamid-, Amidin- und 1,2,4-Triazinstrukturelemente besitzen unterschiedliche basische Eigenschaften, die sich durch die berechneten pKs Werte darstellen lassen.^{ee}

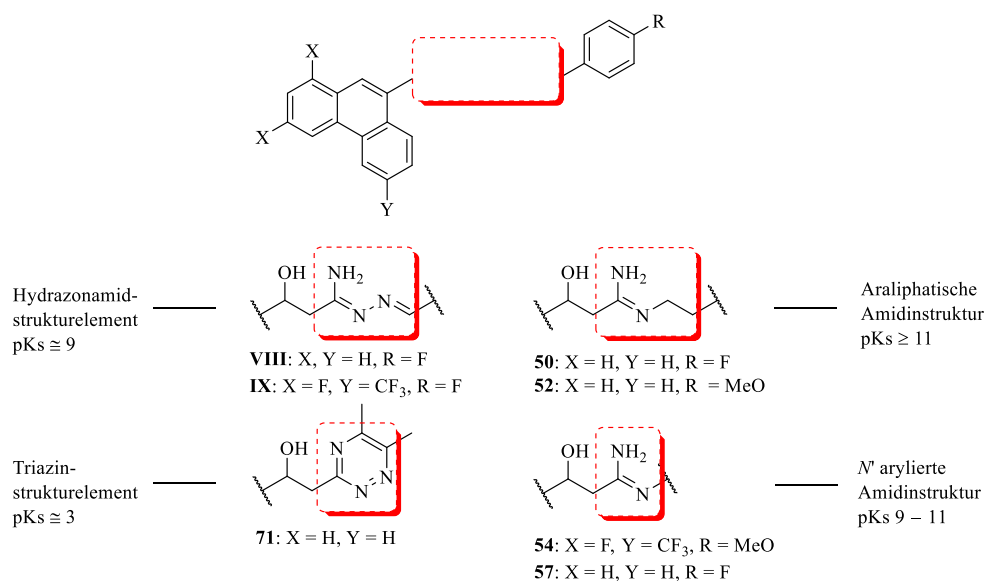


Abbildung 31. Ausgewählte Verbindungen zur Bestimmung der Korrelation zwischen dem IC₅₀ Wert gegen *Pf3D7* und dem kalkulierten pKs.

Abbildung 32 zeigt eine Korrelation zwischen dem IC₅₀-Wert gegen *Pf3D7* und dem kalkulierten pKs Wert der ausgewählten Verbindungen **VIII**, **IX**, **50**, **52**, **54**, **57** und **71**.

^{ee} pKs Wert Berechnung: Schrödinger Release 2018-1: Epik, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2018.

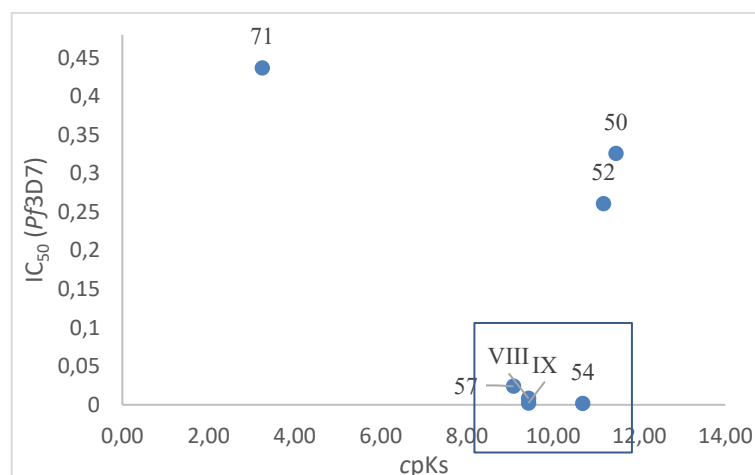


Abbildung 32. Korrelation zwischen dem IC₅₀ (Pf3D7) - und dem kalkulierten pKs Wert. pKs-Wert Berechnung: Schrödinger Release 2018-1: Epik, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2018.

Die Hydrazonamide **VIII** und **IX**, sowie das *N'*-arylierte Amidin **57** wiesen pKs-Werte zwischen 9.1 und 9.4 auf (Abbildung 32). Diese Substanzen sind demnach schwache Basen. Sie liegen im physiologischem Milieu zu einem geringeren Anteil protoniert vor, als die *N'*-arylalkyl-substituierten Amidine (**50**, **52**), die einen pKs von 11.2–11.5 aufwiesen. Da der Anteil an nicht-protoniertem Arzneistoff relevant für die Permeabilität durch die Membranen ist, die protonierte Form jedoch die Bindung an das vermutete Target eingeht, kann ein Zusammenhang zwischen der Aktivität im Zellassay und der Basizität vermutet werden. Weitere Strukturvariationen und ein Permeationsassay könnten ergänzende Informationen über diesen Zusammenhang liefern.

Der pKs Wert von **54** näherte sich mit 10.7 denen der arylalkyl-substituierten Amidine an, dies lässt sich wahrscheinlich auf den Methoxy-Substituenten in para Position zur Amidinstruktur zurückzuführen. Die hohe antiplasmodiale Aktivität von **54** ist vermutlich sowohl auf die arylierte Amidinstruktur zurückzuführen, als auch auf das Strukturmerkmal des 1,3-Difluor-6-trifluormethylsubstituierten Phenanthrenringsystems in Region A.

Eine Aktivitätsreduktion bei abnehmender Basizität, wie es bei dem 1,2,4-Triazin **71** zu erkennen war (pKs 3.3) könnte in Zusammenhang mit dem wahrscheinlichen Wirkmechanismus stehen. Der pH-Wert der Nahrungsvakuole wird mit einem Wert von ca 5 angegeben, bei diesem pH-Wert würden die 1,2,4-Triazine unprotoniert vorliegen.

6.4 Biologische Evaluation der antiplasmodialen *in vivo* Aktivität

Um die antiplasmodiale Aktivität im Mausmodell zu bestimmen, wird meist der viertägige Test nach *Peters* verwendet. Dazu werden NMRI-Mäuse intravenös mit dem nagetierspezifischen Erreger *Plasmodium berghei* infiziert. Dieser Erreger führt im Gegensatz zu den nagerpathogenen Stämmen *P. yoelii* und *chaubadi* zu letalen Infektionen.^{ff} Nach der Infektion mit dem Erreger wurden je drei Mäuse mit einer Dosis von 50 mg/kg KG über 4 Tage mit den entsprechenden Testverbindungen (**27**, **30**, **31**, **37**, **54** und **57**) peroral behandelt. 5 weitere, infizierte Mäuse wurden als Kontrollgruppe unbehandelt mitbeobachtet. Als Vergleichsubstanzen dienten die bekannten Malariawirkstoffe Chloroquin, Artesunat und Mefloquin. Am vierten Tag der Behandlung wurde die Reduktion der Parasitämie (PR) bestimmt. Die Aktivität einer Testverbindung lässt sich anhand der Parasitenzahl in den befallenen Erythrozyten bestimmen. Da die Mäuse in der Kontrollgruppe (ohne Behandlung) nach Infektion im Schnitt 6 bis 7 Tage überleben, wurden diese nach der Parasitämiebestimmung euthanasiert.

Zur *in vivo* Bestimmung wurden Verbindungen ausgewählt, die eine hohe antiplasmodiale Aktivität bei geringer Zytotoxizität aufwiesen. Die Verbindungen **27**, **30** und **31** repräsentieren die Substanzklasse neuer Hydrazonamidderivate mit Veränderungen in Region A. **27** und **31** wiesen exzellente *in vitro* Ergebnisse auf (**27**: *Pf3D7* IC₅₀: 0.0042 µM, SI: 54821; **31**: *Pf3D7* IC₅₀: 0.0002 µM, SI: 35590). Die Verbindung **37** repräsentiert die Hydrazonamidderivate mit Veränderungen in Region C. **37** zeigte eine antiplasmodiale Wirkung gegen *Pf3D7* im zweistelligen nanomolaren Bereich bei guter Selektivität (**37**: *Pf3D7* IC₅₀: 0.064 µM, SI: 265). Um abschließend die Substanzklasse der Amidinderivate zu evaluieren, wurden die beiden *N'*-arylsubstituierten Amidine **54** und **57** ausgewählt, um sie im Mausmodell zu testen (**54**: *Pf3D7* IC₅₀: 0.0003 µM, SI: 14353; **57**: *Pf3D7* IC₅₀: 0.0246 µM, SI: 377).

^{ff} Eine weitere Methode zur *in vivo* Bestimmung der antiplasmodialen Aktivität ist die Verwendung von immunodefizienten^{171,172} oder genveränderten¹⁷³ Mäusen, die mit *P. falciparum* infiziert wurden. Dies ermöglicht die Einschränkung der Wirtsspezifität (Mensch, Maus) zu umgehen und die Wirkung der Arzneistoffkandidaten direkt am humanpathogenen Erreger (*P. falciparum*) im Tiermodell zu bestimmen. Dies war lange Zeit nicht möglich, da *P. falciparum* bei gesunden Mäusen aufgrund einer anderen Immunantwort als beim Menschen nicht zu einer Malariainfektion führt.

Tabelle 20. *In vivo* Evaluation ausgewählter Verbindungen.

	Parasitämiereduktion [%] ^a	Mittlere Überlebenszeit [d] ^b	Geheilte Mäuse ^c
CQ^d	99.9	24	0/10
AS^d	99	10	0/10
MFQ^d	99.9	29	7/10
VIII^e	99.6	10	0/3
IX^e	99.9	22	1/3
27	99	8	0/3
30	79	6	0/3
31	79	15	0/3
37	0.9	4	0/3
54	99.8	27	2/3
57	17	4	0/3
Kontrolle^e	0	4	-

^aBlut zur Bestimmung der parasitierten Erythrozyten wurde an Tag 4 gesammelt.^bGemittelte Überlebenszeit der Mäuse (MÜZ), n = 3. ^cParasitenfreie Mäuse an Tag 30.^dDie Dosis der Vergleichsubstanzen lag bei 30 mg/kg KG¹⁵⁵ ^eMäuse wurden an Tag 4 euthanasiert, um einen Tod anderer Ursache an Tag 6–7 zu vermeiden.⁴⁷

Tabelle 20 zeigt, dass die Derivate mit einem Hydrazonamidstrukturelement in Region B und kleineren, aromatischen Resten in Region A (**27**, **30** und **31**) zu einer sehr guten Reduktion der Parasitämie führten (**27**: 99 %, **30**, **31**: 79 %). **31** steigerte zudem die Überlebenszeit von 5 Tagen auf 15 Tage im Vergleich zum Artemisininderivat Artesunat (**31**: MÜZ: 15 Tage; **AS**: MÜZ: 10 Tage). Das Hydrazonamidderivat **37**, welches mit einem Piperidinring in Region C substituiert ist, war trotz seiner guten *in vitro* Aktivität im Mausmodell nicht aktiv (**37**: PR: 0.9 %, MÜZ: 4 Tage).

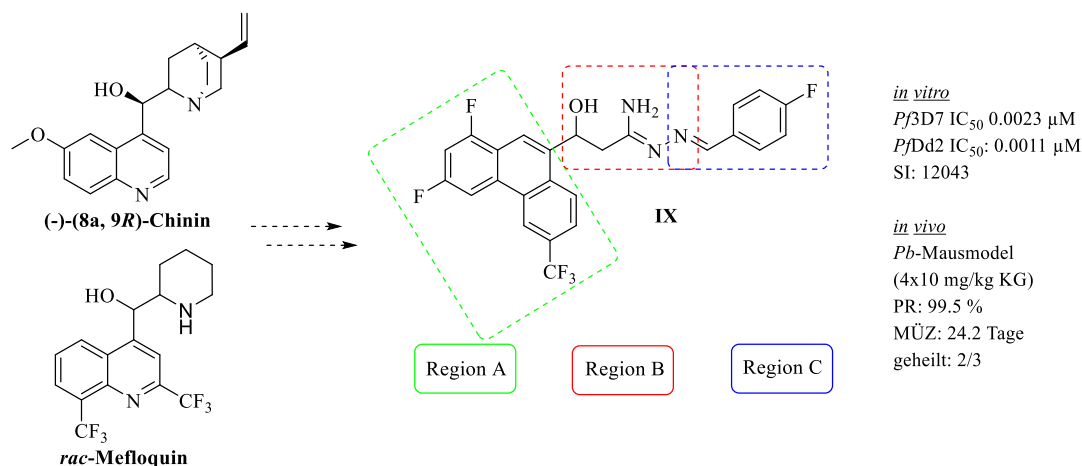
Die geringe Wirksamkeit des Amidinderivates **57** (PR: 17 %, MÜZ: 4 Tage) war überraschend, da das analoge Amidderivat **54** im Vergleich eine fast vollständige Parasitämiereduktion bewirkte (99.8 %). **54** verlängerte die Überlebenszeit um weitere 3 Tage im Vergleich zu **CQ** (**54**: 27 Tage, **CQ**: 24 Tage) und um 5 Tage im Vergleich zu den beiden Leitstrukturen **VIII** und **IX** (**VIII**: MÜZ: 10 Tage, **IX**: MÜZ: 22 Tage (bei 50 mg/kg KG)).⁸⁸ Als Heilung wird definiert, wenn nach dem festgelegten Beobachtungszeitraum von 30 Tagen das Blut der infizierten Mäuse keine *Plasmodium*

⁸⁸ Verbindung **IX** zeigte in Dosisstudien bei einer Gabe von 4 x 10 mg/kg KG eine Parasitämiereduktion von 99.5 %, eine MÜZ von 24.7 Tagen und eine Heilungsrate von 66,6 %.

berghei Sporozoiten mehr aufweist. Dies war nach einer 4 tägigen Gabe von **54** mit einer Dosierung von 50 mg/kg KG bei 2 von 3 Mäusen der Fall.

7 Zusammenfassung

Die Erkrankung Malaria wird durch Parasiten der Gattung *Plasmodium* verursacht und stellt bis heute vor allem in tropischen und subtropischen Ländern ein großes gesundheitliches Problem dar. Als Wirkstoffe zur Behandlung von Malariainfektionen werden u.a. Arylaminoalkohole angewendet. Zu der Wirkstoffklasse der Arylaminoalkohole gehören z.B. die Arzneistoffe Chinin und Mefloquin (Schema 44).



Schema 44. Arylaminoalkohole Chinin und Mefloquin, sowie das Analog, die Leitstruktur **IX**.

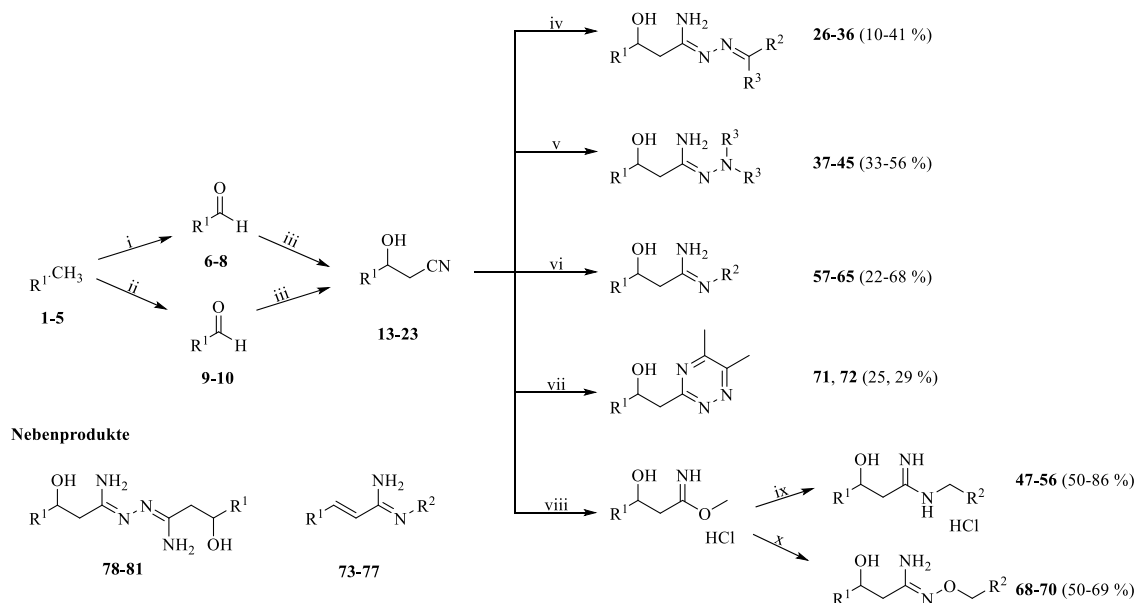
Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Weiterentwicklung (Strukturoptimierung) der Leitstruktur **IX**, welche im Arbeitskreis *Kurz* als neues Arylaminoalkohol Analogon entwickelt wurde und zur Verbindungsklasse der 3-Hydroxypropanhydrazonamide gehört. **IX** wies eine sehr gute antiplasmodiale Wirksamkeit auf, sowohl bei *in vitro* Untersuchungen (*Pf*3D7/*Pf*Dd2), als auch bei *in vivo* Evaluationen im *P. bergi* Mausmodell (Schema 44).

Zur Strukturoptimierung wurde **IX** in die drei Regionen A, B und C eingeteilt, die es zu modifizieren galt (Schema 44). Die schrittweise Variation der Struktur von **IX** sollte Informationen über neue Struktur-Aktivitäts-Beziehungen liefern und einige nachteilige Eigenschaften von **IX**, wie z.B. die unerwünschte Aktivität am hERG- K^+ -Kanal, reduzieren.

Die Region A von **IX**, welche eine 1,3-Difluor-6-trifluormethylphenanthrenstruktur aufweist, wurde durch heteroaromatische (Chinolin, 6-Methoxychinolin, 6-Methoxy-2-trifluormethylchinolin, Benzo[*h*]chinolin, 4-(Pyridin-2-yl)-phenyl) oder kleinere, nicht halogenierte, aromatische (4-*tert*-Butylphenyl, 3,5-Di-*tert*-butylphenyl) Substituenten

ausgetauscht (**26–36**). Des Weiteren wurde das Hydrazonamidstrukturelement in Region B durch Amidin-, Amidoxim- und 1,2,4-Triazinstrukturen ersetzt (**47–65**, **68–72**). In Region C wurde der 4-Fluorphenylsubstituent durch einen arylalkyl- und dialkylsubstituierten Stickstoff ausgetauscht, sodass *N*-disubstituierte Hydrazonamidderivate gewonnen werden konnten (**37–45**).

Die Hydrazonamide **26–45**, die Amidinderivate **57–65** und die 1,2,4-Triazinderivate **71** und **72** wurden direkt aus den entsprechenden Nitrilen (**13**, **14** und **16–23**) dargestellt, indem eine neue Syntheseroute etabliert wurde (Schema 45). Bei diesem neuen Syntheseweg wurden zunächst Hydrazin, Hydrazinderivate, wie z.B. *N,N*-Dimethylhydrazin oder aromatische Amine, wie z.B. 4-Fluoranilin, mit Trimethylaluminium (TMA) aktiviert. Anschließend wurden die aktivierten Stickstoffverbindungen mit den Nitrilen **13**, **14** und **16–23** zu den entsprechenden Zielverbindungen umgesetzt (Schema 45).



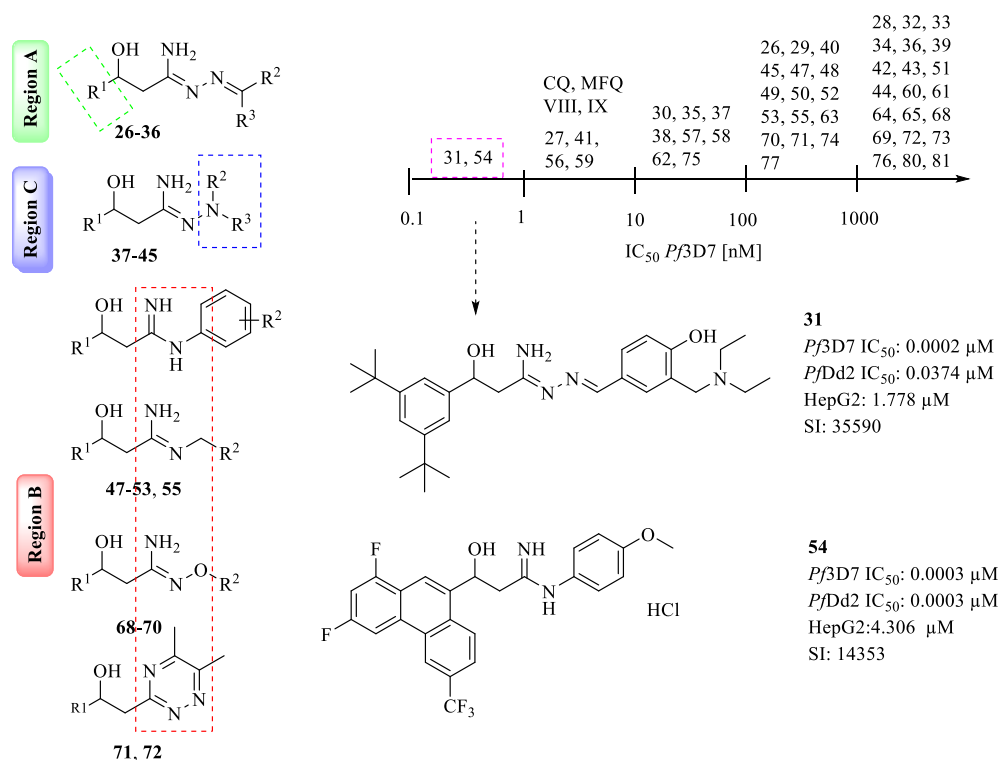
Schema 45. Synthese der Edukte **6–10**, **13–23** und der Zielverbindungen **26–45**, **47–65** und **68–72**. i) **6–8**: 1.50 equiv. SeO₂, 0.10 equiv. TBHP (5 M in Decan), Dioxan/H₂O (9:1, V/V), Reflux, 8–16 h. ii) **9**: a) 3.00 equiv. NBS, 0.01 equiv. DBPO, CCl₄, Reflux, 8 h. b) 2.00 equiv. NaOMe (0.5 M in Methanol), MeOH, Reflux, 6 h. c) 10 % HCl in H₂O/MeOH (1:1, V/V), Reflux, 1 h. **10**: a) 2.00 equiv. NBS, 0.01 equiv. DBPO, CCl₄, Reflux, 6 h. b) 1. 4.00 equiv. Urotropin, H₂O/EtOH (1:1, V/V), Reflux, 6 h; c) HCl_{konz.}, Reflux, 0.5 h. iii) **13–23**: 1.00 equiv. ACN, 1.10 equiv. *n*-Buli (1.6 M in *n*-Hexan), THF, -78 °C → RT. iv) **26–36**: a) 2.00 equiv. N₂H₄ (1 M in THF), 2.00 equiv. Al(CH₃)₃ (2 M in Toluol), Toluol/THF (1:1, V/V), 0 → 50 °C (**26–34**) oder 0 °C → RT, 24 h (**35, 36**); b) 1.00 equiv. R²CHO, THF, RT, 12 h oder 1.0 equiv. R²COR³ in THF, 1.5 equiv. ZnCl₂, RT, 12 h. v) **37–46**: 2.00 equiv. R²-NH₂, 2.0 equiv. Al(CH₃)₃ (2 M in Toluol), Toluol/THF (1:1, V/V), 50 °C, 5 h. vi) **57–65**: 2 equiv. R²-NH₂, 2. equiv. Al(CH₃)₃ (2 M in Toluol), Toluol/THF (1:1, V/V), 0 → 50 °C, 5 h. vii) **71, 72**: a) 2 equiv. N₂H₄ (1 M in THF), 2.00 equiv. Al(CH₃)₃ (2 M in Toluol), Toluol/THF (1:1, V/V), 0 → 50 °C, 5 h. b) 1.50 equiv. 2,3-Butandion, THF, 70 °C, 5 h. viii) MeOH, HCl_{gas}, CH₂Cl₂/THF, -10 °C → RT. ix) **47–56**: 1.00 equiv. R-NH₂, DCM, 0 °C → RT, 12 h. x) **68–70**: 1.00 equiv. **XXXIX** oder **67**, DCM, RT, 12 h.

Die Amidinderivate **47–56** und die Amidoximderivate **68–70** wurden aus den Imidomethylester-Hydrochloriden **XV–XVII** als reaktive Synthesezwischenprodukte synthetisiert. Die Imidate wurden mit den entsprechenden arylalkylsubstituierten Aminen, wie z.B. 4-Fluorbenzylamin bzw. *O*-arylalkylsubstituierten Hydroxylaminen (**XXXIX** und **46**) zu den gewünschten Zielverbindungen umgesetzt (**47–56** und **68–70**) (Schema 45).

Als Schlüsselintermediate für die Synthese der Zielverbindungen wurden die β -Hydroxynitrile **13–23** eingesetzt (Schema 45), welche aus (hetero)aromatischen Carbaldehyden **6–10** gewonnen wurden. Dazu wurden die Carbaldehyde **6–10** mit Lithioacetonitril umgesetzt (Schema 45). Die (hetero)aromatischen Aldehyde **6–10** wurden über zwei verschiedene Synthesewege erhalten. Dabei wurde jeweils eine benzyliche Methylgruppe einer heteroaromatischen Verbindung (**1–5**) und die Methylgruppe an Position 1 des 3,5-Di-*tert*-butyltoluens oxidiert (Schema 45).

Im Rahmen der Synthesen, die mit TMA als aktivierendes Reagenz durchgeführt wurden, konnten zwei Klassen von Nebenprodukten isoliert werden. Dabei handelt es sich um dimerisierte Nebenprodukte (**78–81**) und um dehydratisierte (α , β -ungesättigte) Nebenprodukte (**73**, **76** und **77**) (Schema 45). Bei der Synthese der Amidinderivate aus Imidat-Hydrochloriden wurden ebenfalls dehydratisierte Nebenprodukte (**74** und **75**) isoliert (Schema 45).

Insgesamt wurden 53 finale Verbindungen hergestellt, von denen 51 anschließend *in vitro* auf ihre antiplasmodiale Aktivität gegenüber dem chloroquin-sensitiven Laborstamm *Pf3D7* und dem multiresistenten Laborstamm *PfDd2* getestet wurden (Schema 46). 14 dieser Verbindungen zeigten eine Aktivität gegenüber *Pf3D7* die unter 0.100 μM lag, 6 dieser Verbindungen waren sogar im ein- bis subnanomolaren Konzentrationsbereich aktiv (*Pf3D7* IC_{50} : 0.0002–0.061 μM). Dabei stellten sich das Hydrazonamidderivat **31**, sowie das Amidinderivat **54**, als die antiplasmodial aktivsten Verbindungen heraus (Schema 46).



Schema 46. Zusammenfassung der *in vitro* Ergebnisse gegen den chloroquin-sensitiven Stamm *Plasmodium falciparum* 3D7.

Von den Verbindungen mit Modifikationen in Region A stellten sich die beiden Hydrazonamidderivate **27** und **31**, beide mit *tert*-Butylphenylsubstituenten in Region A, als die vielversprechendsten Hydrazonamidderivate hinsichtlich ihrer antiplasmodialen Aktivität (*Pf3D7* IC₅₀: **27**: 0.0042 μM, **31**: 0.0002 μM) dar. Zudem wiesen sie sehr gute Selektivitätsindizes auf (SI: **27**: 54821, **31**: 35590). Das mit einer 6-Methoxy-3-trifluormethylchinolinstruktur substituierte Hydrazonamid **35** war, im Vergleich zu den anderen heteroaromatisch substituierten Hydrazonamiden **32–36**, das antiplasmodial wirksamste (*Pf3D7* IC₅₀: **35**: 0.061 μM; **32–34**, **36**: 1.148–5.345 μM).

Von den in Region C modifizierten Hydrazonamidderivaten **36–45** war das 1,3-Dichlor-3-trifluormethylphenanthrensubstituierte Derivat **41** die antiplasmodial aktivste Verbindung (*Pf3D7* IC₅₀: 0.0079 μM), mit gutem Selektivitätsindex (SI: 1043).

Die Region B Modifikationen mit einem Amidinstrukturmerkmal zeigten, dass vor allem die an *N'*-arylierten Amidinderivate **54** und **56–59** mit Phenanthrensubstitution in Region A eine äußerst gute Aktivität gegen die beiden Plasmodienstämme *Pf3D7* und *PfDd2* besaßen (*Pf3D7* IC₅₀: 0.0003–0.055 μM, *PfDd2* IC₅₀: 0.0003–0.641 μM). Ihre zytotoxische Wirkung gegenüber humanen Zellen war dabei moderat bis gering, sodass sich gute Selektivitäten ergaben (HepG2 IC₅₀: 3.393–15.164 μM, SI: 274–14353).

Interessant war bei einem Vergleich der *N'*-arylierten Amidinderivate mit den *N'*-arylalkylsubstituierten Amidinen der große Unterschied sowohl in der Aktivität, als auch in der Selektivität. Denn die *N'*-arylalkylsubstituierten Amidine **47–53** und **55** wiesen eine gute bis geringe antiplasmodiale Aktivität (*Pf*3D7 IC₅₀: 0.166–15.068 µM, *Pf*Dd2 IC₅₀: 0.210–21.922 µM) bei gleichzeitig moderater Zytotoxizität (HepG2 IC₅₀: 5.071–9.183 µM) auf. Dies führte zu sehr geringen Selektivitätsindizes der Amidine **47–53** und **55** gegenüber dem *Pf*3D7-Stamm im Vergleich zu human Zellen (SI: 3–16).

Die Amidoximderivate **68–70** und die 1,2,4-Triazinderivate **71** und **72** waren schwächer antiplasmodial wirksam als ihre Hydrazonamidanaloga **VIII** und **IX**. Eine Halogensubstitution der Phenanthrenstruktur führte beim Amidoximderivat **70** im Vergleich zu den phenanthrenunsubstituierten Amidoximderivaten **68** und **69** zu einer Aktivität unter 1 µM (*Pf*3D7 IC₅₀: **70**: 0.258 µM; **68**, **69**: >27 µM). Hingegen zeigte das mit einer unsubstituierten Phenanthrenstruktur derivatisierte 1,2,4-Triazin **71** ebenfalls eine Aktivität unter 1 µM (**71**: *Pf*3D7 IC₅₀: 0.437 µM).

Abschließend wurden Verbindungen ausgewählt, die gute bis sehr gute *in vitro* Ergebnisse aufwiesen und gute Selektivitätsindizes besaßen. Die Verbindungen **27**, **30**, **31**, **37**, **54** und **57** wurden mit einem Peters Test in einem *P. berghei* Mausmodell auf ihre *in vivo* Aktivität getestet. Dabei wurden die Verbindungen in einer Dosis von 50 mg/kg KG peroral appliziert. Die Hydrazonamidderivate **27** und **31** führten zu einer guten bis sehr guten Reduktion der Parasitämie (PR: **27**: 99 %, **31**: 79 %). Das 3,5-Di-*tert*-butylphenylsubstituierte Derivat **31** führte dabei zu einer mittleren Überlebenszeit von 15 Tagen und war somit dem phenanthrensubstituierten Derivat **VIII** um fünf Tage überlegen (MÜZ: **31**: 15 Tage, **VIII**: 10 Tage). Das Amidinderivat **54** stellte sich bei der *in vivo* Testung als die vielversprechenste Verbindung heraus, da sie sowohl die Parasitämie um 99.8 % reduzierte, als auch zu einer mittleren Überlebenszeit von 27 Tagen führte und somit der Leitstruktur **IX** um 3 Tage überlegen war (MÜZ: **54**: 27 Tage, **IX**: 22 Tage). Weiterhin führte **54** bei zwei von drei Mäusen nach 30 Tagen Beobachtungszeit zu einer kurativen Wirkung und ist damit ein äußerst interessanter Kandidat für weitere präklinische Studien.

Zusammenfassend konnten zwei Verbindungsklassen, 3-Hydroxypropanhydrazonamidderivate und 3-Hydroxypropanamidinderivate, mit sehr potenten *in vitro* und *in vivo* Ergebnissen gegen asexuelle Blutstadien von *Plasmodium falciparum* entwickelt werden. Nach dem TCP/TPP Konzept würden sich diese

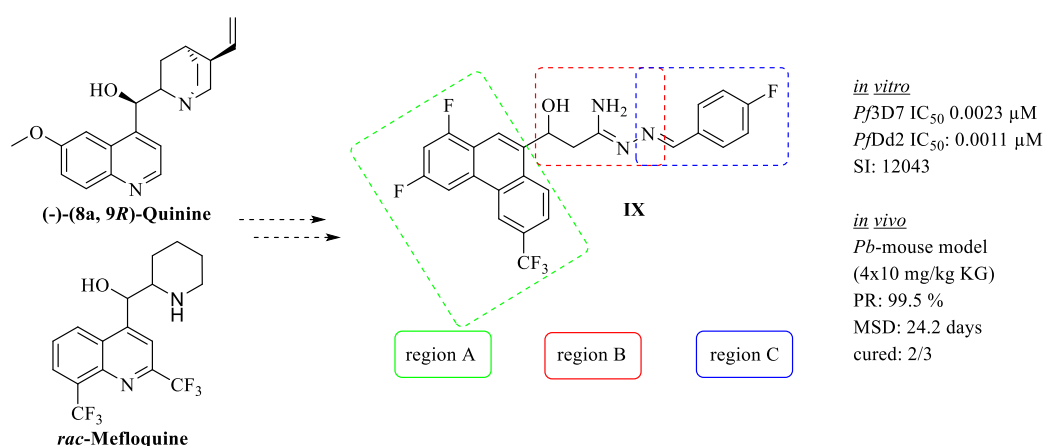
Verbindungen in die Klasse TCP-1 einordnen lassen (TCP-1: Moleküle mit Wirkung gegen die asexuellen Blutstadien).

Zukünftige Schritte wären nun eine *in vivo* Dosisfindungsstudie für das Amidinderivat **54**. Dadurch könnte untersucht werden, ob auch eine geringere Dosis als 50 mg/kg KG bei peroraler Gabe eine kurative Wirkung erzielt. Eine pharmakokinetische Untersuchung von **54** könnte Hinweise auf die Bioverfügbarkeit der Substanz geben. Wobei bereits ein Membranpermeabilitätsassay (z.B. Caco-2 Assay) Auskunft über die Fähigkeit von **54** Biomembranen zu passieren geben könnte. Des Weiteren wäre eine Aktivitätsmessung am hERG- K^+ -Kanal informativ, um zu untersuchen, ob das wirksame Amidinderivat **54** eine geringere Bindungsaffinität als **IX** aufweist. Um Aussagen über die vermutete Hydrazinfreisetzung tätigen zu können, wäre eine Untersuchung der metabolischen Stabilität der Hydrazonamidderivate **26–45** und der 1,2,4-Triazinderivate **71** und **72** interessant. Die gute antiplasmodiale Aktivität der Nebenprodukte **73–77** wäre ein Ansatzpunkt, um die Struktur-Aktivitäts-Beziehung am vermeintlichen Target, dem Hämazoin, detaillierter zu untersuchen. Jedoch ist ein targetbasierter Assay zur Untersuchung der Struktur-Aktivitäts-Beziehung der Arylaminoalkohole bis heute nicht bekannt.

8 Summary

Malaria is an infectious disease caused by the protozoan *Plasmodium* spp. It is one of the most dangerous diseases, especially in tropical and subtropical areas. Malaria is usually treated with arylaminoalcohols, e.g., Quinine and Mefloquine (Scheme 47).

This work deals with the optimization of lead structure **IX**, a 3-hydroxypropanhydrazonamide derivative. **IX** showed excellent *in vitro* efficacy against the asexual blood stages of *Plasmodium falciparum*. Furthermore, **IX** exhibited promising *in vivo* activity when administered perorally (Scheme 47).



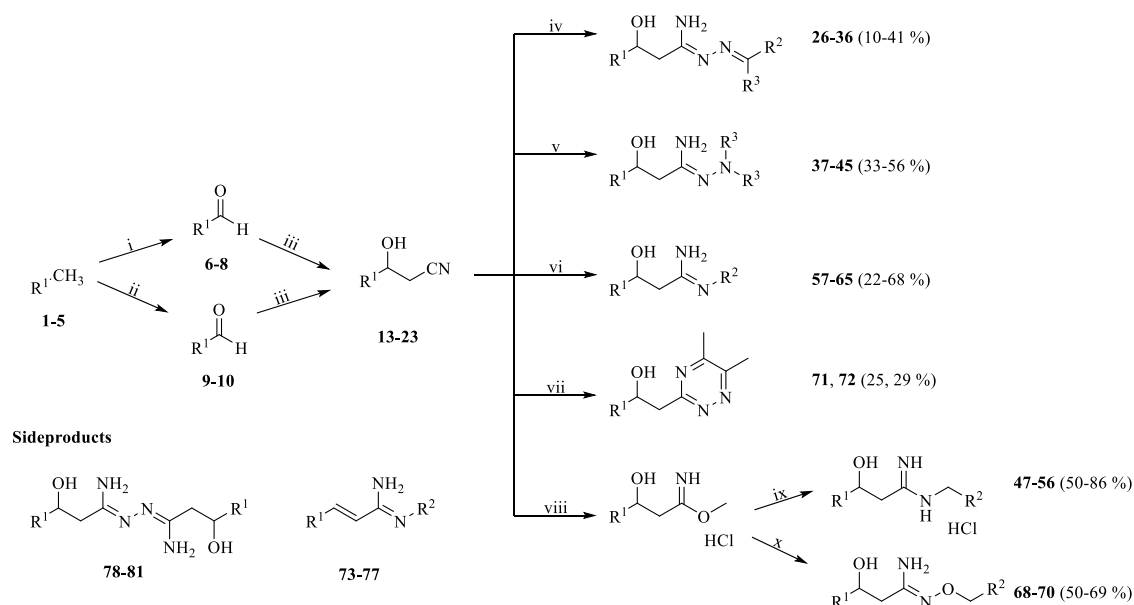
Scheme 47. Lead structure **IX**.

For structure optimization, lead **IX** was divided into three different regions A-C (Scheme 47), which was modified stepwise. These variations revealed new structure-activity-relationships. Another objective of the lead structure optimization was the minimization of hERG- K^+ -channel activity as well as the improvement of the water solubility.

Region A of **IX** is characterized by a 1,3-difluoro-6-(trifluoromethyl)phenanthrene moiety which was replaced by heteroaromatic (quinoline, 6-methoxyquinoline, 6-methoxy-2-trifluoromethylquinoline, benzo[*h*]quinoline, 4-(pyridine-2-yl)-phenyl) and smaller aromatic ring systems (4-*tert*-butylphenyl, 3,5-di-*tert*-butyltoluene) (**26–36**). Furthermore, the hydrazonamide moiety in region B was replaced by an amidine-, amidoxime- or 1,2,4-triazine functionality (**47–65**, **68–72**). The exchange of the 4-fluorophenyl moiety in region C with an arylalkyl- or dialkylsubstituted nitrogen resulted in *N'*-disubstituted hydrazonamide derivatives (**37–45**).

The synthesis of the hydrazonamiderivatives (**26–45**), the amidine- (**57–65**) and 1,2,4-triazinderivates (**71** and **72**) were carried out directly from the respective nitriles **13**,

14 and **16–23**. The synthesis was initiated by the activation of nitrogen containing compounds, such as hydrazine, hydrazinederivatives (e.g. *N,N*-Dimethylhydrazine) or aromatic amines (e.g., 4-fluoroaniline), with trimethylaluminium (TMA). Subsequently, the addition of the desired nitriles resulted in the final compounds (Scheme 48).



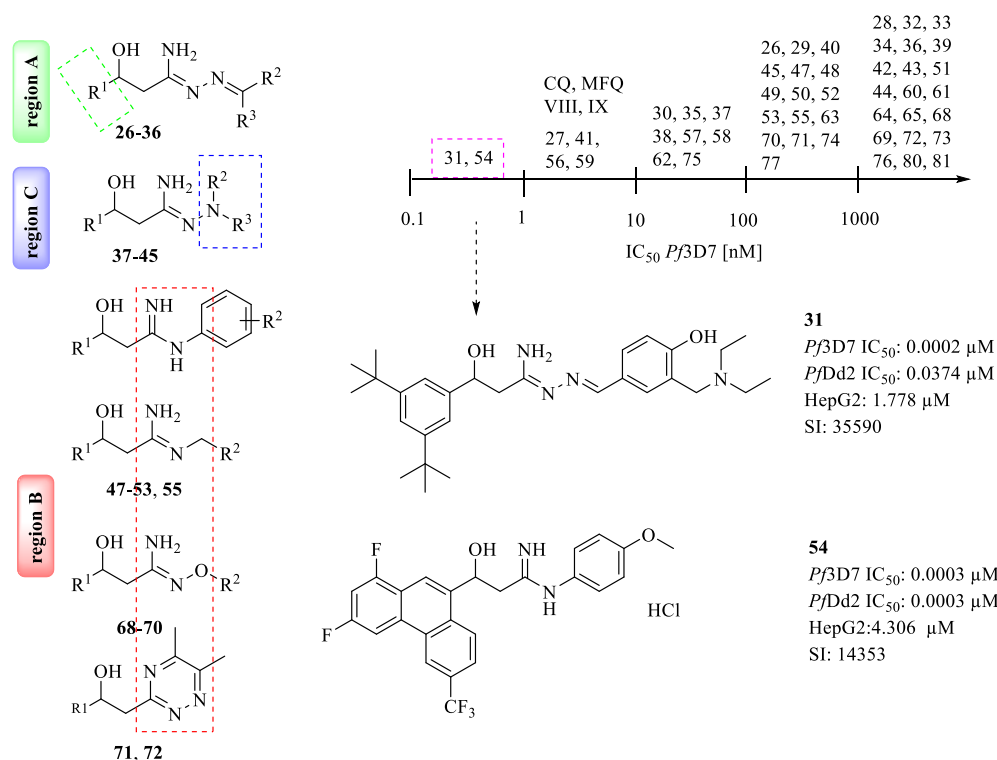
Scheme 48. Synthesis of starting material **6–10**, **13–23** and final compounds **26–45**, **47–65** and **68–72**. i) **6–8**: 1.50 equiv. SeO₂, 0.10 equiv. TBHP (5 M in Decan), Dioxan/H₂O (9:1, V/V), reflux, 8 – 16 h. ii) **9**: a) 3.00 equiv. NBS, 0.01 equiv. DBPO, CCl₄, reflux, 8 h. b) 2.00 equiv. NaOMe (0.5 M in MeOH), MeOH, reflux, 6 h. c) 10 % HCl in H₂O/MeOH (1:1, V/V), reflux, 1 h. **10**: a) 2.00 equiv. NBS, 0.01 equiv. DBPO, CCl₄, reflux, 6 h. b) 1. 4.00 equiv. Urotropin, H₂O/EtOH (1:1, V/V), reflux, 6 h; c) HCl_{konz.}, reflux, 0.5 h. iii) **13–23**: 1.00 equiv. ACN, 1.10 equiv. *n*-Buli (1.6 M in *n*-hexane), THF, -78 °C → RT. iv) **26–36**: a) 2.00 equiv. N₂H₄ (1 M in THF), 2.00 equiv. Al(CH₃)₃ (2 M in Toluene), Toluene/THF (1:1, V/V), 0 → 50 °C, 5 h (**26–34**) or 0 °C → RT, 24 h (**35**, **36**); b) 1.00 equiv. R²CHO, THF, rt, 12 h oder 1.00 equiv. R²COR³ in THF, 1.50 equiv. ZnCl₂, rt, 12 h. v) **37–46**: 2.00 equiv. R²-NH₂, 2.00 equiv. Al(CH₃)₃ (2 M in Toluene), Toluene/THF (1:1, V/V), 50 °C, 5 h. vi) **57–65**: 2.00 equiv. R²-NH₂, 2.00 equiv. Al(CH₃)₃ (2 M in Toluene), Toluene/THF (1:1, V/V), 0 → 50 °C, 5 h. vii) **71**, **72**: a) 2.00 equiv. N₂H₄ (1 M in THF), 2.00 equiv. Al(CH₃)₃ (2 M in Toluene), Toluene/THF (1:1, V/V), 0 → 50 °C, 5 h. b) 1.50 equiv. butan-2,3-dione, THF, 70 °C, 5 h. viii) MeOH, HCl_{gas}, CH₂Cl₂/THF, -10 °C → rt. ix) **47–56**: 1.00 equiv. R-NH₂, DCM, 0 °C → rt, 12 h. x) **68–70**: 1.00 equiv. **XXXIX** or **67**, DCM, rt, 12 h.

The amidine derivatives **47–56** and the amidoxime derivatives **68–70** were synthesized by using imidate-hydrochlorides (**XV–XVII**) as reactive intermediates. Subsequently, those reactive intermediates were converted with the respective arylalkylated aromatic amines (e.g. 4-fluorobenzylamine) or with the appropriate benzylic hydroxylamines (Scheme 48).

The nitriles **13–23** were used as key intermediates in every reaction. **13–23** were synthesized by the conversion of (hetero)aromatic aldehydes (**6–10**) with lithioacetonitrile. The synthesis of **6–10** was carried out using two different routes, both beginning with a benzylic methyl group (**1–5**).

The TMA-mediated conversion of nitriles with the desired nucleophiles resulted also in two classes of side products. The first were dimerized products (**78–81**), the second were dehydrated (α , β -unsaturated) products (**73**, **76**, **77**). Dehydrated products (**74**, **75**) were identified during the reaction starting of imidate-hydrochlorides with the desired nucleophiles.

In summary, 53 final compounds were synthesized using two synthetic routes. **51** compounds were tested *in vitro* against the asexual blood stages of *P. falciparum* (*Pf3D7/PfDd2*). 14 compounds showed a good activity against *Pf3D7* (IC_{50} less than $0.1 \mu M$), 6 compounds were even active in single digit nanomolar to subnanomolar concentrations (*Pf3D7* IC_{50} : 0.00002 – $0.061 \mu M$) (Scheme 49).



Scheme 49. *In vitro* data of final compounds.

The hydrazonamide derivatives **27** and **31** were highly active with excellent selectivity indices (*Pf3D7* IC_{50} : **27**: $0.0042 \mu M$, **31**: $0.0002 \mu M$, *SI*: **27**: 54821, **31**: 35590). **35**, a hydrazonamide derivative with 6-methoxy-2-trifluoromethylquinoline substitution in region A, presented the highest activity of all compounds with a heteroaromatic ring system in region A (**32–34**, **36**) (*Pf3D7* IC_{50} : **35**: $0.061 \mu M$; **32–34**, **36**: 1.148 – $5.345 \mu M$).

Compound **41** exhibited the highest antiparasmodial activity of all compounds with modifications in region C (**36–45**), (*Pf3D7* IC_{50} : $0.0079 \mu M$).

Replacing the hydrazonamide moiety in region B with an amidine moiety led to the compounds **47–59**. The *N'*-aryl substituted amidine derivatives **54**, **56–59** showed a potent activity against both *Plasmodium falciparum* strains (*Pf3D7* IC₅₀: 0.0003–0.055 µM, *PfDd2* IC₅₀: 0.0003–0.641 µM). In addition, **54**, **56–59** showed moderate to low cytotoxic effects with good selectivity indices (HepG2 IC₅₀: 3.393–15.164 µM, SI: 274–14353). In contrast, the *N'*-arylalkylated compounds **47–53** and **55** showed lower efficacy with similar cytotoxicities (HepG2 IC₅₀: 5.071–9.183 µM), resulting in low selectivity indices (SI: 3–16).

The amidoxime derivatives **68–70** and the 1,2,4-Triazine derivatives **71** and **72** showed a decreased activity in comparison to their hydrazonamide analogues **VIII** and **IX**. A halogen substitution at the phenanthrene moiety led to compound **70**, which showed a good activity against *Pf3D7*. Interestingly, the unsubstituted phenanthrene analogues **68** and **69** were not active against *Plasmodium falciparum* (*Pf3D7* IC₅₀: **70**: 0.258 µM; **68**, **69**: >27 µM). However, the 1,2,4-triazine **71** with an unsubstituted phenanthrene scaffold showed a good antiplasmodial activity (*Pf3D7* IC₅₀: 0.437 µM).

Finally, selected compounds (**27**, **30**, **31**, **37**, **54** and **57**) were tested *in vivo* in a standard Peters test (50 mg/kg KG, peroral administration). The hydrazonamide derivative **31** showed a mean survival time of 15 days and a parasitemia reduction of 79 %. The amidine derivative **54** was the most promising compound due to its high parasitemia reduction (99.8 %) and a prolonged mean survival time of 5 days compared to **IX** (MST: **54**: 27 d, **IX**: 22 d). **54** showed a cure rate of 66.6 % after 30 days.

In summary, two compound classes, 3-hydroxypropane hydrazonamides and 3-hydroxypropane amidines, with good to excellent *in vitro* and *in vivo* activity were synthesised. According to the TCP/TPP concept, these new compounds would be classified in class TCP-1 (molecules with activity against asexual blood stages).

Further investigations would be dose finding studies and pharmacokinetic studies of **54**. These studies would provide valuable information about the *in vivo* efficacy of the amidine derivative **54**. A hERG-*K*⁺-channel activity assay would show whether **54** has a detrimental off-target effect. The good antiplasmodial activity of side products **73–77** would be a starting point to study the structure-activity relationship of the putative target, hemazoin, in more detail.

9 Experimenteller Teil

9.1 Verwendete Chemikalien und Geräte

Käuflich erworbene Edukte wurden von kommerziellen Anbietern (Sigma, Fluorochem, Alfa Aesar, TCI Chemicals) in Reinheitsgraden von 95–99 % erworben und ohne weitere Aufreinigung umgesetzt. Die verwendeten Lösungsmittel hatten die Reinheitsgrade technisch, reinst (p.a.) und absolut (abs. (wasserfrei)). P.a. und abs. Lösungsmittel wurden von den Anbietern Acros, Riedel-de Haen und Fisher Chemicals bezogen. Ist kein Reinheitsgrad angegeben, wurden technische Lösungsmittel verwendet.

Phosphatpuffer pH 7.5, $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (Ph. Eur. 8.7): 27.22 g Kaliumhydrogenphosphat *R* werden in 930 mL Wasser *R* gelöst. Die Lösung wurde mit Hilfe einer Lösung von Kaliumhydroxid *R* ($300 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) auf einen pH-Wert von 7.5 eingestellt und mit Wasser *R* zu 1000.0 mL verdünnt.

Kaliumpermanganat-Tauchlösung: 3.0 g Kaliumpermanganat, 20.0 g Kaliumcarbonat, 5 mL wässrige 5 % NaOH-Lösung werden in 300 mL Wasser gelöst. Die Lösung wird lichtgeschützt aufbewahrt.

NMR Spektren

Die ^1H - und ^{13}C -NMR Experimente wurden mittels eines Bruker Avance 300 (300.13 MHz für ^1H und 75.47 MHz für ^{13}C), Bruker Avance DRX-500 (500.13 X MHz für ^1H und 125.76 MHz für ^{13}C), sowie 600 MHz (600.22 MHz für ^1H und 151.93 MHz für ^{13}C) durch das Personal der wissenschaftliche Einrichtung Chemie aufgenommen. Probenvorbereitung: Als Lösungsmittel dienten DMSO-*d*₆, Chloroform-*d* oder Methanol-*d*₄. Die chemische Verschiebung δ ist in ppm relativ zum externen Standard Tetramethylsilan (TMS) angegeben. Als interner Standard der ^1H -NMR und ^{13}C -NMR Spektren dienten die undeuterten Lösungsmittelanteile.¹⁵⁶ Alle Spektren wurden bei Raumtemperatur in den angegebenen Lösungsmitteln durchgeführt. Die Kopplungskonstanten zwischen zwei Kernen über *n* Bindungen (nJ) werden in Hz angegeben. Die Multiplizität und Form der Signale werden folgendermaßen abgekürzt: s (Singulett), d (Duplett), dd (Duplett eines Dupletts), dt (Duplett eines Triplets), q (Quartett), t (Triplet), m (Multipllett), *br* (breit).

Elementaranalyse

Die Elementaranalyse wurde mit einem Perkin Elmer PE 2400 CHN Elemental Analyzer durchgeführt. Eine Abweichung vom theoretischen Wert bis zu 0.4 % wird akzeptiert. Die Elementaranalyse wurde von Frau Gabriele Zerta durchgeführt.

Massenspektren

Die Massenspektren wurden mit einem Bruker Daltonics UHR-QTOF maXis 4G oder mit einem Thermo Quest Ion-Trap-API-Massenspektrometer Finnigan LCQ Deca Gerät aufgenommen. Die Massenspektren wurden durch das Personal der Wissenschaftlichen Einrichtung Chemie aufgenommen.

HPLC**Methode 1** (Meth. 1): *Achirale Trennung*

Knauer HPLC mit einem Knauer UV Detector K-2600.

Säule: Vertex Plus (Länge 150 x 4 mm mit Vorsäule, Packungsmaterial der Säule: Eurospher II 100-5 C18).
 Mobile Phase A: Wasser für die Chromatographie, das 0.1 % Trifluoressigsäure enthält.
 Mobile Phase B: Acetonitril für die Chromatographie, das 0.1 % Trifluoressigsäure enthält.

Zeit [min]	Mobile Phase A [%]	Mobile Phase B [%]
0	90	10
20	90 → 0	10 → 100
30	0	100

Detektion: 254 nm
 Flussrate: 1 mL/min
 Laufzeit: 30 min
 Probenvorbereitung: 1.0 mg Substanz gelöst in 1.0 mL Acetonitril für die Chromatographie.

Methode 2 (Meth. 2): *Chirale Trennung*

Knauer HPLC mit einem Knauer UV Detector K-2600.

Säule: Diacel Chemicals, Chiralpak AD-H, 250 x 4.6 mm.
 Mobile Phase: Isokratische Elution mit *n*-Hexan für die Chromatographie/Isopropanol für die Chromatographie (7:3, V/V).
 Flussrate: 1 mL/min
 Laufzeit: 20 min

Probenvorbereitung: 1.0 mg Substanz gelöst in 1.0 ml Methanol für die Chromatographie.

Dünnschichtchromatographie

Stationäre Phase: DC-Alufolien mit Kieselgel 60 (unmod., 0,2 mm) mit Fluoreszenz-Indikator F₂₅₄ der Firma Machery-Nagel.

Mobile Phasen: *n*-Hexan/Ethylacetat oder Dichlormethan/Methanol in unterschiedlichen Mischungsverhältnissen.

Laufstrecke: 8 cm

Detektion: Fluoreszenzlöschung bei UV-Licht der Wellenlänge 254 nm oder durch Anfärben mit wässriger Kaliumpermanganat-Tauchlösung.

Schmelzpunktmessgerät

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Krüss Schmelzpunktmessgerät M5000 gemessen, sie sind unkorrigiert und in °C angegeben.

Endpunktsbestimmung Potentiometrie

Die Endpunktsbestimmung erfolgte mit einem Mettler Toledo, FiveEasy FE20 Potentiometer.

Lyophilisierer

Die Lyophilisierung wässriger Lösungen erfolgte mit einem Christ alpha 1-4 LD plus Lyophilisierer.

Schüttler

Wässrige Probenlösungen zur Stabilitätsmessung wurden auf einem IKA KS 260 Basic geschüttelt.

Säulenchromatographische Reinigung

Säulenchromatographische Reinigungen wurden entweder manuell oder mittels Flashchromatographie an einer CombiFlash® 200 durchgeführt. Im Falle einer manuellen Säulenchromatographie wurde Normalphasenkieselgel 60 (0.04–0.063 mm, 230–

400 mesh) der Firma Macherey-Nagel verwendet, für die Trennung mittels Flashchromatographie wurden „RediSep™ Rf“-Kartuschen verwendet.

Für die flashchromatographische Trennung an einer Umkehrphase wurde eine Chromabond® Flash, RS 40 C₁₈ ec Säule der Firma Macherey-Nagel verwendet.

9.2 Allgemeine Arbeitsvorschriften und analytische Daten

9.2.1 Allgemeine Arbeitsvorschriften zur Herstellung der Edukte 1–25, 46, 66 und 67 (AAV1-AAV14)

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung von 6-Methoxychinolin (1) in Anlehnung an die Literatur (AAV1).¹⁰⁴

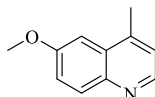
20.00 g Polyphosphorsäure wurden in einem Dreihalskolben auf 70 °C erwärmt, sodass sich eine rührbare Lösung ergab. 2.95 g (24.00 mmol) 4-Methoxyanilin wurden fein gemörst und in 10.00 g Phosphorsäure gelöst. Diese Lösung wurde langsam zur Polyphosphorsäurelösung getropft. Anschließend wurden 4.00 mL (48.00 mmol) Methylvinylketon über einen Zeitraum von 5 Minuten hinzuge tropft. Der Reaktionsansatz wurde auf 100 °C erhitzt und 42 Stunden gerührt. Die Lösung wurde auf 0 °C abgekühlt und mit 100 mL Wasser verdünnt. Unter Eiskühlung wurde das Reaktionsgemisch vorsichtig mit konzentrierter Ammoniak-Lösung neutralisiert. Die dabei entstandene wässrige, braune Suspension wurde 5 x mit 200 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der verbleibende Rückstand wurde zunächst über eine Filtersäule gegeben (Lösungsmittel: *n*-Hexan/Ethylacetat, 1:1, V/V) und anschließend säulenchromatographisch gereinigt (Elutionsmittel: *n*-Hexan/Ethylacetat, 1:1, V/V).

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung von 6-Methoxychinolin (1) in Anlehnung an die Literatur (AAV2).¹⁰⁵

12.00 g Kieselgel und 2.00 g wasserfreies FeCl₃ wurden fein verrieben und bei 80 °C für 5 Stunden im Trockenschrank aktiviert („activated silferc“). 0.98 g (8.00 mmol) 4-Methoxyanilin wurden in 10 mL Essigsäure, p.a. gelöst. Zu dieser Lösung wurden 9.33 g (entspricht 8.00 mmol FeCl₃) „activated silferc“ gegeben. Die Suspension wurde 5 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und anschließend wurden 0.73 mL (8.80 mmol)

Methylvinylketon über einen Zeitraum von 15 Minuten hinzuge tropft. Die Suspension wurde für eine Stunde bei 70 °C gerührt. 1.10 g wasserfreies ZnCl₂ (8.00 mmol) wurde zum Reaktionsgemisch gegeben. Der Reaktionsansatz wurde 2 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Reaktionsgemisch filtriert und unter Eiskühlung mit 10 % Natriumhydroxid-Lösung auf einen pH-Wert von 8 eingestellt. Die wässrige Phase wurde 3 x mit 100 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mittels Säulenchromatographie (Elutionsmittel: *n*-Hexan/Ethylacetat, 1:1, V/V) gereinigt. Das Rohprodukt wurde in Ethanol, p.a. gelöst und als Hydrochlorid durch Zugabe von HCl in Diethylether, p.a. ausgefällt. Der resultierende Niederschlag wurde abfiltriert und aus Ethanol, p.a. umkristallisiert. Nach Filtration des Niederschlags erhielt man **1**-HCl in 25 % Ausbeute.

6-Methoxychinolin (1)



Hergestellt aus **4-Methoxyanilin** (2.95 g, 24.00 mmol) und Methylvinylketon nach **AAV 1**.

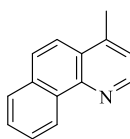
Hellbrauner Feststoff, Ausbeute: 30 %, Smp: 29 °C [Lit.: 26–29 °C]¹⁵⁷, ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 8.60 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.92 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.40 (dd, *J* = 9.1, 2.8 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.36–7.30 (m, 2H, *H*_{arom}), 3.94 (s, 3H, OCH₃), 2.66 (d, *J* = 0.9 Hz, 3H, ArCH₃). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 157.10, 147.50, 143.43, 142.57, 130.95, 128.71, 122.09, 121.27, 102.36, 55.45, 18.30. HPLC (Meth. 1): *t*_R = 5.5 min, AUC = 96.6 %.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung von 4-Methylbenzo[*h*]chinolin (2) in Anlehnung an die Literatur (AAV3).¹⁰⁴

5.00 g (35.00 mmol) 1-Naphthylamin wurde fein gemörsert und mit 20.00 g Polyphosphorsäure in einem Dreihalskolben auf 70 °C erwärmt, sodass sich eine rührbare Suspension ergab. Anschließend wurden 5.83 mL (70.00 mmol) Methylvinylketon über einen Zeitraum von 5 Minuten zur Suspension getropft. Der Reaktionsansatz wurde auf 120 °C erhitzt und 36 Stunden gerührt. Nach Abkühlen auf 0 °C wurde der

Reaktionsansatz zunächst mit 100 mL Wasser verdünnt und anschließend vorsichtig mit konzentrierter Ammoniak-Lösung neutralisiert. Die dabei entstandene wässrige, braune Suspension wurde 5 x mit je 200 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der verbleibende Rückstand wurde zunächst über eine Filtersäule gegeben (Lösungsmittel: *n*-Hexan/Ethylacetat, 1:1, V/V) und anschließend säulenchromatographisch gereinigt (Elutionsmittel: *n*-Hexan/Ethylacetat, 1:1, V/V).

4-Methylbenzo[*h*]chinolin (2)



Hergestellt aus **1-Naphthylamin** (5.00 g, 35.00 mmol) und Methylvinylketon nach **AAV3**.

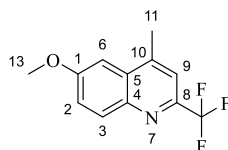
Beiger Feststoff, Ausbeute: 44 %, Smp: 76 °C [Lit.: 77–78 °C]¹⁵⁸, ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 9.25–9.20 (m, 1H, *H*_{arom}), 8.87 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H, *H*_{arom}), 8.05 (dd, *J* = 9.1, 5.8 Hz, 2H, *H*_{arom}), 7.99 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.78–7.73 (m, 3H, *H*_{arom}), 2.76 (d, *J* = 0.9 Hz, 3H, ArCH₃). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 148.63, 145.18, 144.25, 132.91, 131.12, 128.10, 127.82, 127.10, 126.98, 125.33, 124.16, 123.20, 121.76, 18.46. HPLC (Meth. 1): *t*_R = 7.3 min, AUC = 95.2 %.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung von 6-Methoxy-4-methyl-2-(trifluormethyl)chinolin (3) und 4-Methyl-2-(trifluormethyl)benzo[*h*]chinolin (4a/b) in Anlehnung an die Literatur (AAV4).¹⁰⁴

3.08 g (25.00 mmol) 4-Methoxyanilin bzw. 2.00 g (14.00 mmol) 1-Naphthylamin wurden in einem Dreihalskolben in 12.00 g Polyphosphorsäure suspendiert und auf 70 °C erhitzt. 4.55 mL (37.50 mmol) bzw. 2.54 mL (21.00 mmol) 1,1,1-Trifluor-2,4-pentandion wurden über einen Zeitraum von 5 Minuten vorsichtig zur Suspension getropft. Anschließend wurde der Reaktionsansatz auf 120 °C erhitzt und 36 h gerührt. Die resultierende Lösung wurde auf 0 °C abgekühlt, mit 100 mL Wasser verdünnt und anschließend vorsichtig mit konzentrierter Ammoniak-Lösung neutralisiert. Die dabei

entstandene wässrige, braune Suspension wurde 5 x mit je 200 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der verbleibende Rückstand wurde zunächst über eine Filtersäule gegeben (Lösungsmittel: *n*-Hexan/Ethylacetat (1:1, V/V)) und anschließend säulenchromatographisch gereinigt (Elutionsmittel: *n*-Hexan/Ethylacetat (1:1, V/V)). Das Rohprodukt wurde aus Methanol, p.a. umkristallisiert.

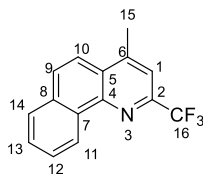
6-Methoxy-4-methyl-2(trifluormethyl)chinolin (3)



Hergestellt von **4-Methoxyanilin** (3.08 g, 25.00 mmol) und 1,1,1-Trifluor-2,4-pentandion (6.06 mL, 50.00 mmol) nach **AAV 4**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 84 %, Smp: 84 °C [Lit.: 83–87 °C]¹⁰³, ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 8.06 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.80 (s, 1H, *H*_{arom}), 7.55 (dd, *J* = 9.2, 2.7 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.43 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H, *H*_{arom}), 3.99 (s, 3H, OCH₃), 2.77 (s, 3H, ArCH₃). ¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 159.34 (C-1), 146.77 (C-10), 144.11 (q, ²*J*_{CF} = 33.1 Hz, C-8), 142.58 (C-5), 131.92 (C-3), 130.35 (C-4), 123.89 (C-2), 122.36 (q, ¹*J*_{CF} = 274.7 Hz, C-14), 117.89 (C-9), 102.84 (C-6), 56.23 (C-13), 19.04 (C-11).^{hh} HPLC (Meth. 1): *t*_R = 15.72 min, AUC = 98.8 %.

4-Methyl-2-(trifluormethyl)benzo[*h*]chinolin (4a)



Hergestellt aus **1-Naphthylamin** (2.00 g, 14.00 mmol) und 1,1,1-Trifluor-2,4-pentandion (3.40 mL, 28.00 mmol) nach **AAV4**.

Die Reinigung des Isomerengemisches erfolgte mittels Umkehrphasen-Flashchromatographie: Gradientenelution: H₂O/ACN: (10 → 0 / 0 → 10 (V/V)). Nach

^{hh} Die Zuordnung der Signale erfolgte mittels HSQC, HMBC; NOESY.

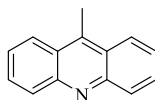
dem Entfernen des Laufmittels unter vermindertem Druck wurde das Produkt aus Methanol, p.a. umkristallisiert.

Weißer Feststoff, Ausbeuteⁱⁱ: 20 %, Smp: 138 °C, ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 9.21–9.13 (m, 1H, *H*_{arom}), 8.18–8.08 (m, 3H, *H*_{arom}), 8.03 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.87–7.80 (m, 2H, *H*_{arom}), 2.87 (d, *J* = 0.9 Hz, 3H, ArCH₃). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 147.90 (C-4), 144.64 (q, ²*J*_{CF} = 33.6 Hz, C-2), 144.56 (C-6), 133.30 (C-8), 130.45 (C-5), 129.63 (C-14), 129.14 (C-9), 128.15 (C-13), 127.80 (C-12), 126.93 (C-7), 124.18 (C-11), 121.88 (q, ¹*J*_{CF} = 275.0 Hz, C-16), 121.35 (C-10), 118.81 (d, ³*J*_{CF} = 2.5 Hz, C-1), 18.75 (C-15).^{jj} HPLC (Meth. 1): *t*_R = 19.2 min, AUC = 99.3 %.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung von 9-Methylacridin (5) in Anlehnung an die Literatur (AAV5).^{106,159}

Eine Suspension aus 6.00 g (35.50 mmol) Diphenylamin, 6.0 mL (106.50 mmol) Essigsäure, p.a. und 24.14 g (177.50 mmol) wasserfreies ZnCl₂ wurde bei 200 °C für 24 h gerührt. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und langsam mit verdünnter H₂SO₄ verdünnt, bis eine Grünfärbung eintrat. Die Lösung wurde unter Eiskühlung mit 10 % wässriger Ammoniak-Lösung auf einen pH-Wert von 10 eingestellt, wobei sich zunächst ein weißer Niederschlag bildete, der sich durch weitere Zugabe von Ammoniak-Lösung wieder auflöste. Die wässrige Lösung wurde 5 x mit je 200 mL Toluol extrahiert, die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mittels Säulenchromatographie gereinigt (Elutionsmittel: *n*-Hexan/Ethylacetat (1:1, V/V)).

9-Methylacridin (5)



Hergestellt aus **Diphenylamin** (6.00 g, 35.50 mmol) nach **AAV5**.

ⁱⁱ Die Ausbeuteangabe ist auf das Isomerengemisch (**4a/4b**) bezogen. Die Analytik bezieht sich auf die isolierte, reine Fraktion **4a**. Der Schmelzpunkt ist in der Literatur für das Gemisch angegeben: 151 – 154 °C.

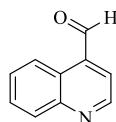
^{jj} Die Zuordnung der Signale wurde mittels HSQC/HMBC NMR durchgeführt.

Hellgelber Feststoff, Ausbeute: 67 %, Smp: 117 °C [Lit.: 117–118 °C]^{159,160}, ¹H-NMR (300MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 8.43 (dd, *J* = 1.5, 0.7 Hz, 1H, *H*_{arom}), 8.40 (dd, *J* = 1.4, 0.7 Hz, 1H, *H*_{arom}), 8.14 (dt, *J* = 8.9, 1.1 Hz, 2H, *H*_{arom}), 7.84 (ddd, *J* = 8.7, 6.5, 1.3 Hz, 2H, *H*_{arom}), 7.64 (ddd, *J* = 8.8, 6.6, 1.3 Hz, 2H, *H*_{arom}), 3.14 (s, 3H, ArCH₃). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 147.85, 142.58, 129.94, 129.66, 125.51, 125.08, 124.98, 13.33. HPLC (Meth. 1): *t*_R = 6.6 min, AUC = 95.9 %.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung der Aldehyde 6–8 in Anlehnung an die Literatur (AAV6).^{108,109}

3.33 g (30.00 mmol) Selendioxid wurden in einem Zweihalskolben in 100 mL 1,4-Dioxan/H₂O (9:1, V/V) gelöst. 0.40 mL (2.00 mmol) TBHP (5 M in Decan) wurden hinzugegeben. Die Lösung wurde auf 80 °C erhitzt. 20.00 mmol des entsprechenden Chinolinderivates (Lepidin, **1** und **2**) wurde in Dioxan gelöst und zur Reaktionslösung getropft. Die Lösung wurde unter Rückfluss erhitzt (Dauer: **6**, **7**: 8 Stunden, **8**: 16 Stunden). Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der resultierende Niederschlag über Kieselgur abfiltriert. Das Filtrat wurde mit einer gesättigten NaHCO₃-Lösung auf einen pH-Wert von 8 eingestellt und 3 x mit Ethylacetat (je 50 mL pro mmol) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Gradientenelution: *n*-Hexan/Ethylacetat, 100 → 0 / 0 → 100, V/V).

Chinolin-4-carbaldehyd (6)

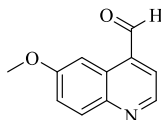


Hergestellt aus **Lepidin** (2.86 g, 20.00 mmol) nach **AAV 6**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 88 %, Smp: 46 °C [Lit.: 45–47 °C]¹⁶¹, ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 10.55 (s, 1H, CHO), 9.24 (d, *J* = 4.3 Hz, 1H, *H*_{arom}), 8.97 (d, *J* = 8.3, 1.6, 0.7 Hz, 1H, *H*_{arom}), 8.23–8.13 (m, 1H, *H*_{arom}), 8.05 (d, *J* = 4.3 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.97–7.72 (m, 2H, *H*_{arom}). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 194.56, 151.13, 148.45,

136.41, 130.05, 129.57, 129.08, 125.79, 124.19, 123.27. HPLC (Meth. 1): $t_R = 2.6$ min, AUC ≥ 90 % (Tailing).

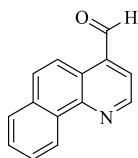
6-Methoxychinolin-4-carbaldehyd (7)



Hergestellt aus **1** (1.04 g, 6.00 mmol) nach **AAV6**.

Beiger Feststoff, Ausbeute: 27 %, Smp: 94–97 °C [Lit.: 92–97 °C]¹⁶², ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 10.53 (s, 1H, CHO), 9.06 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.40 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.08 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.02 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.54 (dd, $J = 9.3, 2.8$ Hz, 1H, H_{arom}), 3.95 (s, 3H, OCH₃). ¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 195.33, 160.00, 148.57, 145.42, 135.44, 131.62, 127.02, 125.20, 122.81, 102.81, 56.10. HPLC (Meth. 1): $t_R = 3.9$ min, AUC ≥ 99 %.

Benzo[*h*]chinolin-4-carbaldehyd (8)



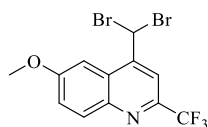
Hergestellt aus **2** (0.97 g, 5.00 mmol) nach **AAV6**.

Gelber Feststoff, Ausbeute: 70 %, Smp: 35 °C, ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 10.67 (s, 1H, CHO), 9.33 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H, H_{arom}), 9.25–9.22 (m, 1H, H_{arom}), 8.87 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.17–8.14 (m, 2H, H_{arom}), 7.85–7.79 (m, 3H, H_{arom}). ¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 194.91, 150.16, 147.12, 137.13, 133.28, 130.95, 130.68, 129.44, 128.46, 128.20, 125.27, 124.69, 122.85, 121.32. HPLC (Meth. 1): $t_R = 9.5$ min, AUC = 92.7 %.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung von 4-(Dibrommethyl)-6-methoxy-2-(trifluormethyl)chinolin (11) (AAV7).

1.21 g (5.00 mmol) Verbindung **3**, 2.67 g (15.00 mmol) NBS und 0.01 g Dibenzoylperoxid (0.05 mmol) wurden in 30 mL Tetrachlorkohlenstoff, p.a. suspendiert und 8 Stunden unter Rückfluss erhitzt, wobei sich eine gelbe Lösung bildete. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der resultierende Niederschlag abfiltriert und 2 x mit Tetrachlorkohlenstoff gewaschen. Das Filtrat wurde 2 x mit 50 mL einer gesättigten NaHCO₃-Lösung und 1 x mit 50 mL einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Anschließend wurde die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Elutionsmittel: *n*-Hexan/Ethylacetat (9:1, V/V)). Das erhaltene Rohprodukt wurde aus Ethylacetat umkristallisiert.

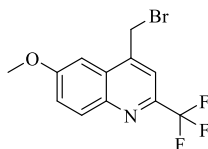
4-(Dibrommethyl)-6-methoxy-2-(trifluormethyl)chinolin (11)



Hergestellt aus **3** (1.21 g, 5.00 mmol) nach AAV7.

Hellgelber Feststoff, Ausbeute: 69 %, Smp: 105 °C, ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 8.23 (d, *J* = 2.6 Hz, 2H, *H*_{arom}), 8.20 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.86 (s, 1H, ArCHBr₂), 7.68 (dd, *J* = 9.3, 2.6 Hz, 1H, *H*_{arom}), 4.02 (s, 3H, OCH₃). HPLC (Meth. 1): *t*_R = 17.7 min, AUC = 96.5 %, (ESI)MS-(+) *m/z* kalkuliert für C₁₂H₈Br₂F₃NO [M]: 396.9, gefunden [M⁺⁸¹Br^{+H}]⁺: 400.2.

4-(Brommethyl)-6-methoxy-2-(trifluormethyl)chinolin (12)



Hergestellt aus **3** (1.21 g, 5.00 mmol) nach AAV7.

Gelber Feststoff, Ausbeute: 15 %, Smp: 100 °C, ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 8.16 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, *H*_{arom}), 8.12 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.63 (d,

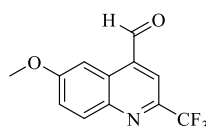
$J = 1.5$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.60 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H, H_{arom}), 5.32 (s, 2H, ArCH_2Br), 4.01 (s, 3H, OCH_3). HPLC (Meth. 1): $t_R = 15.97$ min, AUC = 90.3 %.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung von 6-Methoxy-2-(trifluormethyl)chinolin-4-carbaldehyd (9) (AAV8).

1.50 g (3.76 mmol) der Verbindung **11** wurde unter Schutzgasatmosphäre in 20 mL Methanol, abs. gelöst. Es wurden 15.04 mL (7.52 mmol) Natriummethanolat (0.5 M in Methanol) hinzugegeben und 6 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen der Lösung wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wurde 2 x mit 50 mL einer gesättigten NaHCO_3 -Lösung und 1 x mit 50 mL einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels Flashchromatographie (Gradientenelution: *n*-Hexan/Ethylacetat 10 $\rightarrow$ 7 / 0 $\rightarrow$ 3 (V/V)) gereinigt, um das Zwischenprodukt **XXI** zu erhalten.

XXI wurde direkt in 30 mL einer Mischung aus Wasser/Methanol (1:1, V/V), die 10 % konzentrierte HCl enthielt, aufgenommen und für 1 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde der Reaktionsansatz auf Raumtemperatur abgekühlt, mit einer gesättigten NaHCO_3 -Lösung auf einen pH-Wert von 8 eingestellt und 3 x mit 100 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Gradientenelution: *n*-Hexan/Ethylacetat, 10 $\rightarrow$ 0 / 0 $\rightarrow$ 10, V/V).

6-Methoxy-2-(trifluormethyl)chinolin-4-carbaldehyd (9)



Hergestellt aus **11** (1.50 g, 3.76 mmol) nach **AAV8**.

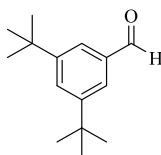
Hellgelber Feststoff, Ausbeute: 64 %, Smp: 149 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 10.61 (s, 1H, CHO), 8.47 (s, 1H, H_{arom}), 8.45 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.23 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.69 (dd, $J = 9.3, 2.8$ Hz, 1H, H_{arom}), 4.01 (s, 3H, OCH_3).

^{13}C -NMR (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 194.27, 161.85, 144.63, 144.42 (q, $^2J = 34.8$ Hz), 137.41, 132.10, 126.84, 124.86, 122.12, 121.98 (q, $^1J = 274.9$ Hz), 102.70, 56.43. HPLC (Meth. 1): $t_R = 14.4$ min, AUC = 95.5 % (Tailing), (ESI)MS-(+) m/z kalkuliert für $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{F}_3\text{NO}_2$ [M]: 255.2, gefunden $[\text{M}+\text{H}]^+$: 256.3, $[\text{M}+\text{H}_3\text{O}]^+$: 274.3.^{kk}

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung von 3,5-Di-*tert*-butylbenzaldehyd (10) in Anlehnung an die Literatur (AAV9).¹¹⁴

6.12 g (30.00 mmol) 3,5-Di-*tert*-butyltoluen, 10.68 g (60.00 mmol) NBS und 0.07 g (0.30 mmol) Dibenzoylperoxid wurden in 50 mL Tetrachlorkohlenstoff, p.a. suspendiert und 6 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurden der resultierende Niederschlag abfiltriert und 2 x mit Tetrachlorkohlenstoff gewaschen. Das Filtrat wurde 2 x mit 100 mL Wasser und 1 x mit 100 mL einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel anschließend unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in 100 mL einer Mischung aus Ethanol/Wasser (1:1, V/V) aufgenommen. Anschließend wurden 16.80 g (120.00 mmol) Urotropin hinzugegeben und 6 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der Reaktionsansatz mit konzentrierter HCl auf einen pH-Wert von 2 angesäuert und erneut 30 Minuten unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die wässrige Phase 5 x mit 200 mL einer Mischung aus Diethylether/Toluen (1:1, V/V) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das organische Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der verbleibende Rückstand wurde aus Ethylacetat/*n*-Hexan umkristallisiert.

^{kk} Die Masse von $[\text{M}+\text{H}]^+$ 274.3 bezieht sich auf das Hydrat, welches sich in wässriger Lösung bildet: $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{F}_3\text{NO}_3$ [M]: 273.1

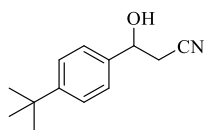
3,5-Di-*tert*-butylbenzaldehyd (10)

Hergestellt aus **3,5-Di-*tert*-butyltoluen** (6.12 g, 30.00 mmol) nach **AAV 9**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 85 %, Smp: 86 °C [Lit.: 86–87 °C]¹⁶³, ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 10.01 (s, 1H, CHO), 7.75 (s, 3H, *H*_{arom}), 1.33 (s, 18 H, C(CH₃)₃). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 193.60, 151.41, 136.02, 128.51, 123.60, 34.62, 30.99. HPLC (Meth. 1): *t*_R = 18.92 min, AUC = 97.7 %.

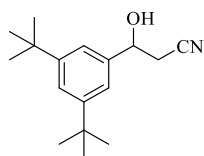
Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung der Nitrile **16–23** in Anlehnung an die Literatur (**AAV10**).^{83–85}

In einem Zweihalskolben wurden 8.25 mL (13.20 mmol) *n*-Butyllithium (1.6-molare Lösung in *n*-Hexan) bei -78 °C unter Schutzgasatmosphäre mit 10 mL Tetrahydrofuran, abs. verdünnt. 0.63 mL (12.00 mmol) Acetonitril, abs. wurden in 5 mL Tetrahydrofuran, abs. gelöst und über einen Zeitraum von 5 Minuten hinzuge tropft. Der Reaktionsansatz wurde eine Stunde bei -78 °C gerührt, wobei sich eine weiße Suspension bildete. Anschließend wurden 12.00 mmol des entsprechenden Aldehyds in 10 mL Tetrahydrofuran, abs. gelöst und langsam zur Suspension getropft. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur wurde 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Lösung auf eine Eis-Wasser-Mischung, die 10 % konzentrierte HCl enthielt, gegossen. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase 3 x mit 50 mL Diethylether extrahiert. Die wässrige Phase der Nitrile **18–21** wurde vor der Extraktion mit gesättigter NaHCO₃-Lösung auf einen pH-Wert von 8 eingestellt. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mittels Flashchromatographie (Gradientenelution: *n*-Hexan/Ethylacetat, 10 → 0 / 0 → 10, V/V) gereinigt.

3-(4-(*tert*-Butyl)phenyl)-3-hydroxypropannitril (16)

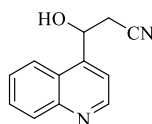
Hergestellt aus **4-*tert*-Butylbenzaldehyd** (1.94 g, 12.00 mmol) nach **AAV 10**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 98 %, Smp: 75 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 7.42–7.30 (m, 4H, H_{arom}), 5.86 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H, OH), 4.85 (dt, $J = 6.7$, 4.8 Hz, 1H, OCHCH_2CN), 2.95–2.72 (m, 2H, OCHCH_2CN), 1.28 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO) δ [ppm] = 149.91, 140.09, 125.49, 124.85, 118.76, 67.91, 34.19, 31.12, 27.39. HPLC (Meth. 1): $t_R = 12.4$ min, AUC = 95.2 %.

3-(3,5-Di-*tert*-butylphenyl)-3-hydroxypropannitril (17)

Hergestellt aus **10** (1.96 g, 9.00 mmol) nach **AAV10**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 73 %, Smp: 136 °C, $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 7.31 (t, $J = 1.7$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.26 (d, $J = 1.5$ Hz, 2H, H_{arom}), 5.86 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H, OH), 4.90–4.84 (m, 1H, OCHCH_2CN), 2.88 (dd, $J = 16.7$, 4.8 Hz, 1H, OCHCH_2CN), 2.79 (dd, $J = 16.7$, 6.9 Hz, 1H, OCHCH_2CN), 1.29 (s, 18H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$). $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 150.48, 142.79, 121.52, 120.40, 119.35, 69.21, 35.02, 31.76, 28.13. EA: berechnet für $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{NO}$ [%] C 78.72, H 9.71 N 5.40; gefunden [%] C 78.65; H 9.78; N 5.15.

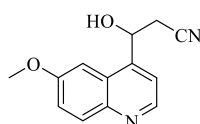
3-Hydroxy-3-(chinolin-4-yl)propannitril (18)

Hergestellt aus **6** (3.45 g, 22.00 mmol) nach **AAV10**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 70 %, Smp: 144 °C; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 8.95 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.22 (dd, $J = 8.2$, 1.1 Hz, 1H, H_{arom}), 8.07 (dd,

$J = 8.5, 1.3$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.83–7.75 (m, 1H, H_{arom}), 7.70 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.68–7.62 (m, 1H, H_{arom}), 6.34 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H, OH), 5.74 (q, $J = 5.1$ Hz, 1H, OCHCH₂CN), 3.12 (dd, $J = 16.9, 4.6$ Hz, 1H, OCHCH₂CN), 2.96 (dd, $J = 16.9, 6.4$ Hz, 1H, OCHCH₂CN). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 150.32, 147.81, 147.67, 129.75, 129.21, 126.75, 124.67, 123.48, 118.18, 118.13, 63.90, 26.74. HPLC (Meth. 1): $t_R = 3.4$ min, AUC = 99.1 %.

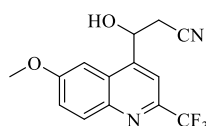
3-Hydroxy-3-(6-methoxychinolin-4-yl)propannitril (19)



Hergestellt aus **7** (0.19 g, 1.00 mmol) nach **AAV10**.

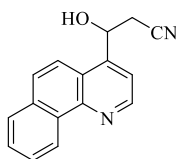
Weißer Feststoff, Ausbeute: 78 %, Smp: 155 °C, ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 8.78 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.99–7.96 (m, 1H, H_{arom}), 7.65 (dd, $J = 4.3, 0.7$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.44–7.41 (m, 2H, H_{arom}), 6.30 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H, OH), 5.72 (dt, $J = 6.3, 4.5$ Hz, 1H, OCHCH₂CN), 3.95 (s, 3H, OCH₃), 3.13 (dd, $J = 17.0, 4.6$ Hz, 1H, OCHCH₂CN), 2.99 (dd, $J = 17.0, 6.4$ Hz, 1H, OCHCH₂CN). ¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 157.84, 148.09, 146.93, 144.25, 131.73, 126.25, 122.02, 118.83, 118.81, 102.28, 64.39, 56.19, 26.86. HPLC (Meth. 1): $t_R = 4.47$ min, AUC ≥ 99 %.

3-Hydroxy-3-(6-methoxy-2-(trifluormethyl)quinolin-4-yl)propannitril (20)



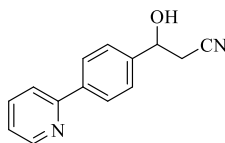
Hergestellt aus **9** (0.51 g, 2.00 mmol) nach **AAV10**.

Beiger Feststoff, Ausbeute: 68 %, Smp: 160 °C, ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 8.13 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.02 (d, $J = 0.6$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.65–7.47 (m, 2H, H_{arom}), 6.52 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H, OH), 5.86 (q, $J = 4.9$ Hz, 1H, OCHCH₂CN), 4.01 (s, 3H, OCH₃), 3.24–2.98 (m, 2H, OCHCH₂CN). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 159.67, 150.44, 144.12 (q, ² $J = 34.1$ Hz), 143.13, 132.19, 127.48, 124.32, 122.32 (q, ¹ $J = 274.7$ Hz), 118.61, 114.30, 102.31, 64.27, 56.54, 26.84. HPLC (Meth. 1): $t_R = 11.7$ min, AUC = 96.5 %.

3-(Benzo[h]chinolin-4-yl)-3-hydroxypropannitril (21)

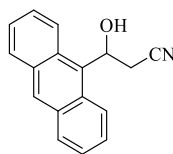
Hergestellt aus **8** (0.30 g, 1.45 mmol) nach **AAV10**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 65 %, Smp: 119 °C, ^1H -NMR (600 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm] = 9.30–9.24 (m, 1H, H_{arom}), 8.94 (d, J = 4.7 Hz, 1H, H_{arom}), 7.90 (dd, J = 7.5, 1.7 Hz, 1H, H_{arom}), 7.81 (d, J = 9.1 Hz, 1H, H_{arom}), 7.77–7.71 (m, 2H, H_{arom}), 7.70–7.65 (m, 2H, H_{arom}), 5.76 (dd, J = 7.8, 4.2 Hz, 1H, OCHCH₂), 2.96 (dd, J = 16.9, 4.2 Hz, 1H, OCHCH₂), 2.83 (dd, J = 17.0, 7.8 Hz, 1H, OCHCH₂). ^{13}C -NMR (151 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm] = 148.87, 146.51, 145.72, 133.01, 131.64, 128.80, 128.70, 127.85, 127.71, 124.77, 122.38, 118.91, 118.09, 116.82, 66.07, 27.13. HPLC (Meth. 1): t_{R} = 6.9 min, AUC = 98.1 %.

3-Hydroxy-3-(4-(pyridin-2-yl)-phenyl)propannitril (22)

Hergestellt aus **4-(Pyridin-2-yl)benzaldehyd** (1.10 g, 6.00 mmol) nach **AAV10**.

Hellgelber Feststoff, Ausbeute: 90 %, Smp: 126 °C, ^1H -NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 8.68 (d, J = 5.6 Hz, 1H, H_{arom}), 8.09 (d, J = 8.3 Hz, 2H, H_{arom}), 7.97 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H_{arom}), 7.88 (td, J = 7.7, 1.8 Hz, 1H, H_{arom}), 7.55 (d, J = 8.3 Hz, 2H, H_{arom}), 7.38–7.32 (m, 1H, H_{arom}), 6.05 (d, J = 4.5 Hz, 1H, OH), 4.99 (q, J = 4.9 Hz, 1H, OCHCH₂CN), 2.96 (dd, J = 16.8, 5.0 Hz, 1H, OCHCH₂CN), 2.89 (dd, J = 16.8, 6.6 Hz, 1H, OCHCH₂CN). ^{13}C -NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 156.23, 150.02, 144.39, 138.47, 137.70, 126.82, 126.68, 123.06, 120.67, 119.15, 68.31, 27.92. EA: berechnet für C₁₄H₁₂N₂O [%]: C 74.98, H 5.39, N 12.49; gefunden [%]: C 75.11, H 5.69, N 12.35.

3-(Anthracen-9-yl)-3-hydroxypropannitril (23)

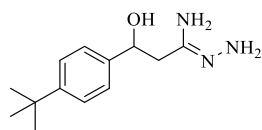
Hergestellt aus **Antracen-9-carbaldehyd** (4.12 g, 20.00 mmol) nach **AAV 10**.

Hellgelber Feststoff, Ausbeute: 78 %, Smp: 144 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 8.73 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H_{arom}), 8.61 (s, 1H, H_{arom}), 8.15–8.06 (m, 2H, H_{arom}), 7.64–7.46 (m, 4H, H_{arom}), 6.53–6.43 (m, 2H, OH, OCHCH $_2$), 3.45–3.37 (m, 1H, OCHCH $_2$), 3.24–3.14 (m, 1H, OCHCH $_2$). $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 133.57, 131.61, 129.59, 129.21, 128.63, 126.29, 125.46, 119.33, 65.63, 26.42.^{II} HPLC (Meth. 1): t_R = 13.0 min, AUC $\geq$ 99%.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung der Amidrazone 24 und 25 (AAV11).

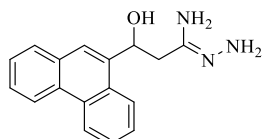
Unter N_2 -Schutzgasatmosphäre wurde bei 0 °C 5 mL Toluol, abs. in einen Dreihalskolben vorgelegt. 2.00 mL (2.00 mmol) Hydrazin (1 M in Tetrahydrofuran) und 1.00 mL (2.00 mmol) Trimethylaluminium (2 M in Toluol) wurden hinzugegeben und der Reaktionsansatz wurde 5 Minuten bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde 1.00 mmol des entsprechenden Nitrils (**13**, **16**) in 5 mL Tetrahydrofuran, abs. gelöst und zur Hydrazin-TMA-Lösung gegeben. Anschließend wurde 5 Stunden bei 50 °C gerührt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur gebracht und auf 10 mL einer Eis-Wasser-Mischung (1:1, m/m) gegossen, wobei sich ein kolloidaler Niederschlag bildete. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase 4 x mit 50 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Das organische Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan/Ethylacetat ausgefällt. Der resultierende Niederschlag wurde abfiltriert, 2 x mit *n*-Hexan gewaschen und im Hochvakuum getrocknet.

^{II} Das Signal eines Kohlenstoffatoms konnte nicht detektiert werden.

(Z)-3-(4-(tert-Butyl)phenyl)-3-hydroxypropanhydrazonamid (24)

Hergestellt aus **16** (0.20 mg, 1.00 mmol) nach **AAV11**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 65 % , Smp: 143 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 7.40–7.25 (m, 4H, H_{arom}), 6.13 (s, 2H, NH_2), 4.91 (t, $J = 6.5$ Hz, 1H, OCHCH_2), 2.41 (d, $J = 6.6$ Hz, 2H, OCHCH_2), 1.28 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 154.81, 149.06, 142.32, 125.50, 124.66, 70.06, 42.36, 34.13, 31.18. HPLC (Meth. 1): $t_R = 11.57$ min, AUC = 96.2 %.

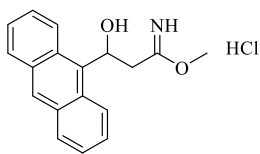
(Z)-3-Hydroxy-3-(phenanthren-9-yl)propanhydrazonamid (25)

Hergestellt aus **1** (0.25 g, 1.00 mmol) nach **AAV11**.

HPLC (Meth. 1): $t_R = 8.55$ min, LC-(ESI)HRMS-(+) m/z kalkuliert für $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 280.1444, gefunden $[\text{M}+\text{H}]^+$ 280.1442.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung des Imidomethylester-Hydrochlorids **46** in Anlehnung an die Literatur (AAV12).^{84,85}

Zu einer Lösung von 3.95 g (16.00 mmol) 3-(Anthracen-9-yl)-3-hydroxypropannitril (**23**) in einem Gemisch von 20 mL Dichlormethan, abs. und 5 mL Tetrahydrofuran, abs. wurden bei -10 °C 0.97 mL (24.00 mmol) Methanol, abs. gegeben. Anschließend wurde 10 Minuten unter Eiskühlung gerührt. 36 mL HCl in Diethylether wurden langsam zum Reaktionsansatz getropft. Nach zehnminütigem Rühren wurde Stickstoff in den Kolben eingeleitet und der Reaktionsansatz bei -20 °C gelagert, bis das Imidat-Hydrochlorid **46** auskristallisierte.

Methyl-3-(anthracen-9-yl)-3-hydroxypropanimidat Hydrochlorid (46)

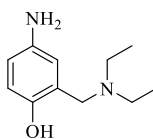
Hergestellt aus **23** (3.95 g, 16.00 mmol) nach **AAV12**.

Hellgelber Feststoff, Ausbeute: 75 %, Smp: 230 °C, IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [KBr] = 1648 (C=N).

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung von **66** in Anlehnung an die Literatur (**AAV13**).¹³⁷

0.91 g Acetaminophen (6.00 mmol), 0.18 g Paraformaldehyd (6.00 mmol) und 0.62 mL Diethylamin (6.00 mmol) wurden in 30 mL Ethanol, p.a. suspendiert und 6 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das organische Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Reaktionsgemisch flashchromatographisch mit Dichlormethan/Methanol (9:1, V/V) gereinigt. **XXXVI** wurde in 66 % Rohausbeute erhalten.

0.71 g (3.00 mmol) **XXXVI** wurden direkt in 30 mL 20 % wässriger HCl-Lösung gelöst und 3 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf 0 °C wurde der Reaktionsansatz mit einer gesättigten NaHCO₃-Lösung auf einen pH-Wert von 8 eingestellt. Die wässrige Phase wurde 3 x mit 100 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das organische Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das resultierende braune Öl im Hochvakuum getrocknet.

4-Amino-2-((diethylamino)methyl)phenol (66)

Hergestellt aus **XXXVI** (0.71 g, 3.00 mmol) nach **AAV13**.

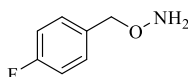
Braunes Öl, Ausbeute: 83 %, ^1H -NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 10.08 (*br-s*, 1H, OH), 6.44–6.26 (m, 3H, H_{arom}), 4.36 (s, 2H, ArCH_2N), 3.33 (s, 4H, NCH_2CH_3), 1.01 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H, NCH_2CH_3).^{mm} ^{13}C -NMR (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 148.25, 140.45, 122.79, 115.49, 114.85, 113.89, 55.60, 45.70, 11.11.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung von **67** in Anlehnung an die Literatur (AAV 14).^{142,143,164}

Die Hydroxylamine **XXIX** und **67**, sowie ihre phthaloylgeschützten Vorstufen **XXXVII** und **XXXVIII** wurden nach literaturbekannten Synthesen aus den entsprechenden Benzylchloriden (Benzylchlorid, 4-Fluorbenzylchlorid) hergestellt. *O*-(4-Fluorbenzyl)hydroxylamin (**67**) wurde mittels ^1H -NMR charakterisiert und mit der Literatur verglichen.

0.12 mL (1.00 mmol) 4-Fluorbenzylchlorid und 0.18 g (1.10 mmol) *N*-Hydroxyphthalimid wurden in 5 mL ACN, p.a. gelöst. Anschließend wurden 0.15 mL Triethylamin (1.10 mmol) hinzugegeben. Nach 5 stündigem rühren unter Rückfluss wurde das Reaktionsgemisch auf 10 mL Eiswasser gegossen und 3 x mit 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde mit einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Die organische Phase wurde einrotiert und lieferte **XXXVIII**, welches direkt weiter umgesetzt wurde. 0.27 g (1.00 mmol) **XXXVIII** wurden in 5 mL Methanol, p.a. suspendiert. 0.15 mL (3.00 mmol) Hydrazinmonohydrat wurden zur Suspension getropft, wobei sich der Niederschlag auflöste. Nach einer Stunde rühren bei Raumtemperatur wurde das organische Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Reaktionsgemisch in 3 % NaHCO_3 -Lösung aufgenommen. Die wässrige Phase wurde 3 x mit 50 mL Diethylether extrahiert. Die organische Phase wurde mit einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das organische Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das resultierende farblose Öl im Hochvakuum getrocknet.

^{mm} Das Signal von zwei NH Protonen konnte nicht detektiert werden.

O-(4-Fuorbenzyl)hydroxylamin (67)

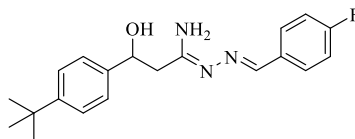
Hergestellt aus **XXXVIII** (0.27 g, 1.00 mmol) nach **AAV 14**.

Farbloses Öl, Ausbeute: 80 %, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 7.42–7.30 (m, 2H, H_{arom}), 7.21–7.11 (m, 2H, H_{arom}), 6.05 (s, 2H, NH_2), 4.54 (s, 2H, ArCH_2O).

9.2.2 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung der Hydrazoneamide 26–36 (AAV 15)

Unter N_2 -Schutzgasatmosphäre wurden bei 0 °C 5 mL Toluol, abs. vorgelegt. 2.00 mL (2.00 mmol) Hydrazin (1 M in Tetrahydrofuran) und 1.00 mL (2.00 mmol) Trimethylaluminium (2 M in Toluol) wurden hinzugegeben und der Reaktionsansatz wurde 5 Minuten bei 0 °C gerührt. 1.00 mmol des entsprechenden Nitrils (**16–22**) wurde in 5 mL Tetrahydrofuran, abs. gelöst und zur Hydrazin-TMA-Lösung getropft. Der Reaktionsansatz wurde 5 Stunden bei 50 °C gerührt. Zur Herstellung der Derivate **35** und **36** wurde 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der Reaktionsansatz auf 10 mL einer Eis-Wasser-Mischung (1:1, (m/m)) gegossen, wobei sich eine kolloidale Suspension ergab. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase 4 x mit 50 mL Ethylacetat extrahiert. Für die Verbindungen **33–36** wurde vor der Extraktion die wässrige Phase mittels einer gesättigten NaHCO_3 -Lösung auf einen pH-Wert von 8 eingestellt. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in 10 mL Tetrahydrofuran, p.a. gelöst und mit 1.00 mmol des entsprechenden Aldehyds versetzt. Um Verbindung **28** zu erhalten, wurde Cycloheptanon anstelle eines Aldehyds verwendet und zusätzlich 1.50 mmol ZnCl_2 zur Lösung gegeben. Der Reaktionsansatz wurde 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das resultierende Rohprodukt wurde wie einzeln aufgeführt gereinigt.

(Z)-3-(4-(tert-Butyl)phenyl)-N'-((E)-4-fluorbenzyliden)-3-hydroxypropanhydrazonamid (26)

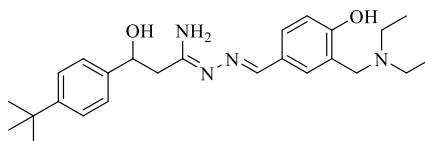


Hergestellt aus **16** (0.20 g, 1.00 mmol) nach **AAV 15**.

Das Rohprodukt wurde aus Ethylacetat umkristallisiert.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 41 %, Smp: 143 °C, $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 8.27 (s, 1H, NCH), 7.92–7.85 (m, 2H, H_{arom}), 7.34 (q, $J = 8.5$ Hz, 4H, H_{arom}), 7.27–7.20 (m, 2H, H_{arom}), 6.77 (br-s, 2H, NH_2), 5.61 (s, 1H, OH), 4.97 (dd, $J = 8.1$, 5.1 Hz, 1H, OCHCH₂), 1.28 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$). $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, Chloroform- d) δ [ppm] = 8.30 (s, 1H, NCH), 7.71–7.62 (m, 2H, H_{arom}), 7.35–7.26 (m, 4H, H_{arom}), 7.06–6.97 (m, 2H, H_{arom}), 5.05 (dd, $J = 9.6$, 2.6 Hz, 1H, OCHCH₂), 2.67 (dd, $J = 15.5$, 9.7 Hz, 1H, OCHCH₂), 2.51 (dd, $J = 15.5$, 2.7 Hz, 1H, OCHCH₂), 1.25 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 162.80 (d, $^1J_{\text{CF}} = 246.9$ Hz), 161.64, 150.27, 149.12, 142.19, 132.28 (d, $^4J_{\text{CF}} = 3.1$ Hz), 129.47 (d, $^3J_{\text{CF}} = 8.3$ Hz), 125.51, 124.70, 115.44 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21.6$ Hz), 70.15, 42.34, 34.13, 31.17. EA: berechnet für $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{FN}_3\text{O}$ [%] C 70.36, H 7.09, N 12.31, gefunden [%] C 70.15, H 7.17, N 12.34.

(Z)-3-(4-(tert-Butyl)phenyl)-N'-((E)-3-((diethylamino)methyl)-4-hydroxybenzyliden)-3-hydroxypropanhydrazonamid (27)



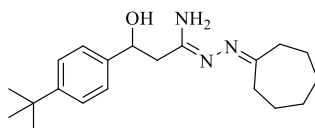
Hergestellt aus **16** (0.20 g, 1.00 mmol) nach **AAV15**.

Das Rohprodukt wurde flashschromatographisch mit *n*-Hexan/Ethylacetat (Gradientenelution: 10 → 0 / 0 → 10, V/V) gereinigt und anschließend aus Ethylacetat umkristallisiert.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 23 %, Smp: 134 °C; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 8.13 (s, 1H, NCH), 7.56–7.49 (m, 2H, H_{arom}), 7.39–7.24 (m, 4H, H_{arom}), 6.70 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, H_{arom}), 6.58 (s, 2H, NH_2), 4.94 (dd, $J = 7.4$, 5.6 Hz, 1H, OCHCH₂),

3.78 (s, 2H, ArCH₂N), 2.57 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H, NCH₂CH₃), 2.46 (s, 1H, OCHCH₂), 1.27 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.04 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H, NCH₂CH₃).ⁿⁿ ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 160.51, 159.47, 151.65, 149.07, 142.20, 127.98, 127.81, 126.41, 125.51, 124.67, 122.72, 115.48, 70.16, 55.33, 45.69, 42.23, 34.12, 31.17, 10.96. EA: berechnet für C₂₅H₃₆N₄O₂ [%] C 70.72, H 8.55, N 13.20; gefunden [%] C 70.49, H 8.56, N 13.22.

(Z)-3-(4-(*tert*-Butyl)phenyl)-*N'*-cycloheptyliden-3-hydroxypropanhydrazonamid (28)

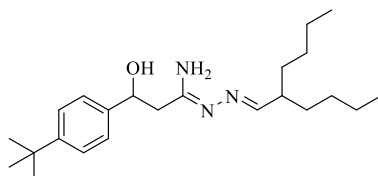


Hergestellt aus **16** (0.41 g, 2.00 mmol) nach **AAV15**.

Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch mit Dichlormethan/Methanol (9.8:2.0, V/V) gereinigt.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 35 %, Smp: 194 °C, ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 7.41–7.24 (m, 4H, *H*_{arom}), 6.35 (*br-s*, 2H, NH₂), 5.80 (*br-s*, 1H, OH), 4.89 (t, $J = 6.5$ Hz, 1H, OCHCH₂), 2.78 – 2.68 (m, 1H, OCHCH₂), 2.49 – 2.40 (m, 6H, *H*_{aliph}), 1.67 (d, $J = 40.8$ Hz, 1H, OCHCH₂), 1.62–1.47 (m, 6H, *H*_{aliph}), 1.28 (s, 9H, C(CH₃)₃). ¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 167.68, 158.33, 149.90, 142.19, 125.98, 125.23, 70.54, 42.08, 37.15, 34.66, 31.67, 31.34, 30.40, 30.18, 27.46, 24.92. HPLC (Meth. 1): t_R = 11.7 min, AUC = 98.2 %. (ESI)HRMS-(+) m/z kalkuliert für [C₂₀H₃₂N₃O]⁺: 330.2540; gefunden [M+H]⁺: 330.2546.

(Z)-3-(4-(*tert*-Butyl)phenyl)-*N'*-(*E*)-2-butylhexyliden-3-hydroxypropanhydrazonamid (29)



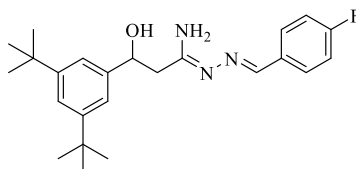
Hergestellt aus **16** (0.31 g, 1.53 mmol) nach **AAV15**.

ⁿⁿ Das Signal eines Methylenprotons konnte nicht detektiert werden. Das Signal alkoholischen Funktion konnte nicht detektiert werden.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit *n*-Hexan/Ethylacetat (1:1, V/V) gereinigt.

Hellrosa Öl, Ausbeute: 30 %, $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, Methanol- d_4) δ [ppm] = 7.29–7.21 (m, 4H, H_{arom}), 4.89 (dd, $J = 8.8$, 4.5 Hz, 1H, OCHCH $_2$), 2.56–2.42 (m, 2H, OCHCH $_2$), 1.42–1.30 (m, 3H, H_{aliph}), 1.28 – 1.13 (m, 10H, H_{aliph}), 0.84 – 0.76 (m, 6H, H_{aliph}).^{oo} $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 160.34, 160.13, 149.57, 142.72, 125.94, 125.09, 70.58, 42.36, 34.60, 32.63, 31.66, 29.67, 29.42, 22.72, 14.40. HPLC (Meth. 1): $t_R = 15.0$ min, AUC = 97.7 %. ESI(MS)-(+) m/z kalkuliert für $\text{C}_{23}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}$ [M]: 373.6, gefunden $[\text{M}+2\text{H}]^+$: 375.6.

(Z)-3-(3,5-Di-*tert*-butylphenyl)-N'-((E)-4-fluorbenzyliden)-3-hydroxypropanhydrazonamid (30)



Hergestellt aus **17** (0.53 g, 2.40 mmol) nach **AAV 15**.

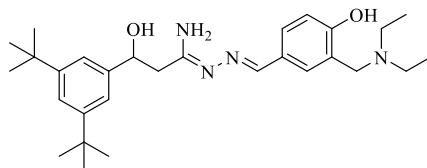
Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch mit *n*-Hexan/Ethylacetat (Gradientenelution: 10 $\rightarrow$ 0 / 0 $\rightarrow$ 10, V/V) gereinigt und aus *n*-Hexan/Ethylacetat ausgefällt. Der resultierende Niederschlag wurde abfiltriert, 2 x mit *n*-Hexan gewaschen und im Hochvakuum getrocknet. Das Produkt konnte ohne weitere Aufreinigung in hoher Reinheit erhalten werden.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 33 %, Smp: 137 °C; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 8.27 (s, 1H, NCH), 7.96–7.80 (m, 2H, H_{arom}), 7.35–7.10 (m, 5H, H_{arom}), 6.76 (s, 2H, NH $_2$), 5.57 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, OH), 4.97 (dt, $J = 8.0$, 4.6 Hz, 1H, OCHCH $_2$), 2.46 (s, 1H, OCHCH $_2$), 1.29 (s, 18H, C(CH $_3$) $_3$).^{pp} $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 162.79 (d, $^1J_{\text{CF}} = 246.6$ Hz), 161.75, 150.16, 149.70, 144.38, 132.33 (d, $^4J_{\text{CF}} = 2.9$ Hz), 129.43 (d, $^3J_{\text{CF}} = 8.5$ Hz), 120.32, 119.81, 115.44 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21.7$ Hz), 70.96, 42.74, 34.48, 31.32. EA: berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{FN}_3\text{O}$ [%] C 72.51; H 8.11; N 10.57; gefunden [%] C 72.27, H 8.41, N 10.38.

^{oo} Das Signal des Protons der Iminofunktion konnte nicht detektiert werden. Die Signale der Heteroprotonen konnten nicht detektiert werden.

^{pp} Das Signal eines Methylenprotons konnte nicht detektiert werden.

(Z)-3-(3,5-Di-*tert*-butylphenyl)-N'-((E)-3-((diethylamino)methyl)-4-hydroxybenzyliden)-3-hydroxypropanhydrazonamid (31)

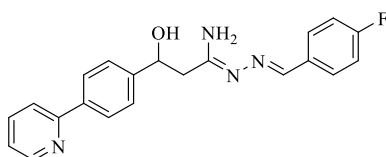


Hergestellt aus **17** (0.39 mg, 1.51 mmol) nach **AAV 15**.

Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch mit Dichlormethan/Methanol (Gradientenelution: 10 → 7 / 0 → 3, V/V) gereinigt.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 33 %, Smp: 127 °C, ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 8.14 (s, 1H, NCH), 7.57–7.50 (m, 2H, *H*_{arom}), 7.27 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.24 (d, *J* = 1.8 Hz, 2H, *H*_{arom}), 6.71 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, *H*_{arom}), 6.59 (s, 2H, NH₂), 4.95 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H, OCHCH₂), 3.78 (s, 2H, ArCH₂N), 2.58 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H, NCH₂CH₃), 2.48–2.43 (m, 2H, OCHCH₂), 1.29 (s, 18H, C(CH₃)₃), 1.05 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H, NCH₂CH₃).^{qq} ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 160.65, 159.44, 151.56, 149.70, 144.38, 127.92, 127.81, 126.44, 122.73, 120.31, 119.82, 115.48, 70.95, 55.30, 45.69, 42.61, 34.48, 31.32, 10.96. EA: berechnet für C₂₉H₄₄N₄O [%] C 72.46, H 9.23, N 11.66; gefunden [%] C 72.19, H 9.49, N 11.38.

(Z)-N'-((E)-4-Fluorbenzyliden)-3-hydroxy-3-(4-(pyridin-2-yl)phenyl)propanhydrazonamid (32)



Hergestellt aus **22** (0.17 g, 0.76 mmol)

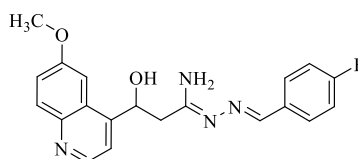
Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch mit Dichlormethan/ Methanol (Gradientenelution: 10 → 7 / 0 → 3, V/V) gereinigt.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 18 %, Smp: 182 °C, ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 8.70–8.62 (m, 1H, *H*_{arom}), 8.27 (s, 1H, NCH), 8.05 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, *H*_{arom}), 7.95 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.87 (qd, *J* = 5.4, 2.3 Hz, 3H, *H*_{arom}), 7.52 (d, *J* = 8.3 Hz,

^{qq} Das Signal der Hydroxylgruppe konnte nicht detektiert werden.

2H, H_{arom}), 7.39 – 7.30 (m, 1H, H_{arom}), 7.24 (t, $J = 8.9$ Hz, 2H, H_{arom}), 6.78 (*br-s*, 2H, NH_2), 5.74 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H, OH), 5.07 (q, $J = 5.6, 4.9$ Hz, 1H, OCHCH_2), 2.55 (d, $J = 6.6$ Hz, 2H, OCHCH_2). ^{13}C -NMR (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 163.32 (d, $^1J_{\text{CF}} = 246.9$ Hz), 161.93, 156.42, 150.86, 149.97, 146.60, 137.81, 137.64, 132.78 (d, $^4J_{\text{CF}} = 2.9$ Hz), 130.00 (d, $^3J_{\text{CF}} = 8.2$ Hz), 126.70, 126.64, 122.90, 120.54, 115.95 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21.5$ Hz), 70.66, 42.87. HPLC (Meth. 1): $t_{\text{R}} = 10.0$ min, AUC = 97.6 %.

(Z)-N'-((E)-4-Fluorbenzyliden)-3-hydroxy-3-(6-methoxychinolin-4-yl)propanhydrozanamid (33)

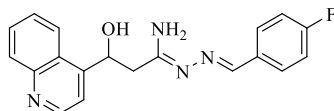


Hergestellt aus **19** (0.10 g, 0.44 mmol) nach **AAV 15**.

Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch mit Dichlormethan/ Methanol (Gradientenelution: 10 $\rightarrow$ 7 / 0 $\rightarrow$ 3, V/V) gereinigt.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 20 %, Smp: 110 °C, ^1H -NMR (300 MHz, $\text{Chloroform-}d$) δ [ppm] = 8.81 (s, 1H, NCH), 8.45 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.07 (dd, $J = 9.2, 3.1$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.84–7.74 (m, 2H, H_{arom}), 7.65 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.41 (dd, $J = 8.9, 3.1$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.27 (d, $J = 0.9$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.13 (td, $J = 8.6, 2.9$ Hz, 2H, H_{arom}), 5.92–5.79 (m, 1H, OCHCH_2), 3.97 (q, $J = 1.5$ Hz, 3H, OCH_3), 2.80 (d, $J = 6.6$ Hz, 2H, OCHCH_2). ^{13}C -NMR (151 MHz, $\text{Chloroform-}d$) δ [ppm] = 164.10 (d, $^1J_{\text{CF}} = 251.0$ Hz), 160.80, 157.79, 154.47, 148.02, 146.79, 144.32, 131.84, 131.07 (d, $^4J_{\text{CF}} = 3.0$ Hz), 129.71 (d, $^3J_{\text{CF}} = 8.8$ Hz), 126.20, 121.25, 118.13, 115.86 (d, $^2J_{\text{CF}} = 22.0$ Hz), 101.27, 67.24, 55.67, 40.08. HPLC (Meth. 1): $t_{\text{R}} = 6.9$ min, AUC ≥ 99 %.

(Z)-N'-((E)-4-Fluorbenzyliden)-3-hydroxy-3-(chinolin-4-yl)propanhydrazonamid (34)

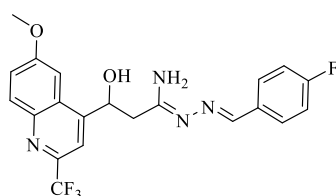


Hergestellt aus **18** (0.40 g, 2.00 mmol) nach **AAV 15**.

Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch mit Dichlormethan/ Methanol (Gradientenelution: 10 $\rightarrow$ 7 / 0 $\rightarrow$ 3, V/V) gereinigt.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 14 %, Smp: 135 °C, $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, Chloroform- d) δ [ppm] = 8.71 (d, J = 4.5 Hz, 1H, H_{arom}), 8.29 (s, 1H, NCH), 7.99 (dd, J = 8.5, 1.3 Hz, 1H, H_{arom}), 7.91 (dd, J = 8.3, 1.4 Hz, 1H, H_{arom}), 7.66–7.62 (m, 2H, H_{arom}), 7.60–7.56 (m, 1H, H_{arom}), 7.55 (d, J = 4.5 Hz, 1H, H_{arom}), 7.46–7.42 (m, 1H, H_{arom}), 7.04–6.98 (m, 2H, H_{arom}), 5.80 (dd, J = 9.3, 2.6 Hz, 1H, OCHCH $_2$), 2.70 (dd, J = 15.8, 2.6 Hz, 1H, OCHCH $_2$), 2.61 (dd, J = 15.8, 9.3 Hz, 1H, OCHCH $_2$). $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, Chloroform- d) δ [ppm] = 164.10 (d, $^1J_{\text{CF}}$ = 250.9 Hz), 160.79, 154.35, 150.35, 148.68, 147.90, 131.00 (d, $^4J_{\text{CF}}$ = 3.3 Hz), 130.15, 129.71 (d, $^3J_{\text{CF}}$ = 8.7 Hz), 129.20, 126.83, 125.18, 122.67, 117.87, 115.84 (d, $^2J_{\text{CF}}$ = 22.0 Hz), 66.95, 40.47. EA: berechnet für C $_{19}$ H $_{17}$ FN $_4$ O [%] C 67.84, H 5.09, N 16.66; gefunden C 67.70, H 4.80, N 16.48.

(Z)-N'-((E)-4-Fluorbenzyliden)-3-hydroxy-3-(6-methoxy-2-(trifluormethyl)chinolin-4-yl)propanhydrazonamid (35)

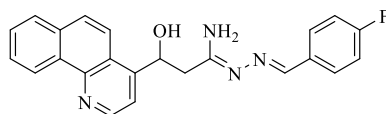


Hergestellt aus **20** (0.10 g, 0.34 mmol) nach **AAV 15**.

Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch mit *n*-Hexan/Ethylacetat (Gradientenelution: Gradientenelution: 10 $\rightarrow$ 0 / 0 $\rightarrow$ 10, V/V) gereinigt und aus Diethylether, p.a. umkristallisiert.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 15 %, Smp: 85 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 8.23 (s, 1H, NCH), 8.11 (d, J = 9.2 Hz, 1H, H_{arom}), 7.99 (s, 1H H_{arom}), 7.92–7.84 (m, 2H, H_{arom}), 7.67–7.55 (m, 2H, H_{arom}), 7.31–7.17 (m, 2H, H_{arom}), 6.86 (s, 2, NH $_2$), 6.24 (s, 1H, OH), 5.87 (s, 1H, OCHCH $_2$), 3.99 (s, 3H OCH $_3$), 2.85–2.55 (m, 2H, OCHCH $_2$). $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 163.36 (d, $^1J_{\text{CF}}$ = 246.6 Hz), 161.47, 159.34, 153.06, 150.91, 144.25 (q, $^2J_{\text{CF}}$ = 32.7 Hz), 143.08, 132.70 (d, $^4J_{\text{CF}}$ = 2.8 Hz), 132.13, 130.01 (d, $^3J_{\text{CF}}$ = 7.9 Hz), 127.81, 123.92, 122.41 (q, $^1J_{\text{CF}}$ = 274.8 Hz), 115.98 (d, $^2J_{\text{CF}}$ = 21.2 Hz), 113.86, 102.66, 67.36, 56.34, 41.79. HPLC (Meth. 1): t_R = 11.0 min, AUC $\geq$ 99 %.

(Z)-3-(Benzo[h]chinolin-4-yl)-N'-((E)-4-fluorbenzyliden)-3-hydroxypropanhydrazonamid (36)



Hergestellt aus **21** (0.20 g, 0.80 mmol) nach **AAV 15**.

Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch mit *n*-Hexan/Ethylacetat (Gradientenelution: 10 → 0 / 0 → 10, V/V) gereinigt und aus Diethylether, p.a. umkristallisiert.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 10 %, Smp: 93 °C, ¹H NMR (600 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm] = 9.32 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, *H*_{arom}), 8.99 (dd, *J* = 4.7, 1.6 Hz, 1H, *H*_{arom}), 8.42 (s, 1H, NCH), 7.93–7.67 (m, 8H, *H*_{arom}), 7.10 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H, *H*_{arom}), 5.95 (dt, *J* = 9.0, 2.2 Hz, 1H, OCHCH₂), 2.83–2.66 (m, 2H, OCHCH₂).^{rr} ¹³C-NMR (151 MHz, Chloroform-*d*) δ 164.10 (d, ¹*J*_{CF} = 250.9 Hz), 160.64, 154.52, 148.97, 148.17, 146.42, 133.00, 131.94, 131.09 (d, ⁴*J*_{CF} = 3.2 Hz), 129.72 (d, ³*J*_{CF} = 8.6 Hz), 128.27, 127.99, 127.71, 127.32, 124.83, 122.91, 119.97, 118.60, 115.85 (d, ²*J*_{CF} = 22.0 Hz), 67.03, 40.61. HPLC (Meth. 1): *t*_R = 8.3 min, AUC = 98.8 %.

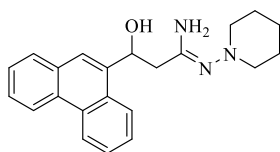
9.2.3 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung der Hydrazonamide 37–45 (AAV 16)

Unter N₂-Schutzgasatmosphäre wurden bei 0 °C 5 mL Toluol, abs. gegeben. 2.00 mmol des gewünschten Hydrazin-Derivates (1-Aminopiperidin, 4-Methyl-1-piperazinamin, 4-Aminomorpholin, *N,N*-Dimethylhydrazin, *N*-Methyl-*N*-phenyl-hydrazin) und 1.00 mL (2.00 mmol) Trimethylaluminium (2 M in Toluol) wurden hinzugegeben. Es wurde 5 Minuten bei 0 °C gerührt. 1.00 mmol des entsprechenden Nitrils (**13**, **15–17**) wurde in 5 mL Tetrahydrofuran, abs. gelöst und zur Hydrazin-TMA-Lösung getropft. Der Reaktionsansatz wurde 5 Stunden bei 50 °C gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der Reaktionsansatz auf 10 mL einer Eis-Wasser-Mischung (1:1, m/m) gegossen, wobei sich eine kolloidale Suspension ergab. Die organische Phase wurde abgenommen und die wässrige Phase 4 x mit 50 mL Ethylacetat extrahiert.

^{rr} Die Signale der Heteroprotonen konnten nicht detektiert werden.

Anschließend wurden die organischen Phasen vereinigt und mit einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Es wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel anschließend unter vermindertem Druck entfernt. Das resultierende Rohprodukt wurde wie einzeln aufgeführt gereinigt.

(Z)-3-Hydroxy-3-(phenanthren-9-yl)-N'-(piperidin-1-yl)propanimidamid (37)

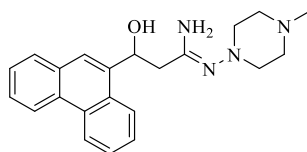


Hergestellt aus **13** (0.25 g, 1.00 mmol) und 1-Aminopiperidin nach **AAV 16**.

Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch mit Dichlormethan/ Methanol (Gradientenelution: 10 → 7 / 0 → 3, V/V) gereinigt.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 46 %, Smp: 211 °C, $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 8.89 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.81 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.26 (s, 1H, H_{arom}), 8.02–7.93 (m, 2H, H_{arom}), 7.78–7.62 (m, 4H, H_{arom}), 6.35 (s, 1H, OH), 6.08 (s, 2H, NH_2), 5.64 (dd, $J = 8.5, 3.5$ Hz, 1H, OCHCH_2), 2.65 (dd, $J = 14.8, 3.6$ Hz, 2H, OCHCH_2), 2.45 (dd, $J = 14.8, 8.6$ Hz, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.67–1.53 (m, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.37 (br-s, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$).^{ss} $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 163.48, 138.59, 131.40, 130.51, 130.03, 129.46, 129.07, 127.47, 127.40, 127.35, 127.07, 125.21, 124.44, 123.91, 123.26, 67.20, 55.28, 38.87, 25.17, 23.14. HPLC (Meth. 1): $t_R = 10.8$ min, AUC = 97.5 %.

(Z)-3-Hydroxy-N'-(4-methylpiperazin-1-yl)-3-(phenanthren-9-yl)propanimidamid (38)



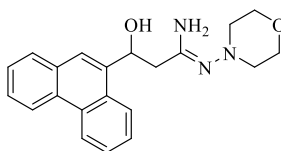
Hergestellt aus **13** (0.12 g, 0.50 mmol) und 4-Methyl-1-piperazinamin nach **AAV 16**.

^{ss} Das Signal von zwei Methylenprotonen konnte nicht detektiert werden.

Das Roprodukt wurde mittels Flashchromatographie Dichlormethan/ Methanol (8.5:1.5, V/V), welches 0.1 % Triethylamin enthält, gereinigt und anschließend aus Ethylacetat umkristallisiert.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 56 %, Smp: 120 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 8.89 (dt, $J = 7.0, 2.6$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.83–8.78 (m, 1H, H_{arom}), 8.31–8.20 (m, 1H, H_{arom}), 8.03–7.90 (m, 2H, H_{arom}), 7.75–7.59 (m, 4H, H_{arom}), 6.14 (*br-s*, 3H, NH_2 , OH), 5.64 (dd, $J = 8.5, 3.6$ Hz, 1H, OCHCH_2), 2.65 (dd, $J = 14.7, 3.7$ Hz, 1H, OCHCH_2), 2.47–2.26 (m, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 2.16 (s, 3H, NCH_3). $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{Methanol-}d_4$) δ [ppm] = 8.86–8.81 (m, 1H, H_{arom}), 8.75 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.33–8.30 (m, 1H, H_{arom}), 8.02 (s, 1H, H_{arom}), 7.93 (dd, $J = 7.9, 1.5$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.72–7.58 (m, 4H, H_{arom}), 5.79 (dd, $J = 8.3, 4.4$ Hz, 1H, OCHCH_2), 2.83 (dd, $J = 14.3, 4.3$ Hz, 1H, OCHCH_2), 2.72 (dd, $J = 14.4, 8.3$ Hz, 1H, OCHCH_2), 2.60 (s, 6H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 2.27 (s, 3H, NCH_3).^{tt} $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 158.19, 138.49, 131.04, 130.00, 129.30, 129.27, 128.47, 126.84, 126.68, 126.53, 126.26, 124.18, 123.64, 123.41, 122.65, 67.46, 54.23, 53.78, 45.63.^{uu} HPLC (Meth. 1): $t_R = 7.5$ min, AUC = 98 %. (ESI)MS-(+) m/z kalkuliert für $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}[\text{M}]$ 362.5, gefunden $[\text{M}+\text{H}]^+$ 363.4.

(Z)-3-Hydroxy-*N'*-morpholino-3-(phenanthren-9-yl)-propanimidamid (39)



Hergestellt aus **13** (0.25 g, 1.00 mmol) und 4-Aminomorpholin nach **AAV 16**.

Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch mit Dichlormethan/ Methanol (Gradientenelution: 10 $\rightarrow$ 7 / 0 $\rightarrow$ 3, V/V) gereinigt.

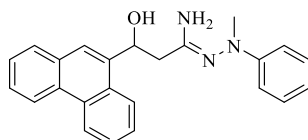
Weißer Feststoff, Ausbeute: 40 %, Smp: 131 °C, $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 8.89 (dd, $J = 6.6, 3.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.81 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.28 (dd, $J = 6.5, 3.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.00 (s, 1H, H_{arom}), 7.97 (dd, $J = 7.8, 1.2$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.74–7.69 (m, 2H, H_{arom}), 7.69–7.62 (m, 2H, H_{arom}), 6.37 (s, 3H, NH_2 , OH), 5.67 (dd, $J = 8.6, 3.7$ Hz, 1H, OCHCH_2), 3.66 (s, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.68 (dd, $J = 14.7, 3.8$ Hz, 1H,

^{tt} Das Signal von zwei Methylenprotonen des 4-Methypiperazinrings lag breit zwischen 2.45 und 2.75 ppm und war nicht integrierbar.

^{uu} Das Signal eines aliphatischen Kohlenstoffatoms konnte nicht detektiert werden.

OCHCH₂), 2.50–2.46 (m, 1H, OCHCH₂).^{vv} ¹³C-NMR (151 MHz, DMSO) δ [ppm] = 159.05, 138.99, 131.54, 130.52, 129.84, 129.76, 129.00, 127.36, 127.20, 127.08, 126.80, 124.70, 124.17, 123.94, 123.17, 67.93, 66.24, 55.09, 40.88. EA: berechnet für C₂₁H₂₃N₃O [%] C 72.18, H 6.63, N 12.03; gefunden [%] C 71.95, H 6.63, N 11.73.

(Z)-3-Hydroxy-N'-methyl-3-(phenanthren-9-yl)-N'-phenylpropanhydrazonamid (40)

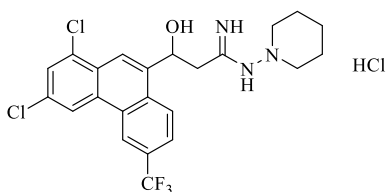


Hergestellt aus **13** (0.20 g, 0.81 mmol) und *N*-Methyl-*N*-phenylhydrazin nach **AAV 16**.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit *n*-Hexan/Ethylacetat (1:1, V/V) gereinigt und aus Diethylether, p.a. umkristallisiert.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 49 %, Smp: 127 °C, ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 8.95–8.87 (m, 1H, *H*_{arom}), 8.87–8.81 (m, 1H, *H*_{arom}), 8.42–8.34 (m, 1H, *H*_{arom}), 8.05 (s, 1H, *H*_{arom}), 7.98 (dd, *J* = 7.3, 1.9 Hz, 1H, *H*_{arom}), 7.76–7.61 (m, 4H, *H*_{arom}), 7.00–6.90 (m, 2H, *H*_{arom}), 6.65–6.57 (m, 3H, *H*_{arom}), 6.33 (s, 2H, NH₂), 6.05 (s, 1H, OH), 5.83 (dd, *J* = 7.8, 4.6 Hz, 1H, OCHCH₂), 2.85 (dd, *J* = 14.4, 4.6 Hz, 1H, OCHCH₂), 2.77 (s, 3H, NCH₃), 2.67 (dd, *J* = 14.6, 7.7 Hz, 1H, OCHCH₂). ¹³C-NMR (75 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm] = 162.10, 151.09, 136.64, 131.50, 130.77, 130.02, 129.29, 128.93, 128.84, 126.79, 126.75, 126.65, 126.24, 124.25, 123.51, 123.44, 122.43, 119.78, 115.05, 67.89, 40.95, 40.07. HPLC (Meth. 1): *t*_R = 11.0 min, AUC = 95.9 %.

(Z)-3-(1,3-Dichlor-6-(trifluormethyl)phenanthren-9-yl)-3-hydroxy-N'-(piperidin-1-yl)-propanimidamid Hydrochlorid (41)



Hergestellt aus **15** (0.19 g, 0.50 mmol) und 1-Aminopiperidin nach **AAV 16**.

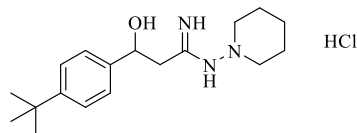
^{vv} Die Signale von 4 Methylenprotonen der Morpholinstruktur konnten nicht detektiert werden.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Dichlormethan/Methanol (9:1, V/V) gereinigt. Das Produkt wurde in Methanol, p.a. gelöst und mit einem Überschuss HCl in Methanol versetzt. **41** wurde durch tropfenweises Zugabe von Diethylether, p.a. ausgefällt. Der resultierende Niederschlag wurde abfiltriert und aus Methanol, p.a./Diethylether, p.a. umkristallisiert.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 38 %, Smp: 210 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 9.39 (s, 1H, H_{arom}), 9.25 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.80 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.52 (s, 1H, H_{arom}), 8.06 (dd, $J = 10.1, 1.7$ Hz, 2H, H_{arom}), 5.85 (dd, $J = 9.5, 3.8$ Hz, 1H, OCHCH_2), 3.02 (dd, $J = 14.0, 3.8$ Hz, 1H, OCHCH_2), 2.79–2.57 (m, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.69–1.57 (m, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.40 (s, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$).^{ww} $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 162.18, 140.19, 132.67, 132.23, 131.79, 131.23, 128.88, 128.16, 127.70 (q, $^2J_{\text{CF}} = 32.4$ Hz), 126.91, 126.41, 124.34 (q, $^1J_{\text{CF}} = 272.4$ Hz), 123.82–123.52 (m), 122.71, 122.36–122.05 (m), 121.07, 66.85, 54.84, 38.50, 24.69, 22.65. HPLC (Meth. 1): $t_R = 14.2$ min, AUC = 97.9 %.

(Z)-3-(4-(tert-(Butyl)phenyl)-3-hydroxy-*N'*-(piperidin-1-yl)propanimidamid

Hydrochlorid (42)



Hergestellt aus **16** (0.31 mg, 1.53 mmol) und 1-Aminopiperidin nach AAV **16**.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Dichlormethan/ Methanol (9:1, V/V) gereinigt. **42** wurde als Hydrochlorid gefällt, indem das Produkt in Methanol, p.a. gelöst und mit einem Überschuss HCl in Methanol versetzt wurde. **42** wurde tropfenweises Zugabe von Diethylether, p.a. ausgefällt. Der resultierende Niederschlag wurde abfiltriert und aus Methanol, p.a./Diethylether, p.a. umkristallisiert.

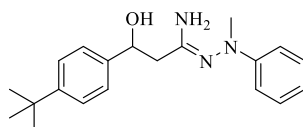
Weißer Feststoff, Ausbeute: 50 %, Smp: 191 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 9.13 (*br-s*, 1H, *NH*), 8.39 (*br-s*, 1H, *NH*), 7.41–7.28 (m, 4H, H_{arom}), 4.96 (dd, $J = 9.0, 4.8$ Hz, 1H, OCHCH_2), 2.68 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H, OCHCH_2), 2.30–2.26 (m, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.61 (t, $J = 5.8$ Hz, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.38 (*br-s*, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.27 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).^{xx} $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 163.13, 150.22,

^{ww} Die Signale eines Methylprotons und der Heteroprotonen konnten nicht detektiert werden.

^{xx} Ein Methylenproton liegt unter dem Lösungsmittelpeak, zwei Heteroprotonen sind sehr breit und nicht integrierbar.

141.36, 126.00, 125.30, 70.21, 55.23, 34.68, 31.63, 25.10, 23.14. HPLC (Meth. 1): t_R = 10.4 min, AUC $\geq$ 99%. EA: berechnet für $C_{18}H_{30}ClN_3O$ [%] C 63.60, H 8.90, N 12.36; gefunden [%] C 63.71, H 9.07, N 12.44.

(Z)-3-(4-(*tert*-Butyl)phenyl)-3-hydroxy-*N'*-methyl-*N'*-phenylpropanhydrazonamid (43)

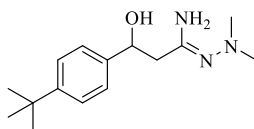


Hergestellt aus **16** (0.20 g, 1.00 mmol) und *N*-Methyl-*N*-phenylhydrazin nach **AAV 16**.

Das Rohprodukt wurde aus Diethylether, p.a. umkristallisiert.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 41 %, Smp: 126 °C, $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 7.35 (q, J = 8.4 Hz, 4H, H_{arom}), 7.13–7.04 (m, 2H, H_{arom}), 6.73–6.61, (m, 3H, H_{arom}), 6.26 (s, 2H, NH_2), 5.64 (s, 1H, OH), 4.98 (dd, J = 8.0, 5.4 Hz, 1H, OCHCH₂), 2.77 (s, 3H, NCH₃), 2.56–2.52 (m, 1H, OCHCH₂), 2.48 (dd, J = 14.2, 5.3 Hz, 1H, OCHCH₂), 1.30 (d, J = 1.2 Hz, 9H, C(CH₃)₃). $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 161.70, 151.90, 149.65, 142.35, 128.60, 126.27, 125.09, 118.02, 114.53, 70.71, 42.26, 34.65, 31.72. HPLC (Meth. 1): t_R = 10.6 min, AUC = 98.8%. (ESI)HRMS-(+) m/z kalkuliert für $[\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}]^+$: 326.2227, gefunden $[\text{M}+\text{H}]^+$: 326.2231.

(Z)-3-(4-(*tert*-Butyl)phenyl)-3-hydroxy-*N',N'*-dimethylpropanhydrazonamid (44)

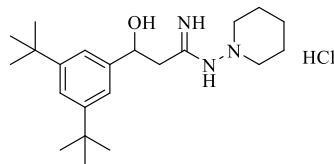


Hergestellt aus **16** (0.31 g, 1.53 mmol) und *N,N*-Dimethylhydrazin nach **AAV 16**.

Das Rohprodukt wurde aus Diethylether, p.a. umkristallisiert.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 34 %, Smp: 119 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 7.45–7.15 (m, 4H, H_{arom}), 5.98 (s, 2H, NH_2), 5.81 (s, 1H, OH), 4.80 (t, J = 6.5 Hz, 1H, OCHCH₂), 2.29–2.25 (m, 2H, OCHCH₂), 2.23 (s, 6H, NCH₃), 1.27 (s, 9H, C(CH₃)₃). $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 158.40, 149.52, 142.38, 126.00, 125.04, 70.58, 47.09, 42.03, 34.61, 31.69. HPLC (Meth. 1): t_R = 8.9 min, AUC = 96.0 %. (ESI)HRMS-(+) m/z kalkuliert für $[\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}]^+$: 264.2070, gefunden $[\text{M}+\text{H}]^+$: 264.2069.

(Z)-3-(3,5-Di-*tert*-butylphenyl)-3-hydroxy-*N'*-(piperidin-1-yl)propanimidamid Hydrochlorid (45)



Hergestellt aus **17** (0.26 g, 1.00 mmol) und 1-Aminopiperidin nach **AAV 16**.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Dichlormethan/Methanol (9:1, V/V) gereinigt. **45** wurde als Hydrochlorid gefällt, indem das Produkt in Methanol, p.a. gelöst und mit einem Überschuss HCl in Methanol versetzt wurde. **45** wurde durch tropfenweises Zugabe von Diethylether, p.a. ausgefällt. Der resultierende Niederschlag wurde abfiltriert und aus Methanol, p.a./Diethylether, p.a. umkristallisiert.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 33 %, Smp: 185 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 10.89 (*br-s*, 1H, NH), 9.42 (*br-s*, 1H, NH), 8.52 (*br-s*, 1H, NH), 7.30 (t, $J = 1.8$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.27 (d, $J = 1.8$ Hz, 2H, H_{arom}), 5.80 (d, $J = 22.3$ Hz, 1H, OH), 5.02 (dd, $J = 9.5, 4.4$ Hz, 1H, OCHCH₂), 2.79–2.55 (m, 4H, OCHCH₂, NCH₂CH₂CH₂), 1.61 (m, $J = 5.5$ Hz, 4H, NCH₂CH₂CH₂), 1.29 (s, 18H, C(CH₃)₃).^{yy} $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 163.00, 149.97, 142.96, 120.97, 119.82, 70.50, 54.75, 34.51, 31.28, 24.59, 22.58.^{zz} HPLC (Meth. 1): $t_R = 13.3$ min, AUC = 92.0 %.^{aaa} (ESI)MS-(+) m/z kalkuliert für C₂₂H₃₇N₃O [M]: 359.6, gefunden [M+H]⁺: 342.7, 360.5.

9.2.4 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung der Amidine 47–56 (AAV 17)

1.00 mmol Imidomethylester-Hydrochlorid (**XV–XVII**, **46**) wurde in 10 mL Dichlormethan, abs. suspendiert. Unter Eiskühlung wurde 1.00 mmol des entsprechendenamins hinzugegeben. Es wurde 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wobei sich

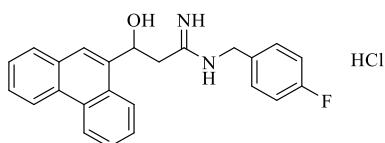
^{yy} Die Signale von vier Protonen des Piperidinrings waren sehr breit zwischen 2.45 und 2.75 ppm und nicht integrierbar.

^{zz} Das Signal eines aliphatischen Kohlenstoffatoms konnte nicht detektiert werden.

^{aaa} Die HPLC Reinheit von Zielverbindungen sollte in Anlehnung an die Richtlinie der ACS Publikationen (American Chemical Society) größer oder gleich 95 % betragen. In dieser Richtlinie ist aber auch vermerkt, dass in Ausnahmefällen eine Abweichung von diesem Wert (Waiver) gestattet werden kann. Verbindung **45** konnte trotz verschiedener Aufreinigungsverfahren (säulenchromatographische Trennung mit unterschiedlichen mobilen Phasen, Umkristallisation, Fällung als Hydrochlorid) nicht vollständig von der Verunreinigung, dem dehydratisierten Analogon [M: 341.5], getrennt werden. Daher konnte für Verbindung **45** nur eine Reinheit von 92 % erreicht werden.

zunächst eine klare Lösung bildete, aus der mit der Zeit ein weißer Niederschlag ausfiel. Dieser wurde anschließend abfiltriert und aus Methanol, p.a./Diethylether, p.a. umkristallisiert. Fiel kein oder nur sehr wenig Niederschlag aus, wurde das Lösungsmittel bis zu einem Viertel eingedampft und der Rückstand mit Diethylether ausgefällt. Der resultierende Niederschlag wurde abfiltriert und aus Methanol, p.a./Diethylether, p.a. umkristallisiert.

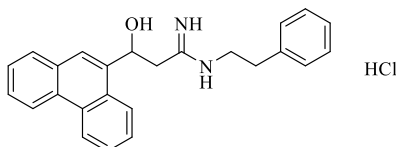
N'-(4-Fluorbenzyl)-3-hydroxy-3-(phenanthren-9-yl)propanimidamid Hydrochlorid (47)



Hergestellt aus **XV** (0.32 g, 1.00 mmol) und 4-Fluorbenzylamin nach **AAV 17**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 86 %, Smp: 147 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 8.92 (m, 1H, H_{arom}), 8.85 (m, 1H, H_{arom}), 8.53 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.05 (s, 1H, H_{arom}), 7.99 (m, 1H, H_{arom}), 7.79–7.62 (m, 4H, H_{arom}), 7.40 (m, 2H, H_{arom}), 7.16 (m, 2H, H_{arom}), 5.86 (dd, $J = 10.2, 3.9$ Hz, 1H, OCHCH_2), 4.55 (m, 2H, NCH_2Ar), 3.15 (dd, $J = 13.9, 3.9$ Hz, 1H, OCHCH_2), 2.88 (dd, $J = 13.9, 9.9$ Hz, 1H, OCHCH_2).^{bbb} $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 165.35, 162.08 (d, $^1J_{\text{CF}} = 243.5$ Hz), 138.66, 132.28, 131.44, 130.54, 130.25 (d, $^3J_{\text{CF}} = 7.7$ Hz), 130.06, 129.48, 129.10, 127.47, 127.40, 127.35, 127.08, 125.29, 124.50, 123.91, 123.26, 115.68 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21.5$ Hz), 67.51, 44.76, 41.61. EA: berechnet für $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{ClFN}_2\text{O}$ [%] C 70.50, H 5.42, N 6.85; gefunden [%] C 70.22, H 5.44, N 7.01.

3-Hydroxy-3-(phenanthren-9-yl)-N'-phenethylimidamid Hydrochlorid (48)

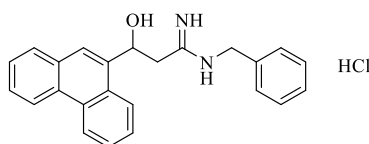


Hergestellt aus **XV** (0.32 g, 1.00 mmol) und Phenethylamin nach **AAV 17**.

^{bbb} Die Signale der Heteroprotonen konnten nicht detektiert werden.

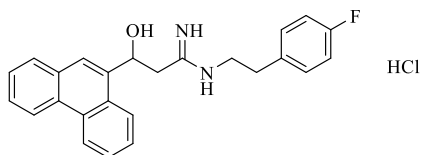
Weißer Feststoff, Ausbeute: 61 %, Smp: 167 °C, ^1H -NMR (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 9.71 (*br-s*, 1H, *NH*), 9.35 (*br-s*, 1H, *NH*), 8.96–8.89 (m, 1H, H_{arom}), 8.85 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.49 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.04 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.01 (dd, $J = 7.8, 1.5$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.78–7.65 (m, 4H, H_{arom}), 7.36–7.30 (m, 4H, H_{arom}), 7.28–7.23 (m, 1H, H_{arom}), 6.16 (s, 1H, *OH*), 5.79 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H, OCHCH_2), 3.51 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$), 3.04 (dt, $J = 13.8, 3.0$ Hz, 1H, OCHCH_2), 2.91–2.78 (m, 3H, OCHCH_2 , $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$). ^{13}C -NMR (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 165.07, 138.72, 131.42, 130.54, 130.04, 129.48, 129.43, 129.31, 129.08, 128.88, 127.50, 127.40, 127.34, 127.09, 126.96, 125.22, 124.41, 123.93, 123.27, 67.45, 43.77, 41.50, 33.79. EA: berechnet für $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{ClN}_3\text{O}$ [%] C 74.15, H 6.22, N 6.92; gefunden [%] C 73.94, H 6.27, N 6.92.

***N'*-Benzyl-3-hydroxy-3-(phenanthren-9-yl)propanimidamid Hydrochlorid (49)**



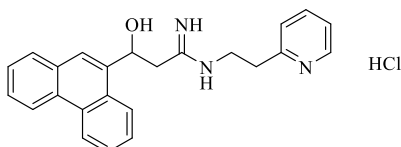
Hergestellt aus **XV** (0.10 g, 0.32 mmol) und Benzylamin nach **AAV 17**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 72 %, Smp: 139 °C, ^1H -NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 10.06 (*br-s*, 1H, *NH*), 9.48 (*br-s*, 1H, *NH*), 8.95–8.89 (m, 1H, H_{arom}), 8.85 (dd, $J = 8.2, 1.5$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.57–8.51 (m, 1H, H_{arom}), 8.06 (s, 1H, H_{arom}), 8.04–7.97 (m, 1H, H_{arom}), 7.79–7.62 (m, 4H, H_{arom}), 7.34 (s, 5H, H_{arom}), 6.23 (*br-s*, 1H, *OH*), 5.86 (dd, $J = 10.0, 3.8$ Hz, 1H, OCHCH_2), 4.56 (d, $J = 3.4$ Hz, 2H, NCH_2Ar), 3.16 (dd, $J = 14.0, 3.9$ Hz, 1H, OCHCH_2), 2.92 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H, OCHCH_2). ^{13}C -NMR (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 164.95, 138.11, 135.40, 130.91, 130.04, 129.55, 128.95, 128.59, 128.47, 127.58, 127.51, 126.99, 126.91, 126.83, 126.59, 124.66, 123.99, 123.43, 122.76, 67.02, 45.04, 41.14. HPLC (Meth. 1): $t_R = 11.0$ min, AUC ≥ 99 %.

N'-(4-Fluorphenethyl)-3-hydroxy-3-(phenanthren-9-yl)propanimidamid**Hydrochlorid (50)**

Hergestellt aus **XV** (0.20 g, 0.62 mmol) und 4-Fluorphenethylamin nach **AAV 17**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 86 %, Smp: 157 °C, ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 9.60 (*br-s*, 1H, NH), 9.28 (*br-s*, 1H, NH), 8.93 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.85 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.50–8.41 (m, 1H, H_{arom}), 8.05–7.98 (m, 2H, H_{arom}), 7.71 (m, 4H, H_{arom}), 7.34 (m, 2H, H_{arom}), 7.15 (dd, $J = 10.1, 7.5$ Hz, 2H, H_{arom}), 6.14 (s, 1H, OH), 5.76 (s, 1H, OCHCH₂), 3.48 (s, 2H, NCH₂CH₂Ar), 3.03 (dd, $J = 14.1, 3.6$ Hz, 1H, OCHCH₂), 2.89–2.77 (m, 3H, OCHCH₂, NCH₂CH₂Ar). ^{13}C -NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 165.15, 161.54 (d, $^1J_{\text{CF}} = 242.1$ Hz), 138.59, 134.82, 131.40, 131.22 (d, $^3J_{\text{CF}} = 7.8$ Hz), 130.55, 130.04, 129.43, 129.07, 127.52, 127.43, 127.34, 127.10, 125.10, 124.40, 123.96, 123.28, 115.54 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21.0$ Hz), 67.44, 43.75, 41.55, 32.91. EA: berechnet für C₂₅H₂₄ClFN₂O [%] C 71.00, H 5.72, N 6.62; gefunden [%] C 70.74, H 5.73, N 6.61.

(Z)-3-Hydroxy-3-(phenanthren-9-yl)-N'-(2-(pyridin-2-yl)ethyl)propanimidamid**Hydrochlorid (51)**

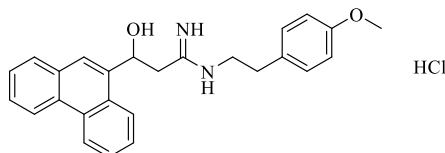
Hergestellt aus **XV** (0.16 mg, 0.51 mmol) und 2-(Pyridin-2-yl)ethan-1-amin nach **AAV 17**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 84 %, Smp: 166 °C, ^1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 8.96–8.88 (m, 1H, H_{arom}), 8.88–8.80 (m, 1H, H_{arom}), 8.53 (dd, $J = 4.8, 1.6$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.46 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.03 (s, 1H, H_{arom}), 8.02–7.98 (m, 1H, H_{arom}), 7.80–7.62 (m, 6H, H_{arom}), 7.36 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.28 (dd, $J = 7.6, 5.0$ Hz, 1H, OH), 5.78 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, OCHCH₂), 3.67 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, NCH₂CH₂Ar), 3.10–2.97 (m, 3H, NCH₂CH₂Ar, OCHCH₂), 2.81 (dd, $J = 14.0, 10.1$ Hz, 1H, OCHCH₂).^{ccc}

^{ccc} Die Signale der NH Protonen konnten nicht detektiert werden.

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 164.69, 157.79, 149.01, 138.11, 136.62, 130.90, 130.01, 129.51, 128.95, 128.56, 126.97, 126.88, 126.83, 126.56, 124.66, 123.88, 123.49, 123.41, 122.75, 121.86, 66.90, 41.37, 40.98, 35.22. EA: berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{ClN}_3\text{O}$ [%] C 71.01, H 5.96, N 10.35; gefunden [%] C 70.65, H 5.98, N 10.21.

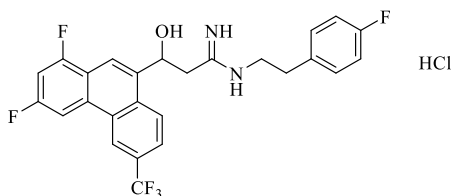
(Z)-3-Hydroxy-*N'*-(4-methoxyphenethyl)-3-(phenanthren-9-yl)-propanimidamid Hydrochlorid (52)



Hergestellt aus **XV** (0.10 g, 0.32 mmol) und 4-Methoxyphenethylamin nach **AAV 17**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 70 %, Smp: 101 °C, ^1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 8.96–8.89 (m, 1H, H_{arom}), 8.84 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.46 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.06–7.97 (m, 2H, H_{arom}), 7.81–7.59 (m, 4H, H_{arom}), 7.21 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H_{arom}), 6.97–6.79 (m, 2H, H_{arom}), 5.77 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, OCHCH_2), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 3.49–3.41 (m, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$), 3.10–2.98 (m, 1H, OCHCH_2), 2.89–2.72 (m, 3H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$, OCHCH_2).^{ddd} ^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 164.50, 157.91, 138.12, 130.91, 130.03, 129.82, 129.60, 129.53, 128.96, 128.57, 126.98, 126.89, 126.83, 126.58, 124.65, 123.91, 123.43, 122.76, 113.76, 66.93, 54.99, 43.55, 40.99, 32.43. HPLC (Meth. 1): $t_R = 11.5$ min, AUC = 95.1 %.

(Z)-3-(1,3-Difluor-6-(trifluormethyl)phenanthren-9-yl)-*N'*-(4-fluorophenethyl)-3-hydroxypropanimidamid Hydrochlorid (53)



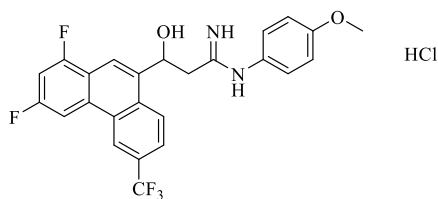
Hergestellt aus **XVI** (0.11 g, 0.26 mmol) und 4-Fluorphenethylamin nach **AAV 17**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 80 %, Smp: 122 °C, ^1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 9.74 (s, 1H, NH), 9.40 (s, 1H, NH), 9.30 (s, 1H, H_{arom}), 8.84 (t, $J = 10.4$ Hz,

^{ddd} Die Signale der Heteroprotonen konnten nicht detektiert werden.

2H, H_{arom}), 8.32 (s, 1H, H_{arom}), 8.05 (dd, $J = 8.9, 1.8$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.79–7.64 (m, 1H, H_{arom}), 7.40–7.29 (m, 2H, H_{arom}), 7.21–7.07 (m, 2H, H_{arom}), 6.35 (s, 1H, OH), 5.84 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H, OCHCH₂), 3.48 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, NCH₂CH₂Ar), 3.09–2.97 (m, 1H, OCHCH₂), 2.91–2.77 (m, 3H, NCH₂CH₂Ar, OCHCH₂). ¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 164.72, 161.44 (d, $^1J_{\text{CF}} = 242.4$ Hz), 161.28 (d, $^1J_{\text{CF}} = 245.3$ Hz), 159.23 (d, $^1J_{\text{CF}} = 251.8$ Hz), 138.71, 134.67 (d, $^4J_{\text{CF}} = 3.3$ Hz), 132.10, 131.03 (d, $^3J_{\text{CF}} = 7.7$ Hz), 130.91 (d, $^3J = 7.8$ Hz), 129.31, 127.84 (q, $^2J_{\text{CF}} = 32.1$ Hz), 127.11, 123.91, 123.66 (q, $^1J_{\text{CF}} = 271.6$ Hz), 122.47, 118.16 – 117.75 (m), 115.63 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21.5$ Hz), 115.40 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21.0$ Hz), 105.78 (dd, $^2J_{\text{CF}} = 23.1$ Hz, $^4J_{\text{CF}} = 3.6$ Hz), 103.64 (dd, $^2J_{\text{CF}} = 28.3, 24.9$ Hz), 67.48, 43.63, 41.35, 32.80. HPLC (Meth. 1): $t_{\text{R}} = 13.38$ min, AUC = 95.5 %. (ESI)HRMS-(+) m/z kalkuliert für [C₂₆H₂₁F₆N₂O]⁺: 491.1553; gefunden: 491.1551.

(Z)-3-(1,3-Difluor-6-(trifluormethyl)phenanthren-9-yl)-3-hydroxy-*N'*-(4-methoxyphenyl)propanimidamid Hydrochlorid (54)

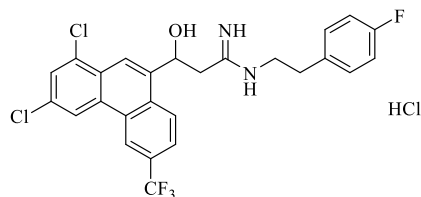


Hergestellt aus **XVI** (0.21 g, 0.50 mmol) und 4-Methoxyanilin nach **AAV 17**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 39 %, Smp: 179 °C, ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 11.30 (*br-s*, 1H, NH), 9.60 (*br-s*, 1H, NH), 9.31 (*br-s*, 1H, NH), 8.88 (t, $J = 8.7$ Hz, 2H, H_{arom}), 8.53 (s, 1H, H_{arom}), 8.39 (s, 1H, H_{arom}), 8.06 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.82–7.67 (m, 1H, H_{arom}), 7.28–7.18 (m, 2H, H_{arom}), 7.17–7.05 (m, 2H, H_{arom}), 6.50 (*br-s*, 1H, OH), 5.97 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, OCHCH₂), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 3.26–3.16 (m, 1H, OCHCH₂), 3.02–2.84 (m, 1H, OCHCH₂). ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 164.71, 160.81 (dd, $J_{\text{CF}} = 245.2, 14.3$ Hz), 158.86 (dd, $J_{\text{CF}} = 251.8, 13.8$ Hz), 158.84, 138.45, 131.85 (d, $^4J_{\text{CF}} = 4.7$ Hz), 131.66, 129.06–128.70 (m), 127.41 (d, $^2J_{\text{CF}} = 31.8$ Hz), 126.83, 126.78, 123.80 (q, $^1J_{\text{CF}} = 272.6$ Hz), 123.59–123.45 (m), 122.09, 117.70, 117.51, 117.43, 115.12, 105.42 (dd, $J_{\text{CF}} = 20.2, 3.1$ Hz), 103.28 (dd, $^2J_{\text{CF}} = 29.0, 24.8$ Hz), 67.17, 55.44, 41.04. HPLC (Meth. 1): $t_{\text{R}} = 12.7$ min, AUC = 96.8 %. EA: berechnet für C₂₅H₂₀ClF₅N₂O₂ [%] C 58.77, H 3.95, N 5.48; gefunden [%] C 58.36, H 3.79, N 5.42.^{eee}

^{eee} Die Elementaranalyse des Kohlenstoffs weicht um 0.41 % ab, zeigt aber das Vorliegen als Hydrochlorid.

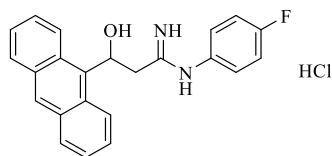
3-(1,3-Dichlor-6-(trifluormethyl)phenanthren-9-yl)-N'-(4-fluorphenethyl)-3-hydroxypropanimidamid Hydrochlorid (55)



Hergestellt aus **XVII** (0.23 g, 0.51 mmol) und 4-Fluorphenethylamin nach **AAV 17**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 50 %, Smp: 198 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 9.41 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H, H_{arom}), 9.27 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.85 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, H_{arom}), 8.55 (s, 1H, NH), 8.17–7.98 (m, 2H, H_{arom}), 7.45–7.29 (m, 2H, H_{arom}), 7.22–7.08 (m, 2H, H_{arom}), 5.87 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H, OCHCH₂), 3.49 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, NCH₂CH₂Ar), 3.10–2.98 (m, 1H, OCHCH₂), 2.85 (dd, $J = 8.8, 6.0$ Hz, 2H, NCH₂CH₂Ar), 2.76 (dd, $J = 14.0, 10.0$ Hz, 1H, OCHCH₂).^{fff} $^{13}\text{C-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 164.20, 161.03 (d, $^1J_{\text{CF}} = 242.1$ Hz), 140.32, 134.27 (d, $^4J_{\text{CF}} = 3.1$ Hz), 132.68, 132.25, 131.80, 131.22, 130.68 (d, $^3J_{\text{CF}} = 8.2$ Hz), 128.89, 128.18, 127.71 (q, $^2J_{\text{CF}} = 31.8$ Hz), 126.95, 126.53, 124.34 (q, $^1J_{\text{CF}} = 272.8$ Hz), 123.75–123.48 (m), 122.74, 122.36–122.06 (m), 121.09, 115.03 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21.0$ Hz), 67.03, 43.25, 40.98, 32.39. EA: berechnet für $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{Cl}_3\text{F}_4\text{N}_2\text{O}$ [%] C 55.78, H 3.78, N 5.00; gefunden [%] C 55.51, H 4.00, N 5.01.

(Z)-3-(Anthracen-9-yl)-N'-(4-fluorphenyl)-3-hydroxypropanimidamid Hydrochlorid (56)



Hergestellt aus **46** (0.20 g, 0.63 mmol) und 4-Fluoranilin nach **AAV 17**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 52 %, Smp: 188 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 11.55 (*br-s*, 1H, NH), 9.84 (*br-s*, 1H, NH), 8.97 (s, 2H, H_{arom}), 8.68 (s, 1H, NH), 8.62 (s, 1H, H_{arom}), 8.16–8.08 (m, 2H, H_{arom}), 7.62–7.51 (m, 4H, H_{arom}), 7.48–7.34 (m, 4H, H_{arom}), 6.62 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H, OH), 6.48 (s, 1H, OCHCH₂), 3.62–3.46 (m, 1H, OCHCH₂), 3.19–3.06 (m, 1H, OCHCH₂). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] =

^{fff} Die Signale der Heteroprotonen konnten nur teilweise detektiert werden.

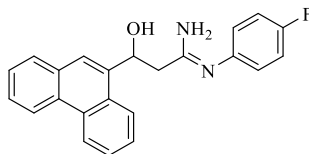
165.19, 161.40 (d, $^1J_{\text{CF}} = 244.9$ Hz), 134.06, 131.14, 130.71 (d, $^4J_{\text{CF}} = 2.8$ Hz), 128.89, 128.71, 128.17, 128.05, 127.92, 125.52, 124.94, 116.85 (d, $^2J_{\text{CF}} = 22.9$ Hz), 66.68.^{ggg}
HPLC (Meth. 1): $t_{\text{R}} = 10.7$ min, AUC ≥ 99 %.

9.2.5 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung der Amidine **57–65** (AAV **18**)

Unter N₂-Schutzgasatmosphäre wurde bei 0 °C 5 mL Toluol, abs. vorgelegt. 2.00 mmol des entsprechendenamins und 2.00 mmol Trimethylaluminium (2 M in Toluol) wurden hinzugegeben. Es wurde 5 Minuten bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde 1.00 mmol des entsprechenden Nitrils (**13**, **15–19**) in 5 mL Tetrahydrofuran, abs. gelöst und zur Amin-TMA-Lösung gegeben. Es wurde 5 Stunden bei 50 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der Reaktionsansatz auf 10 mL einer Eis-Wasser-Mischung (1:1, m/m) gegossen, wobei sich eine kolloidale Suspension ergab. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase zunächst mit einer gesättigten NaHCO₃-Lösung auf einen pH-Wert von 8 eingestellt. Die wässrige Phase wurde 4 x mit 50 mL Ethylacetat extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt und mit einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Es wurde über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der ölige Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Gradientenelution: Dichlormethan/Methanol (100 → 70 / 0 → 30 (V/V))). Das Produkt wurde aus Methanol p.a./Diethylether, p.a. umkristallisiert.

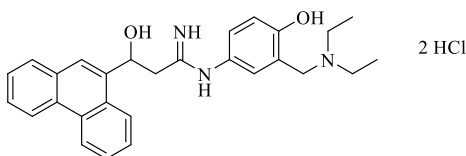
Die Verbindungen **58**, **63** und **64** wurden als Hydrochloride isoliert. Dazu wurde 1.00 mmol des entsprechenden Rohproduktes in Methanol, p.a. gelöst und mit 2.50 mmol HCl (6 N in Isopropanol) versetzt. **63** und **64** wurden anschließend durch tropfenweises Zugabe von Diethylether, p.a. ausgefällt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und aus Methanol, p.a./Diethylether, p.a. umkristallisiert. **58** konnte nicht mit Diethylether ausgefällt werden, sodass das organische Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt wurde. Das resultierende braune Öl wurde mit 5 mL Wasser versetzt. Die wässrige Lösung wurde lyophilisiert, sodass sich ein brauner Feststoff ergab, der ohne weitere Aufreinigung in ausreichend hoher Reinheit gewonnen werden konnte.

^{ggg} Das Signal eines aliphatischen Kohlenstoffatoms konnte nicht detektiert werden.

(Z)-N'-(4-Fluorphenyl)-3-hydroxy-3-(phenanthren-9-yl)propanimidamid (57)

Hergestellt aus **13** (0.25 g, 1.00 mmol) und 4-Fluoranilin nach **AAV 18**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 28 %, Smp: 113 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 8.96–8.77 (m, 2H, H_{arom}), 8.32 (dd, $J = 6.5, 3.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.05 (s, 1H, H_{arom}), 8.03–7.96 (m, 1H, H_{arom}), 7.71 (dd, $J = 6.2, 3.2$ Hz, 2H, H_{arom}), 7.69–7.61 (m, 2H, H_{arom}), 7.08 (t, $J = 8.9$ Hz, 2H, H_{arom}), 6.80 (s, 2H, H_{arom}), 6.26 (br-s, 3H, NH_2 , OH), 5.85 (dd, $J = 8.4, 3.1$ Hz, 1H, OCHCH_2), 2.80 (dd, $J = 14.8, 3.4$ Hz, 1H, OCHCH_2), 2.62 (dd, $J = 14.8, 8.6$ Hz, 1H, OCHCH_2). $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, Chloroform- d) δ [ppm] = 8.77 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.67 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.09 (s, 1H, H_{arom}), 7.92 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.76–7.55 (m, 4H, H_{arom}), 7.08–6.85 (m, 4H, H_{arom}), 5.99 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H, OCHCH_2), 3.03–2.70 (m, 2H, OCHCH_2). $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, Chloroform- d) δ [ppm] = 159.29 (d, $^1J_{\text{CF}} = 241.8$ Hz), 158.19, 143.56, 136.74, 131.51, 130.70, 129.95, 129.27, 128.85, 126.80, 126.65 (d, $^3J_{\text{CF}} = 6.6$ Hz), 126.21, 124.19, 123.46, 123.39, 123.32, 122.41, 116.21 (d, $^2J_{\text{CF}} = 22.1$ Hz), 67.95, 41.62.^{hhh} HPLC (Meth. 1): $t_R = 10.4$ min, AUC = 97.5 %.

(Z)-N-(3-((Diethylamino)methyl)-4-hydroxyphenyl)-3-hydroxy-3-(phenanthren-9-yl)-propanimidamid Dihydrochlorid (58)

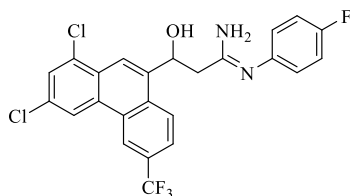
Hergestellt aus **13** (0.25 g, 1.00 mmol) und 4-Amino-2-(Diethylamino)methyl-phenol (**66**) nach **AAV 18**.

Brauner Feststoff, Ausbeute: 22 %, Smp: 31 °C, $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 11.45 (s, 1H, NH), 10.91 (s, 1H, OH), 10.37 (s, 1H, NH), 9.79 (s, 1H, NH), 8.92 (dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.89–8.81 (m, 2H, H_{arom}), 8.62 (dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.12 (s, 1H, NH), 8.03 (dd, $J = 7.7, 1.5$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.78 – 7.66 (m, 4H,

^{hhh} Das Signal eines Kohlenstoffatoms konnte nicht detektiert werden.

H_{arom}), 7.53 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.22–7.16 (m, 2H, H_{arom}), 6.29 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H, OH), 5.99–5.91 (m, 1H, OCHCH₂), 4.23 (s, 2H, ArCH₂N), 3.24 (dd, $J = 13.8, 3.9$ Hz, 1H, OCHCH₂), 3.16–3.07 (m, 4H, NCH₂CH₃), 3.00 (dd, $J = 13.8, 10.2$ Hz, 1H, OCHCH₂), 1.30 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H, NCH₂CH₃). ¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 164.80, 156.89, 138.65, 131.42, 130.54, 130.13, 130.05, 129.44, 129.11, 128.32, 127.55, 127.48, 127.38, 127.15, 125.91, 125.18, 124.51, 123.96, 123.28, 117.97, 117.46, 67.66, 49.85, 46.43, 45.86, 41.74, 8.91, 8.83. HPLC (Meth. 1): $t_R = 8.0$ min, AUC = 97.4%.

(Z)-3-(1,3-Dichlor-6-(trifluormethyl)phenanthren-9-yl)-N'-(4-fluorophenyl)-3-hydroxypropanimidamid (59)

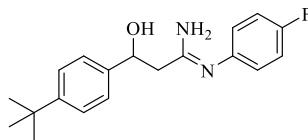


Hergestellt aus **15** (0.50 g, 1.30 mmol) und 4-Fluoranilin nach **AAV 18**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 51 %, Smp: 190 °C, ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 9.43 (s, 1H, H_{arom}), 9.29 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.89 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.61 (s, 1H, H_{arom}), 8.10 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.09–8.05 (m, 1H, H_{arom}), 7.48–7.31 (m, 4H, H_{arom}), 5.99 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, OCHCH₂), 3.23 (dd, $J = 13.8, 3.5$ Hz, 1H, OCHCH₂), 2.89 (dd, $J = 13.8, 10.0$ Hz, 1H, OCHCH₂).ⁱⁱⁱ ¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 165.14, 161.69 (d, $^1J_{\text{CF}} = 248.1$ Hz), 140.56, 133.12, 132.72, 132.27, 131.69, 129.38, 128.62, 128.33, 128.11 (d, $^3J_{\text{CF}} = 9.1$ Hz), 127.40, 126.80, 124.73 (q, $^1J_{\text{CF}} = 272.9$ Hz), 124.07, 123.15, 122.67, 121.63, 117.26 (d, $^2J_{\text{CF}} = 23.1$ Hz), 67.64, 41.73.ⁱⁱⁱ HPLC (Meth. 1): $t_R = 13.9$ min, AUC = 97.7 %.

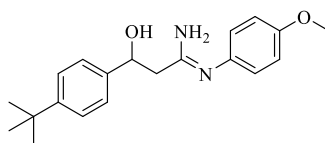
ⁱⁱⁱ Die Signale der Heteroprotonen konnten nicht detektiert werden.

ⁱⁱⁱ Das Signal eines Kohlenstoffatoms konnte nicht detektiert werden.

(Z)-3-(4-(tert-Butyl)phenyl)-N'-(4-fluorophenyl)-3-hydroxypropanimidamid (60)

Hergestellt aus **16** (0.20 g, 1.00 mmol) und 4-Fluoranilin nach **AAV 18**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 68 %, Smp: 122 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 7.39–7.28 (m, 4H, H_{arom}), 7.10–7.02 (m, 1.7 H_{major} , H_{arom}), 6.91 (t, $J = 8.7$ Hz, 0.3 H_{minor} , H_{arom}), 6.75 (s, 1.7 H_{major} , H_{arom}), 6.43 (d, $J = 7.1$ Hz, 0.3 H_{minor} , H_{arom}), 6.06 (d, $J = 43.0$ Hz, 2H, NH_2), 4.99 (dd, $J = 7.6, 5.4$ Hz, 0.8 H_{major} , OCHCH_2), 4.84 (s, 0.2 H_{minor} , OCHCH_2), 2.48–2.44 (m, 2 H, OCHCH_2), 1.29 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).^{kkk} $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 157.85, 157.68 (d, $^1J_{\text{CF}} = 236.9$ Hz), 149.08, 145.82, 142.05, 125.56, 124.62, 123.09 (d, $^3J_{\text{CF}} = 8.1$ Hz), 115.50 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21.8$ Hz), 70.31, 44.11, 34.13, 31.19. HPLC (Meth. 1): $t_R = 10.07$ min, AUC ≥ 99 %.

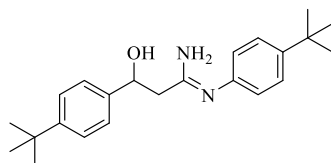
(Z)-3-(4-(tert-Butyl)phenyl)-3-hydroxy-N'-(4-methoxyphenyl)propanimidamid (61)

Hergestellt aus **16** (0.20 g, 1.00 mmol) und 4-Methoxyanilin nach **AAV 18**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 36 %, Smp: 123 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 7.35 (t, $J = 5.9$ Hz, 4H, H_{arom}), 6.85 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, H_{arom}), 6.74 (s, 2H, H_{arom}), 6.13 (*br-s*, 3H, OH, NH_2), 4.97 (t, $J = 6.4$ Hz, 1H, OCHCH_2), 3.71 (s, 3H, OCH_3), 2.46 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H, OCHCH_2), 1.28 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$). $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 158.35, 154.98, 149.58, 142.54, 126.01, 125.12, 123.17, 114.90, 70.78, 55.56, 44.29, 34.63, 31.70.^{lll} HPLC (Meth. 1): $t_R = 10.28$ min, AUC = 96.3%.

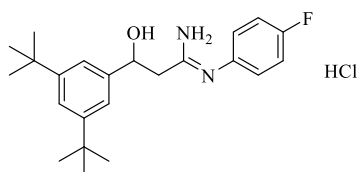
^{kkk} Das Signal alkoholischen Funktion konnte nicht detektiert werden.

^{lll} Das Signal eines Kohlenstoffatoms konnte nicht detektiert werden.

(Z)-N'-3-Bis-(4-(tert-butyl)phenyl)-3-hydroxypropanimidamid (62)

Hergestellt aus **16** (0.20 g, 1.00 mmol) und 4-*tert*-Butylanilin nach **AAV 18**.

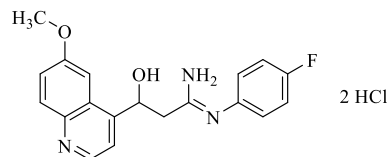
Weißer Feststoff, Ausbeute: 68 %, Smp: 110 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 7.34 (d, J = 2.3 Hz, 4H, H_{arom}), 7.28 (d, J = 8.3 Hz, 2H, H_{arom}), 6.74 (s, 2H, H_{arom}), 6.05 (*br-s*, 3H, OH, NH₂), 4.98 (t, J = 6.4 Hz, 1H, OCHCH₂), 2.47 (d, J = 6.7 Hz, 2H, OCHCH₂), 1.29 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.27 (s, 9H, C(CH₃)₃). $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 157.91, 149.58, 146.90, 144.36, 142.54, 126.21, 126.06, 125.12, 121.87, 70.84, 44.39, 34.63, 34.34, 31.85, 31.70. HPLC (Meth. 1): t_R = 12.73 min, AUC = 94.8 %.

(Z)-3-(3,5-Di-*tert*-butylphenyl)-N'-(4-fluorophenyl)-3-hydroxypropanimidamid Hydrochlorid (63)

Hergestellt aus **17** (0.16 g, 0.62 mmol) und 4-Fluoranilin nach **AAV 18**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 50 %, Smp: 122 °C, $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 11.23 (*br-s*, 1H, NH), 9.50 (*br-s*, 1H, NH), 8.60 (*br-s*, 1H, NH), 7.42–7.34 (m, 3H, H_{arom}), 7.32–7.25 (m, 4H, H_{arom}), 5.96 (s, 1H, OH), 5.11 (s, 1H, OCHCH₂), 2.90 (d, J = 12.8 Hz, 1H, OCHCH₂), 2.80 (d, J = 12.0 Hz, 1H, OCHCH₂), 1.31 (s, 18H, C(CH₃)₃). $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 165.67, 161.67 (d, $^1J_{\text{CF}}$ = 245.8 Hz), 150.60, 143.67 131.66, 128.05 (d, $^3J_{\text{CF}}$ = 8.4 Hz), 121.48, 120.28, 117.29 (d, $^2J_{\text{CF}}$ = 22.9 Hz), 71.29, 43.21, 35.05, 31.80. HPLC (Meth. 1): t_R = 12.67 min, AUC = 96.4 %. (ESI)HRMS-(+) m/z kalkuliert für [C₂₃H₃₂FN₂O]⁺: 371.2493; gefunden: 371.2499.

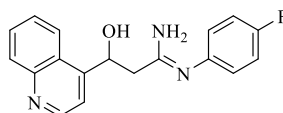
(Z)-N'-(4-Fluorphenyl)-3-hydroxy-3-(6-methoxychinolin-4-yl)propanimidamid
Dihydrochlorid (64)



Hergestellt aus **19** (0.10 mg, 0.48 mmol) und 4-Fluoranilin nach **AAV 18**.

Gelber Feststoff, Ausbeute: 36 %, Smp: 189 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 12.04 (s, 1H, NH), 9.96 (s, 1H, NH), 9.13 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.72 (s, 1H, NH), 8.38 (dd, $J = 9.3, 2.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.17 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.09 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.81 (dd, $J = 9.3, 2.5$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.49–7.27 (m, 4H, H_{arom}), 6.33 (dd, $J = 9.7, 4.2$ Hz, 1H, OCHCH_2), 4.11 (s, 3H, OCH_3), 3.35 (dd, $J = 13.9, 4.2$ Hz, 1H, OCHCH_2), 2.96 (dd, $J = 13.8, 9.9$ Hz, 1H, OCHCH_2).^{mmm} $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 164.12, 161.31 (d, $^1J_{\text{CF}} = 244.9$ Hz), 159.37, 157.95, 141.71, 134.41, 130.54 (d, $^4J_{\text{CF}} = 3.0$ Hz), 127.80 (d, $^3J = 8.9$ Hz), 127.18, 126.37, 123.63, 119.39, 116.81 (d, $^2J_{\text{CF}} = 22.9$ Hz), 103.79, 65.95, 57.06.ⁿⁿⁿ HPLC (Meth. 1): $t_R = 5.15$ min, AUC = 95.6 %. (ESI)HRMS-(+) m/z kalkuliert für $[\text{M}+\text{H}]^+$: 340.1456; gefunden $[\text{M}+\text{H}]^+$: 340.1457.

(Z)-N'-(4-Fluorphenyl)-3-hydroxy-3-(chinolin-4-yl)propanimidamid (65)



Hergestellt aus **18** (0.20 g, 1.00 mmol) und 4-Fluoranilin nach **AAV 18**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 57 %, Smp: 135 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 8.92 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.29 (dd, $J = 8.4, 1.4$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.06 (dd, $J = 8.4, 1.3$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.77 (dd, $J = 8.4, 1.4$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.71–7.60 (m, 2H, H_{arom}), 7.15–6.99 (m, 2H, H_{arom}), 6.81–6.62 (m, 2H, H_{arom}), 6.31 (d, $J = 22.3$ Hz, 1H, OH), 6.09 (s, 2H, NH_2), 5.90–5.79 (m, 1H, OCHCH_2), 2.72 (dd, $J = 14.7, 4.3$ Hz, 1H, OCHCH_2), 2.58 (dd, $J = 14.7, 8.2$ Hz, 1H, OCHCH_2). $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 158.23 (d, $^1J_{\text{CF}} = 237.3$ Hz), 157.67, 150.81, 150.73, 148.22, 130.19, 129.43, 126.86,

^{mmm} Das Signal der alkoholischen Funktion konnte nicht detektiert werden.

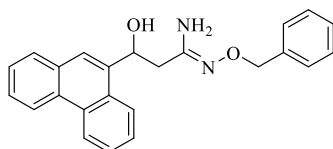
ⁿⁿⁿ Das Signal eines Kohlenstoffatoms konnte nicht detektiert werden.

125.71, 124.34, 123.66, 123.64, 118.54, 116.03 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21.9$ Hz), 67.28, 43.64. EA: berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{FN}_3\text{O}$ [%] C 69.89, H 5.21, N 13.58; gefunden C 69.60, H 5.50, 13.49.

9.2.6 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung der Amidoxime 68–70 (AAV 19)

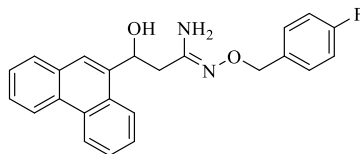
1.00 mmol Imidomethylester-Hydrochlorid (**XV**, **XVII**) wurde in 10 mL Dichlormethan, p.a. suspendiert. 1.00 mmol des entsprechenden Hydroxylaminderivates (**XL**, **67**) wurde in 5 mL Dichlormethan, p.a. gelöst und zur Imidomethylester-Hydrochlorid Lösung getropft. Es wurde 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wird aus *n*-Hexan/Ethylacetat ausgefällt. Der resultierende Niederschlag wurde abfiltriert und aus Diethylether, p.a. umkristallisiert.

(Z)-N'-(Benzoyloxy)-3-hydroxy-3-(phenanthren-9-yl)propanimidamide (68)



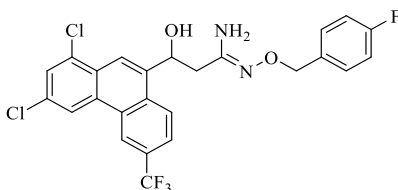
Hergestellt aus **XV** (0.32 g, 1.00 mmol) und **XL** nach **AAV 19**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 50 %, Smp: 99 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 8.86 (dd, $J = 7.4, 2.1$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.81 (s, 1H, H_{arom}), 8.30–8.22 (m, 1H, H_{arom}), 7.96 (s, 1H, H_{arom}), 7.94 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.73–7.58 (m, 4H, H_{arom}), 7.32–7.23 (m, 5H, H_{arom}), 5.83 (s, 2H, NH_2), 5.65–5.59 (m, 1H, OH), 4.82 (s, 2H, OCHCH_2), 2.62–2.52 (m, 1H, OCHCH_2), 2.42 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H, OCHCH_2). $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 152.62, 139.59, 139.51, 131.58, 130.56, 129.88, 129.78, 129.06, 128.49, 128.01, 127.60, 127.36, 127.20, 127.10, 126.83, 124.75, 123.98, 123.93, 123.17, 74.19, 67.90, 40.53. HPLC (Meth. 1): $t_R = 11.1$ min, AUC = 99.5 %. (ESI)HRMS-(+) m/z kalkuliert für $[\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_2]^+$: 371.1754; gefunden: 371.1751.

(Z)-N'-((4-Fluorbenzyl)oxy)-3-hydroxy-3-(phenanthren-9-yl)propanimidamid (69)

Hergestellt aus **XV** (0.10 g, 0.32 mmol) und **67** nach **AAV 19**.

Weißer Feststoff, Ausbeute 69 %, Smp: 113 °C, ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 8.88 (dd, J = 8.1, 1.7 Hz, 1H, H_{arom}), 8.84–8.79 (m, 1H, H_{arom}), 8.31–8.22 (m, 1H, H_{arom}), 7.98 (s, 1H, H_{arom}), 7.97–7.94 (m, 1H, H_{arom}), 7.77–7.58 (m, 4H, H_{arom}), 7.39–7.26 (m, 2H, H_{arom}), 7.13–6.97 (m, 2H, H_{arom}), 5.86 (s, 2H, NH_2), 5.70–5.58 (m, 1H, OH), 4.81 (s, 2H, OCHCH_2), 2.59 (dd, J = 13.3, 3.0 Hz, 1H, OCHCH_2), 2.47–2.36 (m, 1H, OCHCH_2). ^{13}C -NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 161.86 (d, $^1J_{\text{CF}}$ = 242.3 Hz), 152.68, 139.46, 135.84, 131.57, 130.55, 129.99 (d, $^3J_{\text{CF}}$ = 8.1 Hz), 129.88, 129.79, 129.06, 127.35, 127.18, 127.09, 126.83, 124.75, 124.00, 123.93, 123.17, 115.17 (d, $^2J_{\text{CF}}$ = 21.0 Hz), 73.34, 67.88, 40.54. EA: berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{FN}_2\text{O}_2$ [%] C 74.21, H 5.45, N 7.21; gefunden [%] C 74.26, H 5.35, N 7.25.

(Z)-3-(1,3-Dichlor-6-(trifluormethyl)phenanthren-9-yl)-N'-((4-fluorbenzyl)oxy)-3-hydroxypropanimidamid (70)

Hergestellt aus **XVII** (0.23 g, 0.51 mmol) und **67** nach **AAV 19**.

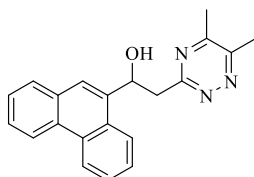
Weißer Feststoff, Ausbeute: 50 % , Smp: 189 °C, ^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 9.40 (s, 1H, H_{arom}), 9.27 (s, 1H, H_{arom}), 8.80 (*br-s*, 1H, H_{arom}), 8.53 (s, 1H, H_{arom}), 8.08 (d, J = 1.8 Hz, 1H, H_{arom}), 8.05 (d, J = 8.5 Hz, 1H, H_{arom}), 7.58–7.46 (m, 2H, H_{arom}), 7.31 (*br-s*, 1H, NH), 7.21 (t, J = 8.7 Hz, 2H, H_{arom}), 7.14 (*br-s*, 1H, NH) 6.41 (*br-s*, 1H, OH), 5.83 (d, $3J$ = 8.2 Hz, 1H, OCHCH_2), 4.93 (s, 2H, OCH_2Ar), 3.02–2.94 (m, 1H, OCHCH_2), 2.64–2.56 (m, 1H, OCHCH_2). ^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 162.36 (d, $^1J_{\text{CF}}$ = 245.0 Hz), 159.84, 140.24, 132.69, 132.24, 131.77 (d, $^4J_{\text{CF}}$ = 4.1 Hz), 131.17, 130.80, 128.86, 128.16, 127.70 (d, $^2J_{\text{CF}}$ = 32.1 Hz), 126.93, 126.54, 124.33 (q,

$^1J_{\text{CF}} = 272.7 \text{ Hz}$), 123.69, 122.71, 122.19, 121.00, 115.63, 115.17 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21.5 \text{ Hz}$), 76.29, 66.70, 37.47. HPLC (Meth. 1): $t_{\text{R}} = 14.65 \text{ min}$, AUC = 96.0 %.

9.2.7 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung der 1,2,4-Triazine **71** und **72** (AAV 20)

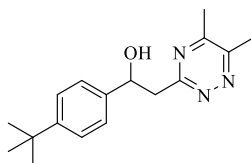
1.00 mmol des entsprechenden Amidrazons (**24** und **25**) wurde in 10 mL Tetrahydrofuran, p.a. gelöst. Anschließend wurden 0.13 mL (1.50 mmol) 2,3-Butandion hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde 5 Stunden bei 70 °C gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Reaktionsgemisch säulenchromatographisch gereinigt (Gradientenelution: *n*-Hexan/Ethylacetat. 100 → 0 / 0 → 100, V/V). Anschließend wurde das Rohprodukt aus Ethylacetat umkristallisiert.

2-(5,6-Dimethyl-1,2,4-triazin-3-yl)-1-(phenanthren-9-yl)ethan-1-ol (71)



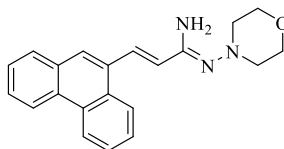
Hergestellt aus **25** (0.21 mg, 1.00 mmol) nach **AAV 20**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 29 %, Smp: 139 °C, $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm] = 8.71 (dd, $J = 8.0, 1.6 \text{ Hz}$, 1H, H_{arom}), 8.61 (d, $J = 8.3 \text{ Hz}$, 1H, H_{arom}), 8.14 (dd, $J = 7.8, 1.6 \text{ Hz}$, 1H, H_{arom}), 8.05 (s, 1H, H_{arom}), 7.86 (dd, $J = 7.8, 1.5 \text{ Hz}$, 1H, H_{arom}), 7.67–7.46 (m, 4H, H_{arom}), 6.06 (dt, $J = 9.9, 2.7 \text{ Hz}$, 1H, OH), 4.45 (d, $J = 3.1 \text{ Hz}$, 1H, OCHCH₂), 3.69 (dd, $J = 16.1, 2.4 \text{ Hz}$, 1H, OCHCH₂), 3.46 (dd, $J = 16.0, 9.7 \text{ Hz}$, 1H, OCHCH₂), 2.65 (s, 3H, ArCH₃), 2.51 (s, 3H, ArCH₃). $^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl₃) δ [ppm] = 166.33, 159.31, 156.56, 137.31, 131.98, 131.23, 130.55, 129.89, 129.33, 127.16, 127.11, 127.04, 126.65, 124.41, 124.10, 123.80, 122.82, 69.65, 44.96, 22.16, 19.74. EA: berechnet für C₂₁H₁₉N₃O [%] C 76.57, H 5.81, N 12.76; gefunden [%] C 76.27, H 5.97, N 12.47.

1-(4-(*tert*-Butyl)phenyl)-2-(5,6-dimethyl-1,2,4-triazin-3-yl)ethan-1-ol (72)

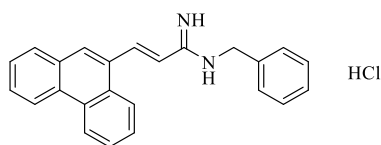
Hergestellt aus **24** (0.24 mg, 1.30 mmol) nach **AAV 20**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 25 %, Smp: 136 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 7.39–7.27 (m, 4H, H_{arom}), 5.25 (d, J = 4.4 Hz, 1H, OH), 5.15 (td, J = 6.8, 4.2 Hz, 1H, OCHCH₂), 3.20 (d, J = 6.9 Hz, 2H, OCHCH₂), 2.59 (s, 3H, ArCH₃), 2.49 (s, 3H, ArCH₃), 1.27 (s, 9H, C(CH₃)₃). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 164.80, 158.92, 155.79, 149.27, 142.26, 125.57, 124.79, 71.39, 46.17, 34.14, 31.16, 21.36, 18.90. EA: berechnet für C₁₇H₂₃N₃O [%] C 71.55, H 8.12, N 14.72; gefunden [%] C 71.54, H 8.39, N 14.77.

9.2.8 Analytische Daten der Nebenprodukte 73–81**(1*Z*,2*E*)-*N'*-Morpholino-3-(phenanthren-9-yl)-acrylimidamid (73)**

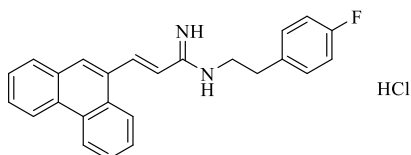
Isoliert aus **13** (0.25 g, 1.00 mmol) und 4-Aminomorpholin nach **AAV 16**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 35 %, Smp: 228 °C, $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 8.90 (d, J = 8.8 Hz, 1H, H_{arom}), 8.81 (d, J = 8.1 Hz, 1H, H_{arom}), 8.49–8.41 (m, 1H, H_{arom}), 8.19 (s, 1H, H_{arom}), 8.08 (d, J = 16.4 Hz, 1H, ArCHCHCN), 8.05 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H_{arom}), 7.72–7.62 (m, 2H, H_{arom}), 6.61 (d, J = 16.4 Hz, 1H, ArCHCHCN), 6.37 (s, 2H, NH₂), 3.83–3.68 (m, 4H, NCH₂CH₂O), 2.66 (s, 4H, NCH₂CH₂O). $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 159.05, 139.00, 131.54, 130.52, 129.83, 129.76, 129.00, 127.36, 127.20, 127.08, 126.80, 124.70, 124.17, 123.94, 123.17, 67.93, 66.24, 55.09, 40.88. EA: berechnet für C₂₁H₂₁N₃O [%] C 76.11, H 6.39, N 12.68; gefunden [%] 75.81, H 6.17, N 12.44.

(E)-N'-Benzyl-3-(phenanthren-9-yl)acrylimidamid Hydrochlorid (74)

Isoliert aus **XV** (0.10 g, 0.32 mmol) und Benzylamin nach **AAV 17**.

Hellgelber Feststoff, Ausbeute: 12 %, Smp: 170 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 9.01–8.75 (m, 2H, H_{arom}), 8.58–8.45 (m, 1H, H_{arom}), 8.20 (s, 1H, H_{arom}), 8.07 (dd, $J = 7.9, 1.6$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.88–7.67 (m, 3H, H_{arom}), 7.54–7.29 (m, 6H, H_{arom}), 7.07 (d, $J = 16.1$ Hz, 2H, ArCHCHCN), 4.71 (s, 1H, NCH_2Ar), 4.02 (s, 1H, NCH_2Ar).^{ooo} $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 160.05, 140.52, 136.12, 134.61, 131.14, 131.07, 130.84, 130.42, 129.93, 129.76, 129.43, 129.12, 129.00, 128.83, 128.74, 128.46, 128.31, 127.92, 127.89, 127.87, 126.78, 125.29, 124.02, 123.48, 119.50, 45.64, 42.59.^{ppp} HPLC (Meth. 1): $t_R = 12.73$ min, $\text{AUC} \geq 99$ %.

(1Z,2E)-N'-(4-Fluorphenethyl)-3-(phenanthren-9-yl)acrylimidamid Hydrochlorid (75)

Isoliert aus **XV** (0.20 g, 0.62 mmol) und 4-Fluorphenethylamin nach **AAV 17**.

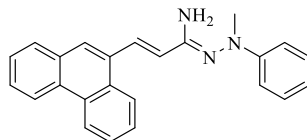
Hellgelber Feststoff, Ausbeute: 15 %, Smp: 125 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 9.62 (s, 1H, NH), 8.99–8.83 (m, 2H, H_{arom}), 8.73 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H, ArCHCHCN), 8.48 (dd, $J = 7.4, 2.2$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.19 (s, 1H, H_{arom}), 8.06 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.84–7.67 (m, 4H, H_{arom}), 7.47–7.37 (m, 2H, H_{arom}), 7.19 (t, $J = 8.7$ Hz, 2H, H_{arom}), 7.00 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H, ArCHCHCN), 3.67 (dd, $J = 8.4, 6.6$ Hz, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$), 3.01 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{Ar}$). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 161.06 (d, $^1J_{\text{CF}} = 242.0$ Hz), 159.48, 139.67, 134.32 (d, $^4J_{\text{CF}} = 2.9$ Hz), 130.74 (d, $^3J_{\text{CF}} = 7.9$ Hz), 130.62, 130.59, 130.55, 130.48, 130.20, 129.92, 129.39, 129.26,

^{ooo} Die Signale der NH Protonen konnten nicht detektiert werden.

^{ppp} Die Anzahl der Signale ist höher als kalkuliert.

128.23, 127.38 (d, $^4J_{\text{CF}} = 3.1$ Hz), 126.21, 124.65, 123.54, 122.97, 118.89, 115.07 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21.1$ Hz), 43.41, 32.46. HPLC (Meth. 1): $t_{\text{R}} = 13.07$ min, AUC = 98.9 %.

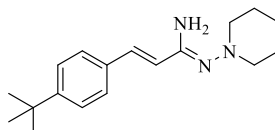
(1Z,2E)-N'-Methyl-3-(phenanthren-9-yl)-N'-phenylacrylohydrazonamid (76)



Isoliert aus **13** (0.20 g, 0.81 mmol) und *N*-Methyl-*N*-phenylhydrazin nach **AAV 16**.

Gelber Feststoff, Ausbeute: 20 %, Smp: 145 °C, ^1H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm] = 8.70–8.55 (m, 2H, H_{arom}), 8.17–8.07 (m, 1H, ArCHCHCN), 7.93 (s, 1H, H_{arom}), 7.86–7.76 (m, 2H, H_{arom}), 7.66–7.49 (m, 4H, H_{arom}), 7.25–7.18 (m, 2H, H_{arom}), 6.95–6.89 (m, 2H, H_{arom}), 6.86–6.75 (m, 2H, H_{arom} , ArCHCHCN), 5.20 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H, NH_2), 3.03 (s, 3H, NCH_3). ^{13}C -NMR (75 MHz, Chloroform-*d*) δ [ppm] = 159.00, 151.12, 131.95, 131.90, 131.51, 130.66, 130.47, 130.19, 129.06, 128.85, 127.22, 127.01, 126.87, 126.80, 125.97, 125.57, 124.29, 123.28, 122.57, 120.01, 115.48, 41.14. HPLC (Meth. 1): $t_{\text{R}} = 12.70$ min, AUC = 95.9 %.

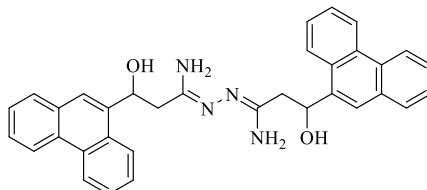
(1Z,2E)-3-(4-(*tert*-Butyl)phenyl)-N'-(piperidin-1-yl)acrylimidamid (77)



Isoliert aus **16** (0.31 mg, 1.53 mmol) und 1-Aminopiperidin nach **AAV 16**.

Hellgelber Feststoff, Ausbeute: 24 %, Smp: 199 °C, ^1H -NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 7.46–7.37 (m, 4H, H_{arom}), 7.16 (d, $J = 16.7$ Hz, 1H, ArCHCHCN), 6.36 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H, ArCHCHCN), 5.96 (s, 2H, NH_2), 1.68–1.56 (m, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.40 (s, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.28 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$). ^1H -NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄) δ [ppm] = 7.37–7.31 (m, 4H, H_{arom}), 7.10 (d, $J = 16.6$ Hz, 1H, ArCHCHCN), 6.33 (d, $J = 16.7$ Hz, 1H, ArCHCHCN), 2.53 (s, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.68–1.56 (m, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.38 (s, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.22 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$). ^{13}C -NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 155.76, 151.41, 133.77, 132.50, 126.96, 126.07, 123.46, 55.52, 34.86, 31.49, 25.62, 24.23. HPLC (Meth. 1): $t_{\text{R}} = 12.25$ min, AUC = 98.7 %.

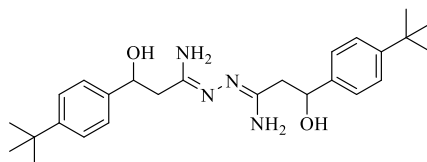
(Z)-N'-((Z)-1-Amino-3-hydroxy-3(phenanthren-9-yl)propyliden)-3-hydroxy-3-(phenanthren-9-yl)-propanhydrazonamid (78)



Hergestellt aus **13** (0.25 g, 1.00 mmol) nach **AAV 15**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 18 %, Smp: 145 °C, $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 8.93–8.88 (m, 2H, H_{arom}), 8.87–8.78 (m, 2H, H_{arom}), 8.36–8.30 (m, 2H, H_{arom}), 8.05 (s, 2H, H_{arom}), 8.02–7.97 (m, 2H, H_{arom}), 7.77–7.60 (m, 8H, H_{arom}), 6.07 (s, 4H, NH_2), 5.80 (dd, $J = 9.3, 3.2$ Hz, 3H, OH, OCHCH_2), 2.75 (dd, $J = 14.9, 2.9$ Hz, 2H, OCHCH_2), 2.54 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H OCHCH_2). $^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 154.94, 139.61, 131.55, 130.49, 129.75, 128.92, 127.24, 127.12, 126.93, 126.70, 124.65, 123.82, 123.72, 123.05, 67.88, 42.14.^{qqq} HPLC (Meth. 1): $t_R = 12.68$ min, $\text{AUC} \geq 99\%$. (ESI)MS-(+) m/z kalkuliert für $\text{C}_{34}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_2$ [M]: 526.2; gefunden $[\text{M}+\text{H}]^+$: 527.6.

(Z)-N'-((Z)-1-Amino-3-(4-(tert-butyl)phenyl)-3-hydroxypropylidene)-3-(4-(tert-butyl)phenyl)-3-hydroxypropanhydrazonamid (79)

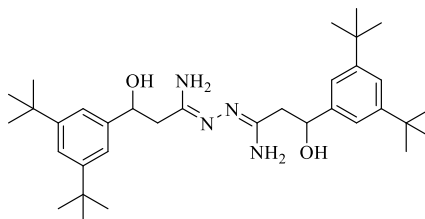


Isoliert aus **16** (0.20 g, 1.00 mmol) nach **AAV 15**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 14 %, Smp: 155 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 7.45–7.18 (m, 8H, H_{arom}), 6.03 (s, 4H, NH_2), 4.90 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, OCHCH_2), 2.39 (d, $J = 6.6$ Hz, 4H, OCHCH_2), 1.27 (s, 18H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 155.04, 149.10, 142.29, 125.50, 124.67, 70.03, 42.24, 34.13, 31.18. HPLC (Meth. 1): $t_R = 11.6$ min, $\text{AUC} \geq 99\%$.

^{qqq} Das Signal eines aromatischen Kohlenstoffatoms konnte nicht detektiert werden.

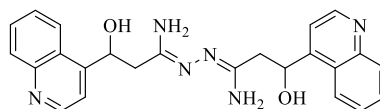
(Z)-N'-((Z)-1-Amino-3-(3,5-di-*tert*-butylphenyl)-3-hydroxypropyliden)-3-(3,5-di-*tert*-butylphenyl)-3-hydroxypropanhydrazonamid (80)



Hergestellt aus **17** (0.53 g, 2.40 mmol) nach **AAV 15**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 10 %, Smp: 160 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 7.26 (t, J = 1.9 Hz, 2H, H_{arom}), 7.22 (d, J = 1.8 Hz, 4H, H_{arom}), 5.88 (s, 4H, NH_2), 5.42 (s, 2H, OH), 4.90 (t, J = 6.5 Hz, 2H, OCHCH_2), 2.37 (d, J = 6.5 Hz, 4H, OCHCH_2), 1.29 (s, 36H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 154.43, 149.67, 144.60, 120.24, 119.78, 70.92, 42.87, 34.47, 31.33. EA: berechnet für $\text{C}_{34}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_2$ [%] C 74.14, H 9.88, N 10.17; gefunden [%] C 73.96, H 10.16, N 9.98.

(Z)-N'-((Z)-1-Amino-3-hydroxy-3-(chinolin-4-yl)propyliden)-3-hydroxy-3-(chinolin-4-yl)propanhydrazonamid (81)



Isoliert aus **18** (0.40 g, 2.00 mmol) nach **AAV 15**.

Weißer Feststoff, Ausbeute: 10 %, Smp: 148 °C, $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 8.91 (d, J = 4.4 Hz, 2H, H_{arom}), 8.33 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H_{arom}), 8.06 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H_{arom}), 7.82–7.75 (m, 2H, H_{arom}), 7.69–7.63 (m, 4H, H_{arom}), 5.80 (dd, J = 9.4, 3.7 Hz, 2H, OH), 2.71 (dd, J = 15.0, 3.7 Hz, 2H, OCHCH_2).^{rrr} $^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ [ppm] = 154.42, 150.90, 150.71, 148.17, 130.09, 129.29, 126.72, 125.59, 124.26, 118.20, 66.89, 41.96. HPLC (Meth. 1): t_R = 3.65 min, AUC $\geq$ 99 %.

^{rrr} Die Signale von zwei Methylenprotonen waren nicht zu detektieren.

9.3 Reaktionskontrolle, Kalibrierung und Stabilitätsmessungen

Reaktionskontrolle der Umsetzung von 13 zu 25 mittels HPLC-Analytik

Zu festgelegten Zeitpunkten ($t = 0, 1, 3, 5, 24$ Stunden) wurden aus dem Reaktionsansatz im Stickstoffgegenstrom Proben (Probenvolumen: 0.5 mL) entnommen. Die Proben wurden mit 0.5 mL Wasser gequenchet. Der sich bildende kolloidale Feststoff wurde mit einem Spritzenvorsatzfilter (Membranfilter: w/0.45 μ M PTFE) abfiltriert. Die Proben wurden mit 1.0 mL Acetonitril für die Chromatographie verdünnt und mittels HPLC-Analytik (Methode 1) vermessen.

Kalibrierung von 31

1.0 mg Substanz wurde in 1.0 mL Acetonitril gelöst. Es wurde eine Verdünnungsreihe mit 0.2 mg/mL, 0.4 mg/mL, 0.6 mg/mL, 0.8 mg/mL und 1 mg/mL hergestellt. Jede Verdünnung wurde dreifach mittels HPLC-Analytik (Methode 1) vermessen. Der Mittelwert der AUC's wurde gegen die Konzentration aufgetragen.

Probenvorbereitung und Stabilitätsmessung

1.0 mg der Substanz wurde in 50 μ L einer Mischung aus Tween20/Ethanol (7:3, V:V) als Stammlösung gelöst. Diese Lösung wurde mit Phosphatpuffer pH 7.5 verdünnt, sodass eine Endkonzentration von 0.8 mg/mL (**31**, **54**) erreicht wurde. 10 μ L dieser Lösung wurden zum Zeitpunkt $t = 0, 1, 3, 6, 24$ Stunden mittels HPLC-Analytik (Meth. 1) untersucht. Angegeben ist der relative Gehalt bezogen auf die Fläche unter der Kurve zum Zeitpunkt $t = 0$. Zwischen den Zeitintervallen wurden die Proben auf einem IKA Basic Shaker bei Raumtemperatur geschüttelt.

Bestimmung des Protonierungsgrads von 64

95.0 mg Substanz wurden in 10 mL Ethanol, p.a. gelöst. Es wurden 1.0 mL einer 0.01 M HCl zugesetzt. Die Titration erfolgte mit einer 0.1 M NaOH Maßlösung. Die Endpunktsbestimmung erfolgte mittels Potentiometer. Nach Zusatz von 0.1 mL der 0.1 M NaOH-Maßlösung fand ein kleiner Potentialsprung statt, der durch die Neutralisation der überschüssigen HCl hervorgerufen wurde. Anschließend erfolgte die Neutralisation des Amidin- und Chinolinstickstoffes.

9.4 Untersuchung der biologischen Aktivität

9.4.1 Untersuchung der antiplasmodialen *in vitro* Aktivität gegenüber den asexuellen Blutstadien von *Plasmodium falciparum*

Die Evaluation der *in vitro* Aktivität gegenüber den asexuellen Blutstadien von *P. falciparum* (Pf3D7/PfDd2) sowie die Bestimmung der Zytotoxizität gegenüber HepG2 Zellen erfolgte am Institut für Tropenmedizin des Universitätsklinikums Tübingen durch die Arbeitsgruppe von PD Dr. Benjamin Mordmüller.

Die *in vitro* Aktivität gegenüber dem chloroquin-sensitiven Laborstamm *P. falciparum* 3D7, sowie dem multiresistenten Laborstamm PfDd2 wurde mittels eines Histidine-Rich Protein 2 (HRP2) Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) evaluiert.¹⁶⁵

Probenvorbereitung: Die Laborstämme Pf3D7, PfDd2 wurden kontinuierlich kultiviert.^{166,167} Von den Testverbindungen wurden DMSO-Stammlösungen hergestellt, die eine finale Konzentrationen von 25-100 mM aufwiesen. Die Stammlösungen wurden bis zum Gebrauch bei -20 °C gelagert. Mit diesen Stammlösungen wurden Verdünnungsreihen hergestellt, bei denen jeder weitere Verdünnungsschritt mit Nährmedium (RPMI 1640, 25 mM HEPES, 2.4 mM L-Glutamin, 50 µg/mL Gentamycin, 0.5 % (m/V) AlbuMAX®) erfolgte.

Durchführung: Die Testlösungen wurden in 96-Well-Mikrotiterplatten vorgelegt, anschließend wurden *P. falciparum* Ringstadien in Nährmedium (1.5 % Hämatokrit, 0,05 % Parasitämie) hinzugegeben. Die dreitägige Kultivierung fand unter sauerstoffarmen Bedingungen (5 % O₂, 5 % CO₂, 90 % N₂) bei 37 °C statt. Für eine Wachstumskontrolle der Pf-Zellen wurden Ringstadien ohne Testverbindung kultiviert. Anschließend wurden die Kulturen bei -20 °C eingefroren, bis die Auswertung erfolgte. Als interne Kontrolle diente bei jedem Assay das 4-Aminochinolin Chloroquin.

Auswertung: Die Auswertung erfolgte mittels HRP2-Sandwich-ELISA. Die Berechnung der IC₅₀-Werte erfolgte mittels nichtlinearer Regressionsanalyse der halblogarithmischen Konzentrations-Effekt-Kurve.¹⁶⁸ Die angegebenen Werte sind Mittelwerte aus mind. zwei unabhängigen Testdurchläufen mit zweifacher Ausführung, jeweils mit 12 seriellen Verdünnungen.

9.4.2 Untersuchung der Zytotoxizität gegen HepG₂ Zellen

Als humane Zellen dienten HepG₂-Zellen, eine hepatozelluläre Karzinomazelllinie. Die Auswertung erfolgte mittels des Neutralrot-Assays.¹⁶⁹

Probenvorbereitung: Von den zu testenden Verbindungen wurden Stammlösungen in DMSO mit einer Konzentration von 1 mM hergestellt. Diese Stammlösungen dienten als Ausgangslösungen zur Herstellung von Verdünnungsreihen (12 Verdünnungen), bei denen jeder weitere Verdünnungsschritt mit PBS Puffer durchgeführt wurde.^{sss} Mit den Kontrollsubstanzen Chloroquin und Blasticidin wurde in gleicher Weise verfahren.

Durchführung: Tag 1: Auf eine 96-Well Mikrotiterplatte wurden in jedes Well 20³ HepG₂ Zellen gegeben. Die Platte wurde 24 h bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert. Tag 2: Anschließend wurden je 100 µL/Well der zu testenden Verdünnungen (Test- und Kontrollsubstanzen) auf die Zellen gegeben und es wurde weitere 24 Stunden inkubiert. Tag 3: Zunächst wurde eine mikroskopische Kontrolle der zytotoxischen Auswirkungen durchgeführt: Wachstumsinhibition, Vakuolisierung, Abkuglung, Lyse. Anschließend wurden die Zellen mit PBS Puffer gewaschen. 100 µL/Well Neutralrot-Lösung wurde zu den Zellen gegeben. Nach dreistündiger Inkubation (37 °C, 5 % CO₂) wurden die Zellen erneut mit PBS Puffer gewaschen und mit Lysis-Lösung (H₂O/Ethanol/Essigsäure; 4.9:5:0.1; V/V/V) versetzt. Nach zehnminütiger Inkubation erfolgte die Auswertung.

Auswertung: Die Auswertung erfolgte mittels Spektrometer bei 570 nm, Referenzfilter 620 nm. Die Auswertung der Absorptionen erfolgte mit der RStudio® elisa Software.^{ttt} Die angegebenen Werte sind Mittelwerte aus mind. zwei unabhängigen Testdurchläufen mit zweifacher Ausführung, jeweils mit 12 seriellen Verdünnungen.

9.4.3 Untersuchung der antiplasmodialen *in vivo* Aktivität mittels *P. berghei* Mausmodell

Die *in vivo* Evaluation erfolgte durch die Arbeitsgruppe von Dr. *Sergio Wittlin* am Swiss Tropical and Public Health Institute.

^{sss} PBS: Phosphatgepufferte Salzlösung.

^{ttt} Der Neutralrot-Assay basiert auf der Eigenschaft gesunder Zellen, den Farbstoff Neutralrot in den Lysosomen zu speichern. Tote Zellen werden nicht angefärbt, da ihre Lysosomen nicht mehr intakt sind und sie somit kein Neutralrot speichern können.

Probenvorbereitung: Die zu untersuchenden Testverbindungen wurden in einer Lösung von Tween80/Ethanol (7/3 (V/V)) gelöst oder suspendiert. Anschließend wurde mit dem 10fachen Volumen an Wasser verdünnt.

Präparation der Testtiere: Tag 0. Drei bis fünf NMRI-Mäuse (25 ± 2 g) wurden intravenös mit dem *P. berghei*-Stamm ANKA infiziert ($2 \cdot 10^7$ parasitierte Erythrozyten pro mL, aus heparinisiertem Blut einer Donormaus (ca. 30 % Parasitämie).

Durchführung: 2-4 h postinfektionem: Die Mäuse der Versuchgruppe wurde peroral mit einer Dosis von 50 mg/kg KG behandelt, wobei die Testverbindungen als Lösung oder Suspension verabreicht wurden. Tag 1-3: Nach 24, 48 und 72 Stunden erfolgte eine erneute Applikation der Testverbindungen mit einer Dosis von 50 mg/kg KG, peroral. Tag 4: 96 Stunden nach der Infektion und 24 Stunden nach der letzten Dosis erfolgte die durchflusszytometrische Bestimmung der Parasitämie. Die Mäuse der Kontrollgruppe wurden nach der Bestimmung der Parasitämie eingeschläfert.

Auswertung: Die Aktivität wird berechnet aus der Differenz des Mittelwertes der Parasitämie der Versuchstiere und der Kontrolltiere.

$$\text{Aktivität} = 100 - \left(\frac{\bar{X} \text{ Parasitämie (Versuchstiere)}}{\bar{X} \text{ Parasitämie (Kontrolltiere)}} \cdot 100 \right)$$

10 Literaturverzeichnis

- (1) World Malaria Report **2017**, World Health Organization, Genf, Schweiz.
- (2) S1 Leitlinie: Diagnostik und Therapie der Malaria. Deutsche Gesellschaft für Tropenmedizin und internationale Gesundheit, **2016**, 042-001, 1–33.
- (3) Siraj, A. S.; Santos-Vega, M.; Bouma, M. J.; Yadeta, D.; Ruiz Carrascal, D. Pascual, M. Altitudinal changes in Malaria. *Science* **2014**, *343* (6175), 1154–1159.
- (4) Loiseau, C.; Harrigan, R. J.; Cornel, A. J.; Guers, S. L.; Dodge, M.; Marzec, T.; Carlson, J. S.; Seppi, B.; Sehgal, R. N. M. First evidence and predictions of *Plasmodium* transmission in alaskan bird populations. *PLoS One* **2012**, *7* (9), 7–11.
- (5) Millar, S. B.; Cox-Singh, J. Human infections with *Plasmodium knowlesi*-zoonotic malaria. *Clin. Microbiol. Infect.* **2015**, *21* (7), 640–648.
- (6) Frischknecht, F.; Baldacci, P.; Martin, B.; Zimmer, C.; Thiberge, S.; Olivo-Marin, J. C.; Shorte, S. L.; Ménard, R. Imaging movement of malaria parasites during transmission by anopheles mosquitoes. *Cell. Microbiol.* **2004**, *6* (7), 687–694.
- (7) Sherman, I. W.; Tanigoshi, L. Incorporation of ¹⁴C-amino acids by malarial plasmodia (*Plasmodium lophurae*). VI. Changes in the kinetic constants of amino acid transport during infection. *Exp. Parasitol.* **1974**, *35* (3), 369–373.
- (8) Phillips, M. A.; Burrows, J. N.; Manyando, C.; Van Huijsduijnen, R. H.; Van Voorhis, W. C.; Wells, T. N. C. Malaria. *Nat. Rev. Dis. Prim.* **2017**, *3* (17050), 1–24.
- (9) Schmutzhard, E.; Aichner, F.; Gerstenbrand, F. Zerebrale Malaria - Epidemiologie, Pathologie, Klinik, Therapie. **1983**, *5*, 115–121.
- (10) Robert Koch Institut, Ratgeber für Ärzte Malaria, Letzte Aktualisierung April 2015.
https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Malaria.html. (Abfragedatum: 01.05.2018)
- (11) Guidelines for the Treatment of Malaria, World Health Organization. 3rd edition,

2015, 1-314.

- (12) Mazier, D.; Rénia, L.; Snounou, G. A Pre-emptive Ssrike against malaria's stealthy hepatic forms. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2009**, 8 (11), 854–864.
- (13) Tu, Y. The discovery of artemisinin (qinghaosu) and gifts from chinese medicine. *Nat. Med.* **2011**, 17 (10), 1217–1220.
- (14) Jansen, F. H. The pharmaceutical death-ride of dihydroartemisinin. *Malar. J.* **2010**, 9 (1), 1–5.
- (15) Hemingway, J.; Shretta, R.; Wells, T. N. C.; Bell, D.; Djimdé, A. A.; Achee, N.; Qi, G. Tools and strategies for malaria control and elimination: What do we need to achieve a grand convergence in malaria? *PLoS Biol.* **2016**, 14 (3), 1–14.
- (16) Regules, J. A.; Cummings, J. F.; Ockenhouse, C. F. The RTS,S vaccine candidate for malaria. *Expert Rev. Vaccines.* **2011**, 10 (5), 589–599.
- (17) European Medicine Agency, First malaria vaccine receives positive scientific opinion from EMA. Pressemitteilung. Juni **2015**.
- (18) World Health Organization. Malaria vaccine: WHO position paper, January 2016–Recommendations. *Vaccine.* **2018**, 36 (25), 3576-3577.
- (19) White, M. T.; Verity, R.; Griffin, J. T.; Asante, K. P.; Owusu-Agyei, S.; Greenwood, B.; Drakeley, C.; Gesase, S.; Lusingu, J.; Ansong, D.; Adjei, S.; Agbenyega, T.; Ogutu, B.; Otieno, L.; Otieno, W.; Agnandji, S. T.; Lell, B.; Kremsner, P.; Hoffman, I.; Martinson, F.; Kamthunzu, P.; Tinto, H.; Valea, I.; Sorgho, H.; Oneko, M.; Otieno, K.; Hamel, M. J.; Salim, N.; Mtoro, A.; Abdulla, S.; Aide, P.; Sacarlal, J.; Aponte, J. J.; Njuguna, P.; Marsh, K.; Bejon, P.; Riley, E. M.; Ghani, A. Immunogenicity of the RTS,S/AS01 malaria vaccine and implications for duration of vaccine efficacy: secondary analysis of data from a phase 3 randomised controlled trial. *Lancet Infect. Dis.* **2015**, 15 (12), 1450-1458.
- (20) Clemens, J.; Moorthy, V. Implementation of RTS,S/AS01 malaria vaccine - The need for further evidence. *N. Engl. J. Med.* **2016**, 374 (26), 2595–2596.
- (21) Gosling, R.; Von Seidlein, L. The future of the RTS,S/AS01 malaria vaccine : An alternative development plan. *PLoS Med.* **2016**, 13 (4), 1–6.

-
- (22) Croft, A. M. A Lesson Learnt: The rise and fall of Lariam and Halfan. *J. R. Soc. Med.* **2007**, *100* (4), 170–174.
- (23) Bourdeau, EL, Webster HK, Pavannand, K, T. L. Type II Mefloquine resistance in thailand. *Lancet* **1982**, *320* (8311), 1335.
- (24) Imwong, M.; Suwannasin, K.; Kunasol, C.; Sutawong, K.; Mayxay, M.; Rekol, H.; Smithuis, F. M.; Hlaing, T. M.; Tun, K. M.; van der Pluijm, R. W.; Tripura, R.; Miotto, O.; Menard, D.; Dhorda, M.; Day, N. P. J.; White, N. J.; Dondorp, A. M. The spread of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* in the greater mekong subregion: A molecular epidemiology observational study. *Lancet Infect. Dis.* **2017**, *17* (5), 491–497.
- (25) Imwong, M.; Hien, T. T.; Thuy-Nhien, N. T.; Dondorp, A. M.; White, N. J. Spread of a single multidrug resistant malaria parasite lineage (*PfPailin*) to vietnam. *Lancet Infect. Dis.* **2017**, *17* (10), 1022–1023.
- (26) Sanchez, C. P.; Dave, A.; Stein, W. D.; Lanzer, M. Transporters as mediators of drug resistance in *Plasmodium falciparum*. *Int. J. Parasitol.* **2010**, *40* (10), 1109–1118.
- (27) Martin, R. E.; Marchetti, R. V.; Cowan, A. I.; Howitt, S. M.; Bröer, S.; Kirk, K. chloroquine transport via the malaria parasite's chloroquine resistance transporter. *Science* **2009**, *325* (5948), 1680–1682.
- (28) Fidock, D. A.; Nomura, T.; Talley, A. K.; Cooper, R. A.; Dzekunov, S. M.; Ferdig, M. T.; Ursos, L. M. B.; Sidhu, A. B. S.; Naude, B.; Deitsch, K. W.; Su, X. Z.; Wootton, J. C.; Roepe, P. D.; Wellems, T. E.; Bir Singh Sidhu, A.; Naudé, B.; Deitsch, K. W.; Su, X. Z.; Wootton, J. C.; Roepe, P. D.; Wellems, T. E. Mutations in the *P. falciparum* digestive vacuole transmembrane protein *PfCRT* and evidence for their role in chloroquine resistance. *Mol. Cell* **2000**, *6* (4), 861–871.
- (29) Djimdé, A.; Doumbo, O.K.; Cortese, J.F.; Kayentao, K.; Doumbo, S.; Diourté, Y.; Coulibaly, D.; Dicko, A.; Su, X.Z.; Nomura, T.; Fidock, D.A.; Wellems, T.E.; Plowe, C.V. A molecular marker for chloroquine-resistant *falciparum* malaria. *N Engl J Med.* **2001**, *344* (4), 257–263.
- (30) Foote, S. J.; Thompson, J. K.; Cowman, A. F.; Kemp, D. J. Amplification of the

- multidrug resistance gene in some chloroquine-resistant isolates of *P. falciparum*. *Cell* **1989**, 57 (6), 921–930.
- (31) Müller, I. B.; Hyde, J. E. Parasite resistance. *Future Microbiol.* **2010**, 5 (12), 1857–1873.
- (32) Nkrumah, L. J.; Riegelhaupt, P. M.; Moura, P.; Johnson, D. J.; Patel, J.; Hayton, K.; Ferdig, M. T.; Wellems, T. E.; Akabas, M. H.; Fidock, D. A. Probing the multifactorial basis of *Plasmodium falciparum* quinine resistance: Evidence for a strain-specific contribution of the sodium-proton exchanger PfNHE. *Mol. Biochem. Parasitol.* **2009**, 165 (2), 122–131.
- (33) Warhurst, D. C. Understanding resistance to antimalarial 4-aminoquinolines, cinchona alkaloids and the highly hydrophobic arylaminoalcohols. *Curr. Sci.* **2007**, 92 (11), 1556–1560.
- (34) Burrows, J. N.; Hooft Van Huijsduijnen, R.; Möhrle, J. J.; Oeuvray, C.; Wells, T. N. Designing the next generation of medicines for malaria control and eradication. *Malar. J.* **2013**, 12 (1), 1–20.
- (35) Burrows, J. N.; Duparc, S.; Gutteridge, W. E.; Hooft Van Huijsduijnen, R.; Kaszubska, W.; Macintyre, F.; Mazzuri, S.; Möhrle, J. J.; Wells, T. N. C. New developments in anti-malarial target candidate and product profiles. *Malar. J.* **2017**, 16 (1), 1–29.
- (36) McNamara, C. W.; Lee, M. C. S.; Lim, C. S.; Lim, S. H.; Roland, J.; Nagle, A.; Simon, O.; Yeung, B. K. S.; Chatterjee, A. K.; McCormack, S. L.; Manary, M. J.; Zeeman, A. M.; Dechering, K. J.; Kumar, T. R. S.; Henrich, P. P.; Gagaring, K.; Ibanez, M.; Kato, N.; Kuhen, K. L.; Fischli, C.; Rottmann, M.; Plouffe, D. M.; Bursulaya, B.; Meister, S.; Rameh, L.; Trappe, J.; Haasen, D.; Timmerman, M.; Sauerwein, R. W.; Suwanarusk, R.; Russell, B.; Renia, L.; Nosten, F.; Tully, D. C.; Kocken, C. H. M.; Glynn, R. J.; Bodenreider, C.; Fidock, D. A.; Diagana, T. T.; Winzeler, E. A. Targeting *Plasmodium* PI(4)K to eliminate malaria. *Nature* **2013**, 504 (7479), 248–253.
- (37) Younis, Y.; Street, L. J.; Waterson, D.; Witty, M. J.; Chibale, K. Cell-based medicinal chemistry optimization of high throughput screening hits for orally active antimalarials. Part 2: Hits from softfocus kinase and other libraries. *J. Med.*

- Chem.* **2013**, *56* (20), 7750–7754.
- (38) Okombo, J.; Chibale, K. Insights into integrated lead generation and target identification in malaria and tuberculosis drug discovery. *Acc. Chem. Res.* **2017**, *50* (7), 1606–1616.
- (39) Chapelein, C. L.; Groll, M. Rationales Design eines Proteasominhibitors als Anti-Malaria-Wirkstoff, *Angew. Chem.* **2016**, *128*, 6478–6480.
- (40) Santos CB¹, Lobato CC, Braga FS, Costa Jda S, Favacho HA, Carvalho JC, Macedo WJ, Brasil Ddo S, Silva CH, Silva Hage-Melim LI. Rational design of antimalarial drugs using molecular modeling and statistical analysis. *Curr Pharm Des.* **2015**, *21* (28), 4112-4127.
- (41) Paquet, T.; Le Manach, C.; Cabrera, D. G.; Younis, Y.; Henrich, P. P.; Abraham, T. S.; Lee, M. C. S.; Basak, R.; Ghidelli-Disse, S.; Lafuente-Monasterio, M. J.; Bantscheff, M.; Ruecker, A.; Blagborough, A. M.; Zakutansky, S. E.; Zeeman, A. M.; White, K. L.; Shackleford, D. M.; Mannila, J.; Morizzi, J.; Scheurer, C.; Angulo-Barturen, I.; Santosmartínez, M.; Ferrer, S.; Sanz, L. M.; Gamo, F. J.; Reader, J.; Botha, M.; Dechering, K. J.; Sauerwein, R. W.; Tungtaeng, A.; Vanachayangkul, P.; Lim, C. S.; Burrows, J.; Witty, M. J.; Marsh, K. C.; Bodenreider, C.; Rochford, R.; Solapure, S. M.; Jiménez-Díaz, M. B.; Wittlin, S.; Charman, S. A.; Donini, C.; Campo, B.; Birkholtz, L. M.; Khanson, K.; Drewes, G.; Kocken, C. M.; Delves, M. J.; Leroy, D.; Fidock, D. A.; Waterson, D.; Street, L. J.; Chibale, K. Antimalarial efficacy of MMV390048, an inhibitor of *Plasmodium* phosphatidylinositol 4-Kinase. *Sci. Transl. Med.* **2017**, *9* (387), 1-14.
- (42) Yuthavong, Y.; Tarnchompoo, B.; Vilaivan, T.; Chitnumsub, P.; Kamchonwongpaisan, S.; Charman, S. A.; McLennan, D. N.; White, K. L.; Vivas, L.; Bongard, E.; Thongphanchang, C.; Taweechai, S.; Vanichtanankul, J.; Rattanajak, R.; Arwon, U.; Fantauzzi, P.; Yuvaniyama, J.; Charman, W. N.; Matthews, D. Malarial dihydrofolate reductase as a paradigm for drug development against a resistance-compromised target. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2012**, *109* (42), 16823–16828.
- (43) Jiménez-díaz, M. B.; Ebert, D.; Salinas, Y.; Pradhan, A.; Lehane, A. M.; Loughlin, K. G. O.; Shackleford, D. M.; Almeida, M. J. De; Carrillo, A. K.; Clark, J. A.;

- Dennis, A. S. M.; Diep, J.; Deng, X.; Duffy, S.; Endsley, A. N.; Fedewa, G.; Armand, W.; Gómez, M. G.; Holbrook, G.; Kim, C. C.; Liu, J.; Lee, M. C. S.; Matheny, A.; Martínez, M. S.; Miller, G.; Rodríguez-alejandro, A.; Sanz, L.; Sigal, M.; Spillman, N. J.; Stein, P. D.; Wang, Z.; Zhu, F.; Waterson, D.; Knapp, S.; Shelat, A.; Avery, V. M.; Fidock, D. A.; Charman, S. A.; Mirsalis, J. C.; Ma, H.; Ferrer, S.; Kirk, K.; Angulo-barturen, I.; Dennis, E.; Derisi, J. L.; Floyd, D. M.; Guy, R. K.; Jiménez-díaz, M. B.; Ebert, D.; Salinas, Y.; Pradhan, A.; Lehane, A. M. (+)-SJ733, a clinical candidate for malaria that acts through ATP4 to induce rapid host-mediated clearance of *Plasmodium*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2015**, *112* (42), E5764–E5764.
- (44) Goldgof, G. M.; Durrant, J. D.; Otilie, S.; Vigil, E.; Allen, K. E.; Gunawan, F.; Kostylev, M.; Henderson, K. A.; Yang, J.; Schenken, J.; LaMonte, G. M.; Manary, M. J.; Murao, A.; Nachon, M.; Stanhope, R.; Prescott, M.; McNamara, C. W.; Slayman, C. W.; Amaro, R. E.; Suzuki, Y.; Winzeler, E. A. Comparative chemical genomics reveal that the spiroindolone antimalarial KAE609 (Cipargamin) Is a P-Type ATPase inhibitor. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 1–13.
- (45) Coteron, J. M.; Marco, M.; Esquivias, J.; Deng, X.; White, K. L.; White, J.; Koltun, M.; El Mazouni, F.; Kokkonda, S.; Katneni, K.; Bhamidipati, R.; Shackleford, D. M.; Angulo-Barturen, I.; Ferrer, S. B.; Jiménez-Díaz, M. B.; Gamo, F. J.; Goldsmith, E. J.; Charman, W. N.; Bathurst, I.; Floyd, D.; Matthews, D.; Burrows, J. N.; Rathod, P. K.; Charman, S. A.; Phillips, M. A. Structure-guided lead optimization of triazolopyrimidine-ring substituents identifies potent *Plasmodium falciparum* dihydroorotate dehydrogenase inhibitors with clinical candidate potential. *J. Med. Chem.* **2011**, *54* (15), 5540–5561.
- (46) Nagle, A.; Wu, T.; Kuhen, K.; Gagaring, K.; Borboa, R.; Francek, C.; Chen, Z.; Plouffe, D.; Lin, X.; Caldwell, C.; Ek, J.; Skolnik, S.; Liu, F.; Wang, J.; Chang, J.; Li, C.; Liu, B.; Hollenbeck, T.; Tuntland, T.; Isbell, J.; Chuan, T.; Alper, P. B.; Fischli, C.; Brun, R.; Lakshminarayana, S. B.; Rottmann, M.; Diagana, T. T.; Winzeler, E. A.; Glynne, R.; Tully, D. C.; Chatterjee, A. K. Imidazolopiperazines: Lead optimization of the second-generation antimalarial agents. *J. Med. Chem.* **2012**, *55* (9), 4244–4273.
- (47) Charman, S. A.; Arbe-Barnes, S.; Bathurst, I. C.; Brun, R.; Campbell, M.;

- Charman, W. N.; Chiu, F. C. K.; Chollet, J.; Craft, J. C.; Creek, D. J.; Dong, Y.; Matile, H.; Maurer, M.; Morizzi, J.; Nguyen, T.; Papastogiannidis, P.; Scheurer, C.; Shackleford, D. M.; Sriraghavan, K.; Stingelin, L.; Tang, Y.; Urwyler, H.; Wang, X.; White, K. L.; Wittlin, S.; Zhou, L.; Vennerstrom, J. L.; Synthetic ozonide drug candidate OZ439 offers new hope for a single-dose cure of uncomplicated malaria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2011**, *108* (11), 4400–4405.
- (48) Flannery, E. L.; Chatterjee, A. K.; Winzeler, E. A. Antimalarial drug discovery: Approaches and progress towards new medicines. *Nat. Rev. Microbiol* **2014**, *11* (12), 849–862.
- (49) Fidock, D. A.; Rosenthal, P. J.; Croft, S. L.; Brun, R.; Nwaka, S. Antimalarial drug discovery: Efficacy models for compound screening. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2004**, *3* (6), 509–520.
- (50) Medicine for malaria venture. MMV-supported projects. *Global Portfolio of Antimalarial Medicine* **2018**. (Abfragedatum: 01.05.2018)
- (51) Achan, J.; Talisuna, A. O.; Erhart, A.; Yeka, A.; Tibenderana, J. K.; Baliraine, F. N.; Rosenthal, P. J.; D'Alessandro, U. Quinine, an old anti-malarial drug in a modern world: role in the treatment of malaria. *Malar. J.* **2011**, *10* (144), 1–12.
- (52) Greenwood, D. Review The quinine connection. *J. Antimicro. Chemother.* **2018**, *30*, 417–427.
- (53) Trenholme, C.M.; Williams, R. L.; Desjardins, R. E.; Frischer, H.; Carson, P. E.; Rieckmann, K. H.; Canfield, C. J. Mefloquine (WR142, 490) in the treatment of human malaria. *Science* **1975**, *190* (4216), 792–794.
- (54) Kitchen, L. W.; Vaughn, D. W.; Skillman, D. R. Reviews of anti-infective agents: Role of US military research programs in the development of US Food and Drug administration–approved antimalarial drugs. *Clin. Infect. Dis.* **2006**, *43* (1), 67–71.
- (55) Schmidt, L. H.; Crosby, R.; Rasco, J.; Vaughan, D. Antimalarial activities of various 4-quinolonemethanols with special attention to WR-142,490 (mefloquine). *Antimicrob. Agents Chemother.* **1978**, *13* (6), 1011–1030.
- (56) Premji, Z. G. Coartem®: The journey to the clinic. *Malar. J.* **2009**, *8*, 1–6.

-
- (57) Abdulla, S.; Sagara, I. Dispersible formulation of artemether/lumefantrine: Specifically developed for infants and young children. *Malar. J.* **2009**, *8*, 1–6.
- (58) Fachinformation Riamet®, Novartis. Stand 2002.(Abfragedatum: 01.05.2018)
- (59) Byakika-Kibwika, P.; Lamorde, M.; Mayanja-Kizza, H.; Merry, C.; Colebunders, B.; van Geertruyden, J. P. Update on the efficacy, effectiveness and safety of artemether-lumefantrine combination therapy for treatment of uncomplicated malaria. *Ther. Clin. Risk Manag.* **2010**, *6* (1), 11–20.
- (60) Tacon, C.; Guantai, E. M.; Smith, P. J.; Chibale, K. Synthesis, biological evaluation and mechanistic studies of totarol amino alcohol derivatives as potential antimalarial agents. *Bioorganic Med. Chem.* **2012**, *20* (2), 893–902.
- (61) Kobarfard, F.; Yardley, V.; Little, S.; Daryaei, F.; Chibale, K. Synthesis of aminoquinoline-based aminoalcohols and oxazolidinones and their antiparasitic activity. *Chem. Biol. Drug Des.* **2012**, *79* (3), 326–331.
- (62) Quiliano, M.; Mendoza, A.; Fong, K. Y.; Pabón, A.; Goldfarb, N. E.; Fabing, I.; Vettorazzi, A.; López de Cerain, A.; Dunn, B. M.; Garavito, G.; Wright, D. W.; Deharo, E.; Pérez-Silanes, S.; Aldana, I.; Galiano, S. Exploring the scope of new arylamino alcohol derivatives: Synthesis, antimalarial evaluation, toxicological studies, and target exploration. *Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist.* **2016**, *6* (3), 184–198.
- (63) Combrinck, J. M.; Mabothe, T. E.; Ncokazi, K. K.; Ambele, M. A.; Taylor, D.; Smith, P. J.; Hoppe, H. C.; Egan, T. J. Insights into the role of heme in the mechanism of action of antimalarials. *ACS Chem. Biol.* **2013**, *8* (1), 133–137.
- (64) Ziegler, J.; Linck, R.; Wright, D. W. Heme Aggregation Inhibitors : Antimalarial drugs targeting an essential biomineralization process. **2001**, 171–189.
- (65) Cohen, S. N., Phifer, K. O., Yielding, K. L. Complex formation between chloroquine and ferrihaemic acid in vitro, and its effect on the antimalarial action of chloroquine. *Nature* **1964**, *202* (3934), 805–806.
- (66) Chou, A. C.; Chevli, R.; Fitch, C. D. Ferriprotoporphyrin IX fulfills the criteria for identification chloroquine receptor of malaria parasites. *Biochemistry* **1980**, *19*, 1543–1549.

-
- (67) Ladan, H.; Nitzan, Y.; Malik, Z. The antibacterial activity of haemin compared with cobalt, zinc and magnesium protoporphyrin and its effect on potassium loss and ultrastructure of *staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett* **1993**, *112* (2), 173–177.
- (68) Sugioka, Y.; Suzuki, M.; Sugioka, K.; Nakano, M. A ferriprotoporphyrin IX-chloroquine complex promotes membrane phospholipid peroxidation: A possible mechanism for antimalarial action. *FEBS Lett.* **1987**, *223* (2), 251–254.
- (69) De Villiers, K. A. De; Marques, H. M.; Egan, T. J. The crystal structure of halofantrine – ferriprotoporphyrin IX and the mechanism of action of arylmethanol antimalarials. **2008**, *102*, 1660–1667.
- (70) De Villiers, K. A.; Gildenhuis, J.; Le Roex, T. Iron(III)protoporphyrin IX complexes of the antimalarial cinchona alkaloids quinine and quinidine. *ACS Chem. Biol.* **2012**, *7* (4), 666–671.
- (71) Basco, L.; Gillotin, C.; Gimenez, F.; Farinotti, R.; Le Bras, J. In vitro activity of the enantiomers of mefloquine, halofantrine and enpiroline against *Plasmodium falciparum*. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **1992**, *33* (5), 517–520.
- (72) Karle, J. M.; Olmeda, R.; Genera, L.; Milhous, W. K.; Plasmodium Falciparum: Role of absolute stereochemistry in the antimalarial activity of synthetic amino alcohol antimalarial agents. *Exp. Parasitol.* **1993**, *76*, 345–351.
- (73) Martin, C.; Gimenez, F.; Bangchang, K. N.; Karbwang, J.; Wainer, I. W.; Farinotti, R. Whole blood concentrations of mefloquine enantiomers in healthy thai volunteers. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1994**, *47*, 85–87.
- (74) Pham, Y.T.; Nosten, F.; Farinotti, R.; White, N.J.; Gimenez, F. Cerebral uptake of mefloquine enantiomers in fatal cerebral malaria. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* **1999**, *37* (1), 58–61.
- (75) Thompson, A. J.; Lummis, S. C. R. Antimalarial drugs inhibit human 5-HT₃ and GABA_A but not GABA_C receptors. *Br. J. Pharmacol.* **2008**, *153* (8), 1686–1696.
- (76) Gillespie, R. J.; Adams, D. R.; Bebbington, D.; Benwell, K.; Cliffe, I. A.; Dawson, C. E.; Dourish, C. T.; Fletcher, A.; Gaur, S.; Giles, P. R.; Jordan, A. M.; Knight, A. R.; Knutsen, L. J. S.; Lawrence, A.; Lerpiniere, J.; Misra, A.; Porter, R. H. P.;

- Pratt, R. M.; Shepherd, R.; Upton, R.; Ward, S. E.; Weiss, S. M.; Williamson, D. S. Antagonists of the human adenosine A_{2A}receptor. Part 1: Discovery and synthesis of thieno[3,2-D]pyrimidine-4-methanone derivatives. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2008**, *18* (9), 2916–2919.
- (77) Fletcher, A.; Jacob, L.; Knutsen, S.; Porter, R. H. P.; Weiss, S. M.; Shepherd, R. **2011**. (-)-Mefloquine to block purinergic receptors and to treat movement or neurodegenerative disorders. US, Patentnummer: US 6,197,788 B1. 06.03.2001.
- (78) Fletcher, A.; Shepherd, R. **2003**. Use of (+)-mefloquine for the treatment of malaria. US, Patentnummer: US6,664,397B1. 16.12.2003.
- (79) Schmidt, M.; Sun, H.; Rogne, P.; Scriba, G. K. E.; Griesinger, C.; Kuhn, L. T.; Reinscheid, U. M. Determining the absolute configuration of (+)-mefloquine HCl, the side-effect-reducing enantiomer of the antimalaria drug lariam. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (6), 3080–3083.
- (80) Reed, M. B.; Saliba, K. J.; Caruana, S. R.; Kirk, K.; Cowman, A. F. Pgh1 modulates sensitivity and resistance to multiple antimalarials in *Plasmodium falciparum*. *Nature* **2000**, *403* (6772), 906–909.
- (81) Cowman, A. F.; Galatis, D.; Thompson, J. K. Selection for mefloquine resistance in *Plasmodium falciparum* is linked to amplification of the pfmdr1 gene and cross-resistance to halofantrine and quinine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1994**, *91* (3), 1143–1147.
- (82) Wong, W.; Bai, X.; Sleebs, B. E.; Triglia, T.; Brown, A.; Thompson, J. K.; Jackson, K. E.; Hanssen, E.; Marapana, D. S.; Fernandez, I. S.; Ralph, S. A.; Cowman, A. F.; Scheres, S. H. W.; Baum, J. Mefloquine targets the *Plasmodium falciparum* 80S ribosome to inhibit protein synthesis, *Nat. Microbiol.* **2017**, *2* (17031), 1-9.
- (83) Khankischpur, M.; Walter, A. R. D.; C, T. K. Synthesis and antiplasmodial activity of 4-alkylidene(arylidene)hydrazono-1,3-oxazinan-2-ones and 3-hydroxy-*N'*-alkylidene-(arylidene)propanehydrazonamides. *Aus. J. Chem.* **2010**, 1430–1436.
- (84) Leven, M.; Held, J.; Duffy, S.; Tschan, S.; Sax, S.; Kamber, J.; Frank, W.; Kuna, K.; Geffken, D.; Siethoff, C.; Barth, S.; Avery, V. M.; Wittlin, S.; Mordmüller, B.; Kurz, T. Blood schizontocidal and gametocytocidal activity of 3-hydroxy-*N'*-

- arylidenepropanehydrazonamides: A new class of antiplasmodial compounds. *J. Med. Chem.* **2014**, 57 (19), 7971–7976.
- (85) Leven, M.; Knaab, T. C.; Held, J.; Duffy, S.; Meister, S.; Fischli, C.; Meitzner, D.; Lehmann, U.; Lungerich, B.; Kuna, K.; Stahlke, P.; Delves, M. J.; Buchholz, M.; Winzeler, E. A.; Avery, V. M.; Mordmüller, B.; Wittlin, S.; Kurz, T. 3-Hydroxy-*N'*-arylidenepropanehydrazonamides with halo-substituted phenanthrene scaffolds cure *P. berghei* infected mice when administered perorally. *J. Med. Chem.* **2017**, 60 (14), 6036–6044.
- (86) Kurz, T.; Khankischpur, M. Synthesis and reactivity of 4-aralkoxy(alkoxy)-5,6-dihydro-2H-1,3-oxazine-2-ones. *Synthesis*. **2009**, 2009 (23), 4068–4074.
- (87) Pinner, A.; Klein, F. The conversion of nitriles to imides. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1891**, 23, 2917–2919.
- (88) Pinner, A.; Klein, Fr. Über die Umwandlung der Nitrile in Imide. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1878**, 11 (2), 1475–1487.
- (89) Roger, R.; Neilson, D. G. The chemistry of imidates. *Chem. Rev.* **1961**, 61 (2), 179–211.
- (90) Pinner, A. Klein Fr. Umwandlung der Nitrile in Imide. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1877**, 10 (2), 1889–1897.
- (91) Pfaff, D.; Nemecek, G.; Podlech, J. A lewis acid-promoted pinner reaction. *Beilstein J. Org. Chem.* **2013**, 9, 1572–1577.
- (92) Leven, M. Synthese und antimikrobielle Eigenschaften von *N*-aminooxyalkylsubstituierten 8-Aminochinolinen, 2-Hydroxyaceto- und 3-Hydroxypropanhydrazonamiden. Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **2013**.
- (93) Jagadeesh, R. V.; Junge, H.; Beller, M. Green synthesis of nitriles using non-noble metal oxides-based nanocatalysts. *Nat. Commun.* **2014**, 5, 1–8.
- (94) Skraup, Zd. H. Synthetische Versuche in der Chinolinreihe. Monatshefte für Chemie 1881, 2 (1), 139–170.
- (95) Denmark, S. E.; Venkatraman, S. On the mechanism of the Skraup-Doebner-Von

- Miller quinoline synthesis. *J. Org. Chem.* **2006**, 71 (4), 1668–1676.
- (96) Badger, G. M., Crocker, H. P., Ennis, B. C., Gayler, J. A., Matthwes, W. E., Raper, W. G. C., Samuel, E. L., Spotswood, T. M. Studies on the Doebner-Miller, Skraup, and related reactions. I. Isolation of intermediates in the formation of quinolines. *Aust. J. Chem.* **1963**, 16 (5), 814–827.
- (97) (94) Gültekin, Zeynep; Frey, W. An efficient method for the preparation of 2,2,4-trisubstituted 1,2-dihydroquinolines using catalytic amount $\text{Bi}(\text{OTf})_3$ as catalyst. *Arkivoc* **2012**, 250–261.
- (98) Fiedler, H. Notiz über die Verwendung von Polyphosphorsäure bei der Reaktion nach Doebner-v. Miller. *J. prakt. Chem.* **1961**, 13 (1–2), 86–89.
- (99) Yale, H. L.; Bernstein, J. The skraup reaction with acrolein and its derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, 70 (1), 254.
- (100) Jain, R.; Jain, S.; Gupta, R. C.; Anand, N.; Dutta, G.P.; Puri, S. K. Synthesis of amino acid derivatives of 8-[(4-amino-1-methylbutyl)amino]-6-methoxy-4-substituted/4,5-disubstituted quinolines as potential antimalarial agents. *Ind. J. Chem.* **1994**, 33B, 251–254.
- (101) Sivaprasad, G.; Rajesh, R.; Perumal, P. T. Synthesis of quinaldines and lepidines by a Doebner-Miller reaction under thermal and microwave irradiation conditions using phosphotungstic acid. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47 (11), 1783–1785.
- (102) Ranu, B. C.; Hajra, A.; Jana, U. Microwave-assisted simple synthesis of quinolines from anilines and alkyl vinyl ketones on the surface of silica gel in the presence of indium(III) chloride. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41 (4), 531–533.
- (103) Sloop, J. C.; Bumgardner, C. L.; Loehle, W. D. Synthesis of fluorinated heterocycles. *J. Fluor. Chem.* **2002**, 118 (1–2), 135–147.
- (104) Shiraki, H.; Kozar, M. P.; Melendez, V.; Hudson, T. H.; Ohrt, C.; Magill, A. J.; Lin, A. J. Antimalarial activity of novel 5-aryl-8-aminoquinoline derivatives. *J. Med. Chem.* **2011**, 54 (1), 131–142.
- (105) Madugula, S. R. M.; Thallapelly, S.; Bandarupally, J.; Yadav, J. S. **2007**. Process for the synthesis of quinoline derivatives. US, Patentnummer: US2007/012370A1.

31.05.2007.

- (106) Bernthsen, A.; Bender, F. Ueber die Bildung von Nitrilbasen aus organischen Säuren und Aminen; Synthese der Acridine. *Eur. J. Inorg. Chem.* **1883**, 1802–1819.
- (107) Barros, F. W. A.; Silva, T. G.; Da Rocha Pitta, M. G.; Bezerra, D. P.; Costa-Lotufo, L. V.; De Moraes, M. O.; Pessoa, C.; De Moura, M. A. F. B.; De Abreu, F. C.; De Lima, M. D. C. A.; Galdino, S. L.; Da Rocha Pitta, I.; Goulart, M. O. F. Synthesis and cytotoxic activity of new acridine-thiazolidine derivatives. *Bioorganic Med. Chem.* **2012**, 20 (11), 3533–3539.
- (108) Achremowicz, L. A New approach to the oxidation of methylquinolines with selenium dioxide. *Synth. Commun.* **1996**, 26 (9), 1681–1684.
- (109) Tagawa, Y.; Yamashita, K.; Higuchi, Y.; Goto, Y. Improved oxidation of active methyl group of *N*-heteroaromatic compounds by selenium dioxide in the presence of *tert*-butyl hydroperoxide. *Heterocycles* **2003**, 60 (4), 953–957.
- (110) Riley, L.; Frederick, J. Selenium dioxide, a new oxidising agent. Part I. Its reaction with aldehydes and ketones. *J. Chem. Soc.* **1932**, 0, 1875–1883.
- (111) Waitkins, G. R.; Clark, C. W. Selenium dioxide: Preparation, properties, and use as oxidizing agent. *Chem. Rev.* **1945**, 36 (3), 235–289.
- (112) Erbas-Cakmak, S.; Cakmak, F. P.; Topel, S. D.; Uyar, T. B.; Akkaya, E. U. Selective photosensitization through an AND logic response: Optimization of the pH and glutathione response of activatable photosensitizers. *Chem. Commun.* **2015**, 51 (61), 12258–12261.
- (113) Franklin, E. C.; Bergstrom, F. W. Heterocyclic nitrogen compounds. Part IIa. Hexacyclic compounds: Pyridine, quinoline, and isoquinoline. *Chem. Rev.* **1944**, 35 (2), 77–277.
- (114) Totten, R. K.; Ryan, P.; Kang, B.; Lee, S. J.; Broadbelt, L. J.; Snurr, R. Q.; Hupp, J. T.; Nguyen, S. T. Enhanced catalytic decomposition of a phosphate triester by modularly accessible bimetallic porphyrin dyads and dimers. *Chem. Commun.* **2012**, 48 (35), 4178.

-
- (115) Miyata, K.; Schepmann, D.; Wünsch, B. Synthesis and σ -receptor affinity of regioisomeric spirocyclic furopyridines. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *83*, 709–716.
- (116) Djerassi, C. Brominations with *N*-bromosuccinimide and related compounds. The Wohl-Ziegler reaction. *Chem. Rev.* **1948**, *43* (2), 271–317.
- (117) Thapa, R.; Brown, J.; Balestri, T.; Taylor, R. T. Regioselectivity in free radical bromination of unsymmetrical dimethylated pyridines. *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55* (49), 6743–6746.
- (118) Kaiser, E. M.; Hauser, C. R. Ionization of an α hydrogen of acetonitrile by *N*-butyllithium and alkali amides. Condensations with ketones and aldehydes to form β -hydroxynitriles. *J. Org. Chem.* **1968**, *33* (9), 3402–3404.
- (119) Martin, Y. C. Let's not forget tautomers. *J. Comput. Aided. Mol. Des.* **2009**, *23* (10), 693–704.
- (120) Vandenberg, J. I.; Walker, B. D.; Campbell, T. J. HERG- K^+ -channels: Friend and foe. *Trends Pharmacol. Sci.* **2001**, *22* (5), 240–246.
- (121) Basha, A.; Lipton, M.; Weinreb, S. M. A mild, general method for conversion of esters to amides. *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18* (48), 4171–4172.
- (122) Garigipati, R. S. An efficient conversion of nitriles to amidines. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31* (14), 1969–1972.
- (123) Meiering, S.; Inhoff, O.; Mies, J.; Vincek, A.; Garcia, G.; Kramer, B.; Dormeyer, M.; Krauth-Siegel, R. L. Inhibitors of *Trypanosoma cruzi* trypanothione reductase revealed by virtual screening and parallel synthesis. *J. Med. Chem.* **2005**, *48* (15), 4793–4802.
- (124) Zhang, W. X.; Li, D.; Wang, Z.; Xi, Z. Alkyl aluminum-catalyzed addition of amines to carbodiimides: A highly efficient route to substituted guanidines. *Organometallics* **2009**, *28* (3), 882–887.
- (125) Korbad, B. L.; Lee, S. Simple and efficient procedure for synthesis of *N'*-Arylamidines using trimethylaluminum. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2013**, *34* (4), 1266–1268.
- (126) Hirabayashi, T.; Itoh, K.; Sakai, S.; Ishii, Y. Insertion reactions of

- diethylaluminium derivatives III. Reactions of diethylaluminium dimethylamide, ethanethiolate and ethanolate with lactones or acid anhydrides. *J. Organomet. Chem.* **1970**, 25 (1), 33–41.
- (127) Fetter, N. R.; Bartocha, B. Survey of trimethylaluminum-hydrazine complexes. *Navweeps Report* **1961**, 7171, 1–23.
- (128) Uhl, W. Aluminum and gallium hydrazides. In: Structure and bonding, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **2003**, 105, ISBN 3-540-44105-0, 42–67.
- (129) Hans Bock. Über Metallhydrazide. *Z. Naturforsch. B* **1962**, 17 b, 429–432.
- (130) Kim, Y.; Kim, J. H.; Park, J. E.; Song, H.; Park, J. T. Synthesis and Characterization of $[\text{Me}_2\text{M}-\mu\text{-N}(\text{H})\text{NMe}_2]_2$ (M=Al, Ga). Crystal Structure of Trans- $[\text{Me}_2\text{Al}-\mu\text{-N}(\text{H})\text{NMe}_2]_2$. *J. Organomet. Chem.* **1997**, 545–546, 99–103.
- (131) Cromwell, H. The mannich reaction with *p*-hydroxybenzaldehyde and *N*-(*p*-hydroxybenzyl)-acetamide. *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, 68 (12), 2634–2636.
- (132) Schneider, N.; Lowe, D. M.; Sayle, R. A.; Tarselli, M. A.; Landrum, G. A. Big Data from Pharmaceutical Patents: A computational analysis of medicinal chemists bread and butter. *J. Med. Chem.* **2016**, 59 (9), 4385–4402.
- (133) Stephens, C. E.; Brun, R.; Salem, M. M.; Werbovetz, K. A.; Tanious, F.; Wilson, W. D.; Boykin, D. W. The activity of diguanidino and “reversed” diamidino 2,5-diarylfurans versus *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania donovani*. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2003**, 13 (12), 2065–2069.
- (134) Wang, M. Z.; Zhu, X.; Srivastava, A.; Liu, Q.; Sweat, J. M.; Pandharkar, T.; Stephens, C. E.; Riccio, E.; Parman, T.; Munde, M.; Mandal, S.; Madhubala, R.; Tidwell, R. R.; Wilson, W. D.; Boykin, D. W.; Hall, J. E.; Kyle, D. E.; Werbovetz, K. A. Novel arylimidamides for treatment of visceral leishmaniasis. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2010**, 54 (6), 2507–2516.
- (135) Soeiro, M. N. C.; Werbovetz, K.; Boykin, D. W.; Wilson, W. D.; Wang, M. Z.; Hemphill, A. Novel amidines and analogues as promising agents against intracellular parasites: A systematic review. *Parasitology* **2013**, 140 (8), 929–951.
- (136) Xie, J.; Okano, A.; Pierce, J. G.; James, R. C.; Stamm, S.; Crane, C. M.; Boger, D.

- L. Total Synthesis of $[\psi[C(=S)NH]Tpg4]$ vancomycin aglycon, $[\psi[C(=NH)NH]Tpg\ 4]$ vancomycin aglycon, and related key compounds: Reengineering vancomycin for dual D-Ala-D-Ala and D-Ala-D-Lac binding. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (2), 1284–1297.
- (137) Rodrigues, T.; Guedes, R. C.; dos Santos, D. J. V. A.; Carrasco, M.; Gut, J.; Rosenthal, P. J.; Moreira, R.; Lopes, F. Design, synthesis and structure-activity relationships of (1H-pyridin-4-ylidene)amines as potential antimalarials. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2009**, *19* (13), 3476–3480.
- (138) Waggoner, B. K. M.; Hope, H.; Power, P. P. Synthesis and structure of $[MeAlN(2,6-iPr_2C_6H_3)]_3$: An aluminum-nitrogen analogue of borazine. *Angew. Chem. Int.* **1988**, *27* (12), 1699–1700.
- (139) Mehio, N.; Lashely, M. a.; Nugent, J. W.; Tucker, L.; Correia, B.; Do-Thanh, C.-L.; Dai, S.; Hancock, R. D.; Bryantsev, V. S. Acidity of the amidoxime functional group in aqueous solution: A combined experimental and computational study. *J. Phys. Chem. B* **2015**, *119* (8), 3567–3576.
- (140) Eloy, F.; Lenaers, R. The chemistry of amidoximes and related compounds. *Chem. Rev.* **1962**, *62* (2), 155–183.
- (141) Knudsen, P. Ueber Phenyläthenylamidoxim. *Eur. J. Inorg. Chem.* **1885**, *18* (1), 1068–1074.
- (142) Stenzel, K. Synthese und biologische Evaluation neuer Hydroxamsäure-basierter Histondesacetylase (HDAC) Inhibitoren. Masterarbeit, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **2012**.
- (143) Yang, D.; Li, B.; Ng, F. F.; Yan, Y. L.; Qu, J.; Wu, Y. D. Synthesis and characterization of chiral N-O turns induced by α -aminoxyc acids. *J. Org. Chem.* **2001**, *66* (22), 7303-7312.
- (144) Devender, N.; Gunjan, S.; Chhabra, S.; Singh, K.; Pasam, V. R.; Shukla, S. K.; Sharma, A.; Jaiswal, S.; Singh, S. K.; Kumar, Y.; Lal, J.; Trivedi, A. K.; Tripathi, R.; Tripathi, R. P. Identification of β -amino alcohol grafted 1,4,5 trisubstituted 1,2,3-triazoles as potent antimalarial agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *109*, 187–198.

- (145) El-Sayed Ali, T. Synthesis of some novel pyrazolo[3,4-B]pyridine and pyrazolo[3,4-D]pyrimidine derivatives bearing 5,6-diphenyl-1,2,4-triazine moiety as potential antimicrobial agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44* (11), 4385–4392.
- (146) Gupta, L.; Sunduru, N.; Verma, A.; Srivastava, S.; Gupta, S.; Goyal, N.; Chauhan, P. M. S. Synthesis and biological evaluation of new [1,2,4]triazino[5,6-B]indol-3-ylthio-1,3,5-triazines and [1,2,4]triazino[5,6-B]indol-3-ylthio-pyrimidines against *Leishmania donovani*. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45* (6), 2359–2365.
- (147) Chauhan, K.; Sharma, M.; Shivahare, R.; Debnath, U.; Gupta, S.; Prabhakar, Y. S.; Chauhan, P. M. S. Discovery of triazine mimetics as potent antileishmanial agents. *ACS Med. Chem. Lett.* **2013**, *4* (11), 1108–1113.
- (148) Sangshetti, J. N.; Shinde, D. B. One pot synthesis and SAR of some novel 3-substituted 5,6-diphenyl-1,2,4-triazines as antifungal agents. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2010**, *20* (2), 742–745.
- (149) Paudler, W. W.; Barton, J. M. The synthesis of 1,2,4-triazine. *J. Org. Chem.* **1966**, *31* (6), 1720–1722.
- (150) Metze, R.; Ueber 1.2.4-Triazine, II. Mitteil.: Die Synthese di- und trialkyl-substituierter und alkylaryl-substituierter 1.2.4-Triazine. *Chem. Ber.*, **1955**, *88* (6), 772-778.
- (151) Liu, M.; Li, C. J. Catalytic fehling's reaction: An efficient aerobic oxidation of aldehyde catalyzed by copper in water. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2016**, *55* (36), 10806–10810.
- (152) ICH Expert Working Group. ICH Guideline Q1A(R2) Stability testing of new drug substances and products. **2003**, CPMP/ICH/2736/99. (Abfragedatum: 01.05.2018)
- (153) ICH Expert Working Group. ICH Guideline Q2(R1) Validation of analytical procedures: Text and methodology. **1995**, CPMP/ICH281/95. (Abfragedatum: 01.05.2018)
- (154) Djimdé, A.; Doumbo, O. K.; Cortese, J. F.; Kayentao, K.; Doumbo, S.; Diourté, Y.; Coulibaly, D.; Dicko, A.; Su, X.; Nomura, T.; Fidock, D. A.; Wellems, T. E.; Plowe, C. V. A molecular marker for chloroquine-resistant *falciparum* malaria. *N. Engl. J. Med.* **2001**, *344* (4), 257–263.

- (155) Le Manach, C.; González Cabrera, D.; Douelle, F.; Nchinda, A. T.; Younis, Y.; Taylor, D.; Wiesner, L.; White, K. L.; Ryan, E.; March, C.; Duffy, S.; Avery, V. M.; Waterson, D.; Witty, M. J.; Wittlin, S.; Charman, S. A.; Street, L. J.; Chibale, K. Medicinal chemistry optimization of antiparasmodial imidazopyridazine hits from high throughput screening of a SoftFocus kinase library: Part 1. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 2789–2798.
- (156) Fulmer, G. R.; Miller, A. J. M.; Sherden, N. H.; Gottlieb, H. E.; Nudelman, A.; Stoltz, B. M.; Bercaw, J. E.; Goldberg, K. I. NMR chemical shifts of trace impurities: Common laboratory solvents, organics, and gases in deuterated solvents relevant to the organometallic chemist. *Organometallics* **2010**, *29* (9), 2176–2179.
- (157) Johns, D. M.; Mori, M.; Williams, R. M. Synthetic studies on quinine: quinuclidine construction via a ketone enolate regio- and diastereoselective Pd-mediated allylic alkylation. *Org. Lett.* **2006**, *8* (18), 4051–4054.
- (158) Gobeil, B. R. J.; Hamilton, C. S. Derivatives of benzo(H)quinoline. **1945**, *156* (1941), 1943–1945.
- (159) Wera, M.; Storoniak, P.; Serdiuk, I. E.; Zadykiewicz, B. Structural considerations on acridine/acridinium derivatives: Synthesis, crystal structure, hirshfeld surface analysis and computational studies. *J. Mol. Struct.* **2016**, *1105*, 41–53.
- (160) Xue, P.; Ding, J.; Shen, Y.; Gao, H.; Zhao, J.; Sun, J.; Lu, R. Aggregation-induced emission nanofiber as a dual sensor for aromatic amine and acid vapor. *J. Mater. Chem. C* **2017**, *5* (44), 11532–11541.
- (161) Fernandes, R. A.; Bethi, V. An expedient osmium(VI)/K₃Fe(CN)₆-mediated selective oxidation of benzylic, allylic and propargylic alcohols. *RSC Adv.* **2014**, *4* (76), 40561–40568.
- (162) Friestad, G. K.; Ji, A.; Baltrusaitis, J.; Korapala, C. S.; Qin, J. Scope of stereoselective Mn-mediated radical addition to chiral hydrazones and application in a formal synthesis of quinine. *J. Org. Chem.* **2012**, *77* (7), 3159–3180.
- (163) Urner, L. M.; Sekita, M.; Trapp, N.; Schweizer, W. B.; Wörle, M.; Gisselbrecht, J. P.; Boudon, C.; Guldi, D. M.; Diederich, F. Systematic variation of cyanobuta-1,3-

- dienes and expanded tetracyanoquinodimethane analogues as electron acceptors in photoactive, rigid porphyrin conjugates. *European J. Org. Chem.* **2015**, 2015 (1), 91–108.
- (164) Wei, Z.; Wang, J.; Liu, M.; Li, S.; Sun, L.; Guo, H.; Wang, B.; Lu, Y. Synthesis, in vitro antimycobacterial and antibacterial evaluation of IMB-070593 derivatives containing a substituted benzyloxime moiety. *Molecules* **2013**, 18 (4), 3872–3893.
- (165) Noedl, H.; Bronnert, J.; Yingyuen, K.; Kollaritsch, H.; Fukuda, M.; Attlmayr, B. Simple histidine-rich protein 2 double-site sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for use in malaria drug sensitivity testing. *Antimicro. Agents Chemothera.* **2005**, 49 (8), 3575.
- (166) Trager, W.; Jensen, J. B. Human malaria parasites in continuous culture. *Science* 193 (4254), **1976**, 673–675.
- (167) Lambros C, V. J. Synchronization of *Plasmodium falciparum* erythrocytic stages in culture. *J Parasitol.* **1979**, 65 (3), 418–420.
- (168) Ritz, C.; Streibig, J. C. Bioassay analysis using R. *J. Stat. Softw.* **2005**, 12 (5), 1–22.
- (169) Borenfreund, E.; Puerner, J. A. A simple quantitative procedure using monolayer cultures for cytotoxicity assays (HTD/NR-90). *J. Tissue Cult. Methods* **1985**, 9 (75101), 7–8.
- (170) Srivastava, I. K.; Vaidya, A. B. A mechanism for the synergistic antimalarial action of atovaquone and proguanil. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1999**, 43 (6), 1334–1339.
- (171) Badell, E.; Pasquetto, V.; Druilhe, P.; Van Rooijen, N. A mouse model for human malaria erythrocytic stages. *Parasitol. Today* **1995**, 11 (6), 235–237.
- (172) Moreno, A.; Ferrer, E.; Arahuetes, S.; Eguiluz, C.; Rooijen, N. Van; Benito, A. The course of infections and pathology in immunomodulated NOD/LtSz-SCID mice inoculated with *Plasmodium falciparum* laboratory lines and clinical isolates. *Int. J. Parasitol.* **2006**, 36 (3), 361–369.
- (173) Angulo-Barturen, I.; Jiménez-Díaz, M. B.; Mulet, T.; Rullas, J.; Herreros, E.;

Ferrer, S.; Jiménez, E.; Mendoza, A.; Regadera, J.; Rosenthal, P. J.; Bathurst, I.; Pompliano, D. L.; de las Heras, F. G.; Gargallo-Viola, D. A murine model of *falciparum*-malaria by in vivo selection of competent strains in non-myelodepleted mice engrafted with human erythrocytes. *PLoS One* **2008**, 3 (5).

11 Anhang

11.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1. Aufgetretene Malariafälle im Jahr 2016, modifiziert nach WHO. ¹	1
Abbildung 2. Plasmodium spp. Lebenszyklus, modifiziert nach Phillips et al. ⁸	4
Abbildung 3. Empfohlene Repellentien und Inhaltsstoffe von Insektensprays zur Moskitoabwehr (WHO).	6
Abbildung 4. Zur Chemoprophylaxe eingesetzte Arzneistoffe.	8
Abbildung 5. Artemisinin und Artemisinin-Derivate.	9
Abbildung 6. 4- und 8-Aminochinoline zur Malariatherapie.	10
Abbildung 7. TCP, TPP Konzept, modifiziert nach Burrows. ³⁵	14
Abbildung 8. Neue Antimalariawirkstoffe in klinischer Entwicklung (nach Status geordnet).	15
Abbildung 9. Beispielhafte Entwicklung eines neuen Malariawirkstoffes, modifiziert nach Fidock. ⁴⁹	16
Abbildung 10. MMV-unterstützte Projekte: Stadien der klinischen Entwicklung, nach MMV. ⁵⁰	17
Abbildung 11. Als Arzneistoffe zugelassene Arylaminoalkohole.	19
Abbildung 12. Auswahl neuer Arylaminoalkohole (I–IV) mit antiplasmodialer Wirkung.	21
Abbildung 13. A. Schematische Darstellung des Hämabbaus durch <i>P. falciparum</i> . B. Lichtmikroskopische Aufnahme von mit <i>Plasmodium falciparum</i> infizierten Erythrozyten, modifiziert nach Phillips et. al. ⁸	22
Abbildung 14. Kristallstrukturen von Chinin (A) und Halofantrin (B) mit Fe(III)PPIX, modifiziert nach de Villiers et al. ^{69,70}	23
Abbildung 15. (+)- und (-)-Mefloquin, modifiziert nach Schmidt et al. ⁷⁹	24
Abbildung 16. Atomares Model der Interaktion von (+)-MFQ mit dem GTPase-assoziierten Zentrum der <i>P. falciparum</i> ribosomalen 80S Untereinheit, die Strukturaufklärung erfolgte mittels Kryo-Elektronenmikroskopie. Modifiziert nach Wong et al. ⁸²	25
Abbildung 17. NOESY Spektrum von 3 (aufgenommen in DMSO-d ₆).	37
Abbildung 18. Vergleich des Substitutionsmusters der Chinolinderivate Lepidin, 1 und 3 .	40
Abbildung 19. Tautomere Formen des Amidrazonstrukturmerkmals.	45
Abbildung 20. A. Kristallstruktur von VIII , modifiziert nach Leven. ⁸⁴ B. Die für die Bindung von hERG-K ⁺ -Kanal-Blockern wichtigen Aminosäuren, modifiziert nach Vandenberg. ¹²⁰	45
Abbildung 21. ¹ H-NMR Spektrum von 26 (300 MHz) (aufgenommen in Chloroform-d).	52
Abbildung 22. Tautomere Formen des Hydrazonamidstrukturelementes der Verbindungen 37–45 .	55
Abbildung 23. ¹ H-NMR Spektrum von Verbindung 41 (aufgenommen in DMSO-d ₆).	56
Abbildung 24. Strukturelle Gegenüberstellung eines Diamidins und eines "inversen" Amidins.	58
Abbildung 25. ¹ H-NMR Spektrum von 54 , aufgenommen in DMSO-d ₆ .	62
Abbildung 26. Das Amidoximstrukturelement und dessen Säure-Base-Verhalten, ermittelt durch die Veränderung der chemischen Verschiebung (ppm) des Signals der CH ₃ -Gruppe von Acetamidoxim, modifiziert nach Mehio et al. ¹³⁹	66
Abbildung 27. Tautomere Formen des Amidoximstrukturelementes und mögliche intramolekulare Interaktionen des Amidoxims 70 .	69
Abbildung 28. ¹ H-NMR Spektrum der Nebenkomponekte 76 , aufgenommen in DMSO-d ₆ .	75
Abbildung 29. Ausgewählte Verbindungen 31 und 54 zur Stabilitätsuntersuchung.	78
Abbildung 30. Linearitätsbestimmung von 31 , n = 3, m ± s.	80

Abbildung 31. Ausgewählte Verbindungen zur Bestimmung der Korrelation zwischen dem IC ₅₀ Wert gegen Pf3D7 und dem kalkulierten pKs.	98
Abbildung 32. Korrelation zwischen dem IC ₅₀ (Pf3D7) - und dem kalkulierten pKs Wert. pKs-Wert	99

11.2 Schemataverzeichnis

Schema 1. Optimierungszyklen der 3-Hydroxy-N'-arylidanpropanhydrazonamide.	27
Schema 2. Geplante Strukturmodifikationen der Leitstruktur IX .	28
Schema 3. Synthese der Leitstrukturen VIII , IX und XI .	30
Schema 4. Die von Pinner und Klein beschriebene Darstellung des Isobutylbenzimidat Hydrochlorids, sowie Neben- und Zerfallsreaktionen des Imidatstrukturmerkmals.	31
Schema 5. Nebenreaktion der Pinner Reaktion bei heterozyklisch substituierten 3-Hydroxypropannitrilen am Beispiel von 19 .	31
Schema 6. Syntheseplanung zur Darstellung der Zielverbindungen.	32
Schema 7. Syntheseplanung der Edukte, dargestellt am Beispiel ausgehend von 6-Methoxy-4-methylchinolin (die entscheidenden Strukturelemente sind rot markiert).	33
Schema 8. Darstellung der Zusammenarbeit zur biologischen Evaluation neuer Zielverbindungen.	33
Schema 9. Chinolinsynthese nach Skraup (I + II) und Doebner-Miller (II).	34
Schema 10. Darstellung der Chinolinderivate 1 und 2 nach Skraup/Doebner-Miller.	35
Schema 11. Chinolinsynthese nach Combes.	36
Schema 12. Darstellung der Chinolinderivate 3 und 4 .	36
Schema 13. Darstellung von 9-Methylacridin (5) nach Bernthsen. ¹⁰⁶	38
Schema 14. Darstellung der heteroaromatischen Aldehyde 6–8 .	39
Schema 15. Darstellung der Aldehyde 9 und 10 .	41
Schema 16. Postulierte Entstehung der Nebenkomponente XXIV .	42
Schema 17. Gegenüberstellung des Reaktionsverhalten der Chinolinderivaten 1 und 3 .	43
Schema 18. Darstellung der 3-Hydroxypropannitrile 13–23 .	44
Schema 19. Literaturübersicht über Reaktionen von Trimethylaluminium (TMA) mit Aminen und Nitrilen, sowie von TMA und Hydrazin und daraus abgeleitete Umsetzung eines Hydrazinderivates mit Nitrilen zum Hydrazonamidderivat 44 .	47
Schema 20. Darstellung der Hydrazonamidderivate 26–36 .	49
Schema 21. TMA vermittelte Darstellung des Amidrazons 24 .	49
Schema 22. TMA vermittelte Darstellung des Amidrazons 24	50
Schema 23. Geplante Modifikationen der Region C.	53
Schema 24. TMA-vermittelte Darstellung des Hydrazonamidderivates 44 .	54
Schema 25. Darstellung der Hydrazonamide 37–45 .	54
Schema 26. Übersicht der Strukturmodifikationen in Region B.	57
Schema 27. Eigenschaften des Amidinstrukturelements.	58
Schema 28. Literaturbekannte Methoden zur Darstellung von Amidinen. ^{125,135,136}	59
Schema 29. Vergleich der Bindungslängen zwischen C1 – C5 des Hydrazonamids VIII und der Amidine 50 und 53 .	60
Schema 30. Syntheschema der 3-Hydroxypropanamidine 47–56 .	61
Schema 31. Darstellung von 66 .	63
Schema 32. Synthese der Intermediate XXXII–XXXV , Darstellung in Anlehnung an die Kristallstrukturanalyse von [MeAlN(2,6-i-Pr ₂ C ₆ H ₃)] nach Waggoner et al. ¹³⁸	64
Schema 33. Synthese der 3-Hydroxypropanamidine 57–65 .	64
Schema 34. A. Neutralisierungsreaktion von 64 mit 0.1 N NaOH.	66

Schema 35. Geplante Strukturmodifikation der Region B der Leitstruktur IX .	66
Schema 36. Übersicht zu literaturbekannten Synthesen von Amidoximen.	67
Schema 37. A. Darstellung der Amidoxime 68–70 . B. Darstellung der Hydroxylamine XL und 67 .	68
Schema 38. Modifikation der Region B der Leitstruktur IX zu einem 1,2,4-Triazin.	69
Schema 39. Literaturübersicht über stickstoffhaltige Heterozyklen in der antiparasitären Arzneistoffforschung und bekannte Synthesemethoden zur Darstellung von 1,2,4-Triazinen.	71
Schema 40. Darstellung der Verbindungen 71 und 72 .	72
Schema 41. Synthese von 71 und während der Synthese aufgetretene Nebenprodukte (77 , XLIII , XLIV).	72
Schema 42. Postulierte Dehydratisierungsreaktionen am Beispiel der isolierten Nebenprodukte 73–77 und ihren entsprechenden Vorstufen.	73
Schema 43. Entstehung der Dimere 75–78 , dargestellt anhand der unter Kapitel 2 beschriebenen Syntheseroute.	76
Schema 44. Arylaminoalkohole Chinin und Mefloquin, sowie das Analoga, die Leitstruktur IX .	103
Schema 45. Synthese der Edukte 6–10 , 13–23 und der Zielverbindungen 26–45 , 47–65 und 68–72 .	104
Schema 46. Zusammenfassung der <i>in vitro</i> Ergebnisse gegen den chloroquin-sensitiven Stamm <i>Plasmodium falciparum</i> 3D7.	112
Schema 47 Lead structure IX .	115
Scheme 48. Synthesis of starting material 6–10 , 13–23 and final compounds 26–45 , 47–65 and 68–72 .	116
Scheme 49. <i>In vitro</i> data of final compounds	117

11.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. Behandlungsempfehlungen der unkomplizierten Malaria tropica nach WHO.	9
Tabelle 2. Hergestellte 3-Hydroxypropanitrile 13–23 .	44
Tabelle 3. Hergestellte Hydrazonamide 26–36 .	51
Tabelle 4. Hergestellte Hydrazonamide mit Modifikationen in Region C (37–45).	55
Tabelle 5. Hergestellte Amidine 47–55 .	61
Tabelle 6. Hergestellte Amidinderivate 57–65 .	65
Tabelle 7. Isolierte Dehydratisierungsprodukte 73–77 .	74
Tabelle 8. Isolierte dimerisierte Nebenprodukte.	76
Tabelle 9. Lipinskys Rule of five und drug likeness score für ausgewählte Verbindungen.	77
Tabelle 10. Stabilitätsuntersuchungen von 31 .	81
Tabelle 11. Stabilitätsuntersuchungen von 54 .	81
Tabelle 12. <i>In vitro</i> Ergebnisse der Hydrazonamide 26–36 .	83
Tabelle 13. <i>In vitro</i> Ergebnisse der Verbindungen 37–45 .	87
Tabelle 14. <i>In vitro</i> Ergebnisse der Amidine 47–56 .	89
Tabelle 15. <i>In vitro</i> Ergebnisse der Amidine 57–65 .	92
Tabelle 16. <i>In vitro</i> Ergebnisse der Amidoxime 68–70 .	94
Tabelle 17. <i>In vitro</i> Ergebnisse der 1,2,4-Triazine 71 und 72 .	95
Tabelle 18. <i>In vitro</i> Ergebnisse der dehydratisierten Nebenprodukte 73–77 .	96
Tabelle 19. <i>In vitro</i> Ergebnisse der dimerisierten Nebenprodukte 78 , 80 , 81 .	97
Tabelle 20. <i>In vivo</i> Evaluation ausgewählter Verbindungen.	101

