

## 5 Zusammenfassungen

### 5.1 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Synthese von bisher unbekanntem 4-Amino-5-hydroxychinolin-Derivaten (vgl. Abbildung 5-1: Struktur **I**), deren Cyclisierung zu 2,3-Dihydro[1,3]oxazino[4,5,6-*de*]chinolin-Verbindungen (vgl. Abbildung 5-1: Struktur **II**) und der antimikrobiellen Wirksamkeit der Produkte.

#### Abbildung 5-1:

Nach eingehender Literaturrecherche wird ein Weg zur Darstellung von 4-Amino-5-hydroxy-chinolin entworfen, der in weiten Teilen dem Verfahren nach *Price und Roberts* zur Darstellung von 7-Chlor-4-(4-diethylamino-1-methylbutylamino)chinolin (vgl. Abbildung 5-1: Struktur **III**), dem Chloroquin (*INN*) folgt.

In einer *Conrad-Limpach*-Reaktion wird Ethoxymethylen-malonsäurediethylester (**2**) mit einem 5-Methoxy-2-methylanilin (**1**) zum 4-Hydroxy-5-methoxy-8-methylchinolin-3-carbonsäureester (**3**), der durch Hydrolyse und Decarboxylierung das 4-Oxo-5-methoxy-8-methyl-chinolin (**4**) ergibt. Die Substitution der 4-Oxo-Funktion gegen unterschiedliche 4-Amino-Substituenten zur Bildung der 4-Amino-5-methoxy-8-methylchinolin-Verbindungen (**5**) wird nach Chlorierung oder Silylierung erreicht. Anschließende Demethylierung mit Halogenwasserstoffsäuren in unterschiedlichem Milieu liefert die gewünschten 4-Amino-5-hydroxy-8-methylchinolin-Derivate (**6**) (vgl. Schema 5-1).

Der gleiche Syntheseweg wird unter Ersatz des 5-Methoxy-2-methylanilin (**1**) gegen 4-Methoxy-2-methylanilin als Ausgangsprodukt durchgeführt. Erwartungsgemäß kann das 4-Amino-6-hydroxy-8-methyl-chinolin (**7**) gewonnen werden (vgl. Schema 5-1). Dabei zeigen sich deutliche Reaktivitätsunterschiede zu den 5-Methoxy- bzw. 5-Hydroxy-Derivaten.

#### Schema 5-1

Weiterhin wird Aminocyclohexen-3-on (**8**) mit Ethoxymethylen-malonsäurediethylester (**2**) analog *Conrad-Limpach* zum 4-Hydroxy-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydrochinolin-3-carbonsäureester (**9**) umgesetzt (vgl. Schema 5-2). Dieser Carbonsäureester kann sowohl direkt, als auch nach Aromatisierung durch Oxidation mit Iod, verseift und durch Decarboxylierung in die jeweilige 3-unsubstituierte Verbindung (**10** bzw. **11**) überführt werden. Das 4,5-Dioxo-1,4,5,6,7,8-hexahydrochinolin (**10**) wird nach Chlorierung zum 4-Amino-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydrochinolin (**12**) umgesetzt, während die Versuche durch gleiche

Bedingungen eine 4-Aminofunktion in das 4,5-Dihydroxy-chinolin (**11**) einzuführen scheitern. Die entsprechenden 4-Amino-5-hydroxy-chinoline (**13**) können hier nicht dargestellt werden (vgl. Schema 5-2).

### Schema 5-2

Typische Eigenschaften und analytische Daten der neuen Substanzgruppe der 4-Amino-5-hydroxy-chinoline werden herausgestellt und kurz erläutert.

Die 4-Amino-5-hydroxy-Struktur in den neu gewonnenen Produkten soll unter Berücksichtigung literaturbekannter Oxazinsynthesen in einen 1,3-Oxazinring überführt werden (vgl. Schema 5-3):

4-Amino-5-hydroxy-8-methylchinolin-Derivate (**6**) werden mit 1,1'-Carbonyldiimidazol bzw. 1,1'-Thiocarbonyldiimidazol in die 7-Methyl-2,3-dihydro[1,3]oxazino[4,5,6-*de*]chinolin-2-one (**14**) bzw. -thione (**15**) überführt. Mit aromatischen Aldehyden bilden sich schwer identifizierbare und leicht zerstörbare 2-Aryl-7-methyl-2,3-dihydro[1,3]oxazino[4,5,6-*de*]chinolin-Derivate (**16**). Überführung in ein 1,2,3-Oxathiazin-Derivat (**17**) mit Thionylchlorid, in ein 2-Alkoxy-1,3-oxazin (**18**) mit Orthocarbonsäureester oder zum 1,3-Oxazin (**19**) aus dem Chinolin-4-yl-benzoesäureamid ist mit der 4-Amino-5-hydroxy-Struktur unter den erprobten Bedingungen nicht möglich.

### Schema 5-3

Von allen Cyclisierungsprodukten mit dem bisher unbekanntem tricyclischen Ringsystem werden gemeinsame Eigenschaften vorgestellt. Dabei wird dem Einfluß der Cyclisierung auf die analytischen Daten besondere Beachtung geschenkt.

Da Amino- und Hydroxy-chinoline, wie auch 1,3-Oxazin-Derivate weite pharmakologische Verwendung finden, mit einem Schwerpunkt im Bereich der antimikrobiellen Wirkstoffe, werden die gewonnenen Verbindungen auf Aktivität gegen *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC24913 und *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, außerdem gegen *Plasmodium falciparum*-Stämme untersucht. Es werden mittels Mikrobouillonverdünnungsmethode für *E. coli* und *S. aureus* minimale Hemmkonzentrationen (MHK-Werte) von bis zu 16 µg/ml für die wirksamsten Verbindungen ermittelt, während bei *Ps. aeruginosa* kaum Effekte erkennbar sind.

Der Einfluß der Substanzen auf *Plasmodium falciparum*, dem Erreger der Malaria tropica, wird vom *Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin in Hamburg* über die Hemmung des Wachstums bestimmt, in einer anderen Versuchsreihe am *Institut für Biochemie der Universität Gießen* wird die

Wirkung über die Hypoxanthinaufnahme als Zeichen für die Vitalität des Mikroorganismus ermittelt.

Vor allem die 4-Amino-5-hydroxychinolin-Verbindungen zeigen starke Wirksamkeit gegen *Plasmodium* bei Konzentrationen von 1 µmol/ml.

Es lassen sich Struktur-Wirkungsbeziehungen für antibakterielle und antiplasmodiale Aktivitäten aufstellen und mit bestehenden Erkenntnissen vergleichen. Die Wirkweisen etablierter Antiinfektiva werden zusammengefaßt vorgestellt und mögliche Mechanismen der antimikrobiellen Aktivität der neu dargestellten Verbindungen diskutiert.

## 5.2 Summary

The investigation of the synthesis of so far unknown 4-amino-5-hydroxyquinoline-derivatives (see figure 1: structure **I**), their cyclisation to 2,3-dihydro[1,3]oxazino[4,5,6-de]quinolines (see figure 1: structure **II**) and the determination of their antimicrobial activity is the aim of this work.

### **Figure 1:**

Based on methods reported in literature, especially those regarding the synthesis of the antimalarial 7-chloro-4-(4-diethylamino-1-methylbutylamino)quinoline (see figure 1: structure **III**), the chloroquine (*INN*), by *Price and Roberts*, a procedure leading to 4-amino-5-hydroxy-quinolines is developed.

According to *Conrad-Limpach* ethoxymethylenemalonic ester and 5-methoxy-2-methylaniline are converted to 4-hydroxy-5-methoxy-8-methylquinoline-3-carboxylate, yielding after hydrolysis and decarboxylation the 4-oxo-5-methoxy-8-methylquinoline. In order to activate the 4-position for substitution of the 4-oxo group with various amines chlorination or silylation is suitable. The resulting 4-amino-5-methoxy-8-methyl-quinolines are demethylated by treatment with hydrohalogenic acids in different solvents to give 4-amino-5-hydroxy-8-methyl-quinoline derivatives (**6**) (see scheme 1)

### **scheme 1**

Instead of 5-methoxy-2-methylaniline the 4-methoxy-2-methylaniline is subjected to the same procedure yielding the expected 4-amino-6-hydroxy-8-methylquinoline derivative (**7**). The reactivities the 6-substituted molecules differ from those of the 5-methoxy/5-hydroxy compounds.

Aminocyclohexene-3-one (**8**) is converted with ethoxymethylenemalonic ester (**2**) in a *Conrad-Limpach reaction* to the 4-hydroxy-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydroquinoline-3-carboxylate (**9**) (see scheme 2). Directly as well as after aromatization, the carboxylate can be hydrolysed and decarboxylated to the

corresponding 3-unsubstituted compound 10, 11). The 4,5-dioxo-1,4-dihydroquinoline (**11**) is chlorinated in 4-position. Aminolysis yields the 4-amino-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydroquinoline (**12**). The reaction with 4,5-dihydroxyquinoline (**11**) to 4-amino-5-hydroxy-quinolines is not possible (see scheme 2).

### scheme 2

Typical properties of the new group of substances are discussed.

The new products with 4-amino-5-hydroxy structure seem to be suitable substrates for a cyclisation to oxazine-anellated quinolines. Considering methods for oxazine synthesis reported previously some ways to produce [1,3]oxazino[4,5,6-*de*]quinolines are explored (see scheme 3):

Some 7-methyl-2,3-dihydro[1,3]oxazino[4,5,6-*de*]quinoline-2-ones (14) and – thiones (15) are prepared by reaction of 4-amino-5-hydroxy-8-methylquinoline derivatives (6) with 1,1'-carbonylediimidazole or 1,1'-thiocarbonylediimidazole. Treatment of the 4-amino-5-hydroxy compounds with aromatic aldehydes produces some instabile 2-aryl-7-methyl-2,3-dihydro[1,3]oxazino[4,5,6-*de*]quinolines (16). Conversion of the 4-amino-5-hydroxy-structure to a 1,2,3-Oxathiazine (17) with thionychloride, to an 2-alkoxy-1,3-oxazine (18) with orthocarboxylate or to 1,3-oxazine using quinoline-4-yl-benzoic amide is not possible under investigated conditions.

### scheme 3

The influence of cyclisation on the analytical properties of the quinoline compounds is presented.

Amino- and hydroxyquinolines as well as 1,3-oxazines represent groups of substances with a wide variety of pharmacological properties. Some of them are essential antimicrobial agents.

The antibacterial activity of the new substances against *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC24913 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 and the antiprotozoal activity against *Plasmodium falciparum*-tribes are determined. The minimum inhibitory concentrations are investigated by standard serial microdilution method, showing concentrations of 16 mg/ml against *E. coli* and *S. aureus* for the most active compounds. The growth of *Ps. aeruginosa* is nearly not influenced in the test.

At the *Bernhard-Nocht-Institut for tropical medicine in Hamburg* the inhibiting effect of the synthesised products on the growth of *Pl. falciparum* is tested. At the *Institute of Biochemistry at the Univeristy of Gießen* the antiprotozoal activity is determined by observation of plasmodial hypoxanthine uptake in presence of the quinolines. The strongest antiplasmodial effects at concentrations of 1 µmol/ml are shown by the 4-amino-5-hydroxy-quinolines.

Structure-activity-relationship is evaluated for both antimicrobial effects. The mechanism of action of known antiinfective drugs is outlined and the ability to transfer it to the products of this work is discussed.