

Institut für Pharmazie der Freien Universität Berlin, Germany

## Hemmung der Arachidonsäurekaskade durch Aza-2-aryl-1,4-naphthochinon-Derivate

Untersuchungen an 1,4-Naphthochinonen, 30. Mitt.

A. RICHWIEN, G. WURM

*Meinem akademischen Lehrer Prof. Dr. Helmut Loth in Verbundenheit gewidmet*

*Eingegangen am 2. Januar, 2004, angenommen am 11. März 2004*

*Prof. Dr. Gotthard Wurm, Institut für Pharmazie, Freie Universität, Königin-Luise-Str. 2 + 4, 14195 Berlin, Germany.  
rehiwer@zedat.ju-berlin.de*

*Pharmazie 59: 906–912 (2004)*

Auf der Suche nach 5-Lipoxygenase(LO)-Inhibitoren, die potenter als die bisher untersuchten 2-(3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-hydroxy-1,4-naphthochinon-Derivate sind, wurden die analogen Aza-1,4-naphthochinone **14**, **15**, **16/17** sowie die 3-Bromvorstufen **7**, **8**, **9/10** und **11** synthetisiert. In die Untersuchungen wurde das Naphtho[2,1-*b*][1,4]thiazin-Derivat **21** als zyklisches Chinonimin einbezogen. Neben der 5-LO-Inhibition wurde auch die Hemmung der 12-LO, COX-1 und cPLA<sub>2</sub> untersucht, um die Selektivität der Verbindungen innerhalb der Arachidonsäurekaskade zu ermitteln. Für die biochemischen Tests wurden humane Granulozyten (5-LO) und humane Thrombozyten (12-LO/COX-1 und cPLA<sub>2</sub>) verwendet. Alle 3-Bromverbindungen hemmen die gesamte Arachidonsäurekaskade durch die Blockierung der cPLA<sub>2</sub>. Selektivität zeigen die 3-Methoxy-Derivate der Chinolinchinone **12** und **13** und das 3-Hydroxyisochinolinchinon-Gemisch **16/17**. **13** ist ein selektiver 5-LO-, **12** ein dualer 5-LO/COX-1-Hemmstoff und **16/17** sind duale 12-LO/COX-1-Inhibitoren. Zur Überprüfung der Hypothese, dass das hydroxylierte 2-Aryl-1,4-benzochinon-Segment in der Klasse der 2-Aryl-1,4-naphtho- und -aza-naphthochinone das für die 5-LO-Hemmung verantwortliche Pharmakophor ist, wurden die 2-(3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-1,4-benzochinone **24–28** synthetisiert. Es zeigte sich, dass die 5-Methoxy- und 5-Hydroxyverbindungen **24** und **27** hochselektive und potente 5-LO-Inhibitoren sind.

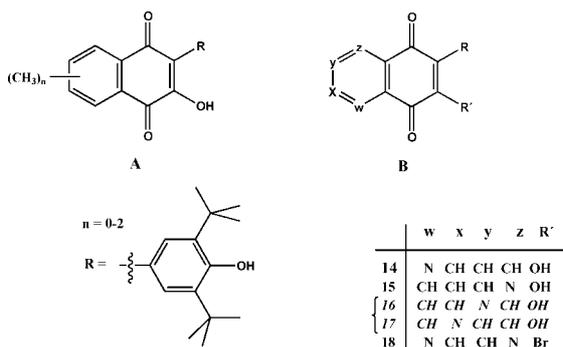
### Inhibition of the arachidonic acid cascade by aza-2-aryl-1,4-naphthoquinone derivatives

To find more potent 5-lipoxygenase(LO)-inhibitors than the up to now studied 2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-hydroxy-1,4-naphthoquinone derivatives the analogous aza-1,4-naphthoquinones **14**, **15**, **16/17** as well as the 3-bromo precursors **7**, **8**, **9/10** and **11** were synthesized. The naphtho[2,1-*b*][1,4]thiazin derivative **21** was included in this investigation as a quinone imine. Beside 5-LO inhibition the influence on 12-LO, COX-1 and cPLA<sub>2</sub> was determined to investigate the selectivity of the compounds within the arachidonic acid cascade. To test the biochemical properties human granulocytes (5-LO) and human platelets (12-LO/COX-1 and cPLA<sub>2</sub>) were used. All 3-bromo compounds inhibit completely the arachidonic acid cascade by blocking the cPLA<sub>2</sub>. The 3-methoxy derivatives of the quinoline quinones **12** and **13** and the 3-hydroxyisoquinoline mixture **16/17** show 5-LO selectivity. **13** inhibits 5-LO selectively, **12** is a dual 5-LO/COX-1-inhibitor and **16/17** are dual 12-LO/COX-1-inhibitors. To verify the hypothesis that the hydroxylated 2-aryl-1,4-benzoquinone structure is the pharmacophore for 5-LO-inhibition within the class of 2-aryl-1,4-naphtho- and -aza-naphthoquinones the 2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-1,4-benzoquinones **24–28** were synthesized. It was shown that the 5-methoxy and 5-hydroxy compounds **24** and **27** are highly selective and potent 5-LO-inhibitors.

### 1. Einleitung

2-(3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-hydroxy-1,4-naphthochinon (Typ A:  $n = 0$ ) (Wurm 1991) ist ein selektiver 5-Lipoxygenase (LO)-Inhibitor ( $IC_{50} = 3.9 \mu M$ ). Durch

variable Methylierung des benzoiden Molekülteils (Typ A:  $n = 1-2$ ) konnte der  $IC_{50}$ -Wert geringfügig um den Faktor drei verringert werden (Wurm und Schwand 2003). Auch durch Variation des 3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenylrests unter Austausch einer Alkylgruppe gegen polare



Funktionen gelang es nicht, die Hemmaktivität in den submikromolekularen Bereich zu verschieben. Es konnte jedoch das Hemmspektrum innerhalb der Arachidonsäurekaskade erweitert werden (Richwien 2003). Eine Reihe dieser Verbindungen hemmt sowohl die 12-LO als auch die COX-1. Duale Hemmstoffe (5-LO/COX-1 und 12-LO/COX-1) wurden ebenfalls gefunden.

Bekannte 2-Aryl-1,4-naphthochinone (Typ A) und neue Aza-2-aryl-1,4-naphthochinone (Typ B)

In der vorliegenden Arbeit berichten wir über weitere Ansätze, durch Einbau von Stickstoff in den benzoiden Molekülteil des Standardinhibitors vom Typ A (n = 0) die Hemmung der 5- und 12-LO sowie COX-1 um eine Größenordnung zu verschieben und besonders hohe 12-LO Selektivität zu erreichen. Unter diesem Aspekt wurden die Aza-1,4-naphthochinon-Derivate vom Typ B synthetisiert. Auch das Auffinden von dualen 5-LO/12-LO-Hemmstoffen war von Interesse.

Als Enzymquelle für die biochemischen Testverfahren dienten humane Granulozyten (5-LO) und humane Thrombozyten (12-LO/COX-1 und cPLA<sub>2</sub>).

## 2. Untersuchungen, Ergebnisse und Diskussion

### 2.1 Synthese der Verbindungen

Die Synthese der Testverbindungen vom Typ B erfolgte auf folgenden Wegen:

Die für den Synthesestart erforderlichen Aza-1,4-naphthochinone **1**, **2** und **3** wurden nach literaturbekannten Verfahren gewonnen, **1** aus 8-Hydroxychinolin durch Singulett-Sauerstoffreaktion (Amareska 1999), **2** aus 5-Hydroxyisochinolin durch Teuber-Reaktion mit Kaliumnitrosodisulfonat (Wurm und Geres 1985) und **3** aus 3,6-

Dimethoxybenzol-1,2-diamin durch Chinoxalin-Ringschluss mit Glyoxal-Hydrogensulfit-Addukt und nachfolgender Cer(IV)-Oxidation (Billmann und Rendall 1944).

Die Azanaphthochinone **1–3** werden nach Standardmethode mit Brom in Eisessig bei RT mit nachfolgendem Erhitzen unter Zugabe von NaOAc in die Dibrom-Derivate **4–6** überführt. Diese werden mit 2,6-Di-*tert*-butylphenol und K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in DMSO zu den 2-(3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-Derivaten **7–11** monoaryliert. Dabei fallen **7/8** und **9/10** als Regioisomeren-Gemische an, von denen nur das Verbindungspaar **7/8** sc trennbar ist (Schema 1).

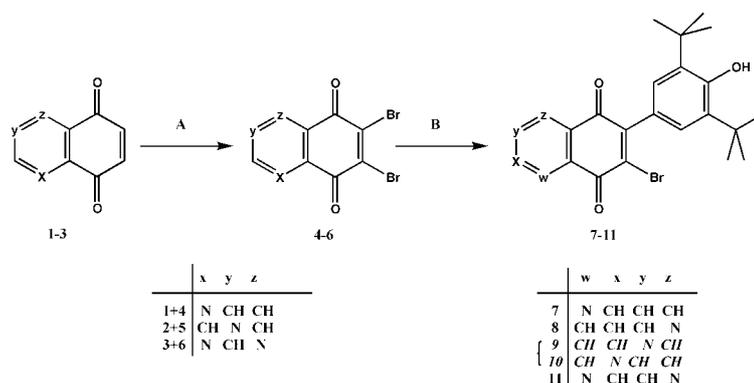
Aus **7/8** entstehen mit 1-molarer KOH in Methanol die 3-Methoxyverbindungen **12** und **13** und mit wässrig-methanolischer KOH die 3-Hydroxyderivate **14** und **15**. Auf gleichem Wege entsteht aus dem Isomergemisch **9/10** das Gemisch der Hydroxyisochinolinindione **16/17** (Schema 2).

Aus einem parallelen Synthesevorhaben stand mit dem zyklischen Chinonimin **21** eine weitere heterozyklische Testverbindung zur Verfügung. Die Synthese des Naphtho[2,1-b][1,4]thiazincarbonsäure-Derivats erfolgt in drei Stufen. Als Ausgangsverbindung dient das bekannte 2-Aryl-3-chlor-1,4-naphthochinon **18** (Wurm 1991), das mit N-Acetylcysteinylester in einer 1,4-Addition mit nachfolgender Chlorwasserstoffeliminierung in den Thioether **19** überführt wird. Bei der sauren Acetamidspaltung erfolgt Zyklisierung zum [1,4]Thiazinderivat **20**, das durch CAN-Oxidation die Zielverbindung **21** liefert (Schema 3).

Alle bisherigen Versuche, die Hemmstärke des Standard-5-LO-Inhibitors 2-(3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-hydroxy-1,4-naphthochinon (Typ A, n = 0) durch systematische Strukturvariation in allen Segmenten des Moleküls in den submikromolekularen Bereich zu verschieben, müssen – mit Ausnahme von **11** (siehe Tabelle 1 und Diskussion) – als nicht gelungen angesehen werden. **11** ist allerdings ein völlig unselektiver Hemmstoff der gesamten Kaskade. Die Erweiterung des Naphthochinonsystems durch lineare Annelierung von Benzol und Cyclohexan [Probst und Wurm 1998] führte zur Reduktion der 5-LO-Hemmaktivität. Aus diesen Befunden ergab sich die Frage, ob das Pharmakophor für die 5-LO-Inhibition das kleinste, gemeinsame Strukturfragment, das hydroxylierte 2-(3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-1,4-benzochinon, ist. Eine entsprechende Synthese ist in Schema 4 dargestellt.

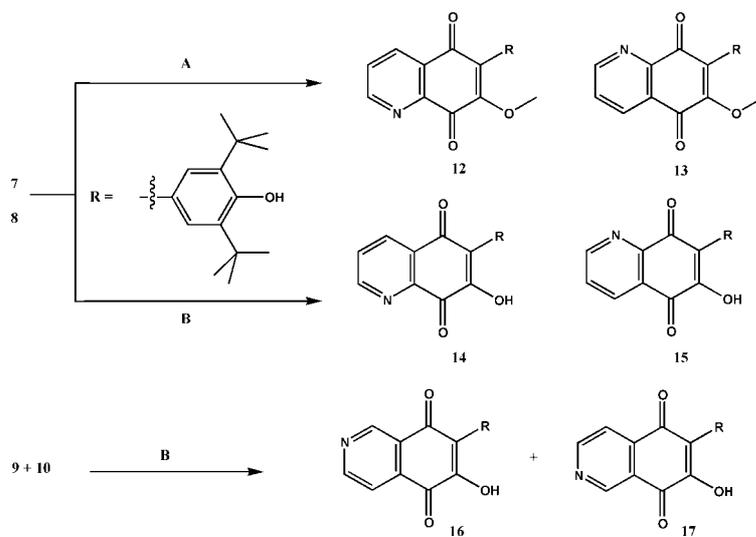
Startverbindung **22** entsteht aus Anisol durch Teuber-Reaktion im Zweiphasensystem CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O. Die Arylierung zu **24** als Hauptprodukt mit 2,6-Di-*tert*-butylphenol erfolgte in siedendem Eisessig mit Palladium(II)acetat (Oliveira, et al. 2000). Das Regioisomer **25** und das Bis-

### Schema 1

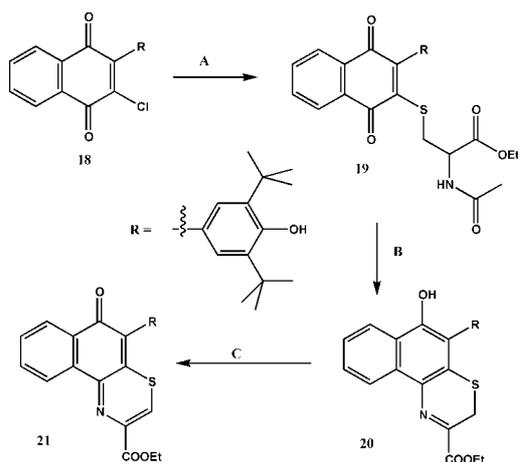


A: 1. Br<sub>2</sub>/AcOH/RT, 2. NaOAc/Δ, B: 1. 2,6-Di-*tert*-butylphenol/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/DMSO, 2. SC/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

Schema 2



Schema 3



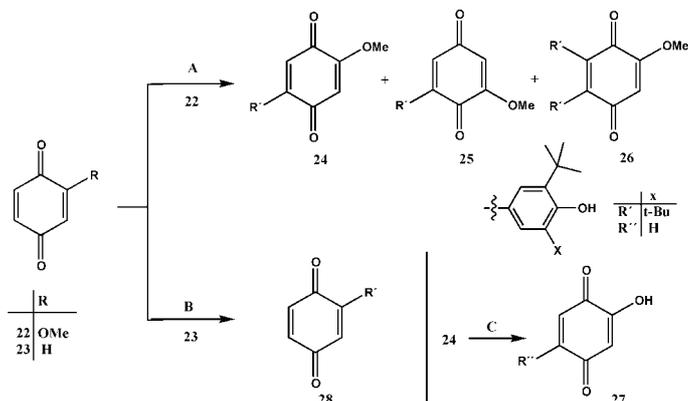
A: N-Acetylcysteinylester/DABCO/DMSO, B: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/H<sub>2</sub>O/AcOH/Δ, C: CAN/MeCN/RT

arylderivat **26** wurden als sc abtrennbare Nebenprodukte erhalten. Die Etherspaltung mit KOH/MeOH, HBr und BBr<sub>3</sub> führte ausschließlich zu Zersetzungsprodukten. Die Demethylierung gelang mit Me<sub>3</sub>SiI in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> bei RT. Dabei war allerdings die gleichzeitig ablaufende Monodebutylierung zu **27** nicht zu verhindern. Für die entsprechende Arylierung von 1,4-Benzochinon **23** war der Zusatz von Pd(OAc)<sub>2</sub> kontraproduktiv. Hier gelang die Reaktion zu **28** mit Hilfe von NaOAc, allerdings nur in schlechter Ausbeute. Neben Bis- und Trisarylderivaten, die für diese Untersuchungen nicht isoliert wurden, entsteht hauptsächlich 3,3',5,5'-Tetra-*tert*-butyldiphenochinon durch oxidative Dimerisierung von 2,6-Di-*tert*-butylphenol durch das Substrat 1,4-Benzochinon selbst.

## 2.2 Pharmakologische Untersuchungen

Alle 3-Bromverbindungen **7–11** hemmen die cPLA<sub>2</sub> im niedrigmolekularen Konzentrationsbereich. Es handelt sich daher um unselektive Inhibitoren der Arachidonsäurekaskade. Aus diesem gemeinsamen Aktivitätsprofil hebt sich die besonders potente Hemmung der 12-LO

Schema 4



A: 2,6-Di-*tert*-butylphenol (DTBP)/Pd(OAc)<sub>2</sub>/AcOH/Δ, B: DTBP/NaOAc/AcOH/Δ, C: Me<sub>3</sub>SiI/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

Tabelle: Ergebnisse zur Hemmung der 5-LO, 12-LO, COX-1 und cPLA<sub>2</sub> durch die Testverbindungen

Nr.	5-LO IC <sub>50</sub> (µM)	12-LO IC <sub>50</sub> (µM)	COX-1 IC <sub>50</sub> (µM)	cPLA <sub>2</sub> IC <sub>50</sub> (µM)
7	2.9 (2.5–3.2)	2.1 (1.3–3.5)	2.4 (1.8–3.1)	3.1 (2.6–3.7)
8	2.8 (2.5–3.2)	1.1 (0.58–2.1)	2.3 (1.2–4.3)	2.6 (2.4–2.9)
9/10	2.6 (2.3–2.9)	1.5 (1.1–2.1)	1.6 (0.80–3.2)	3.3 (2.6–4.2)
11	0.47 (0.21–0.81)	3.3 (2.6–4.1)	3.5 (2.0–6.2)	3.6 (2.0–6.4)
12	6.6 (3.8–11)	>100	1.0 (0.53–1.9)	n.b.
13	3.1 (2.9–3.3)	≥100	35 (30–41)	n.b.
14	≥100	12 (6.2–23)	3.5 (2.6–4.7)	n.b.
15	35 (31–40)	43 (34–54)	19 (13–28)	n.b.
16/17	19 (7.5–48)	1.2 (1.0–1.4)	0.99 (0.84–1.2)	n.b.
19	3.5 (3.0–4.1)	12 (8.2–18)	3.7 (2.6–5.3)	n.b.
20	9.0 (5.5–15)	≥10	5.2 (4.3–6.3)	≥10
21	3.0 (2.5–3.6)	≥10	>10	n.b.
24	2.3 (1.6–3.2)	>10	>10	n.b.
25	2.8 (2.1–3.6)	5.1 (3.7–7.0)	1.9 (0.77–4.7)	4.1 (2.7–6.2)
26	≥10	≥10	8.7 (5.6–13)	n.b.
27	1.7 (0.94–3.1)	≥10	>10	n.b.
28	2.5 (1.9–3.3)	6.1 (4.3–8.7)	5.1 (3.7–7.0)	>10

(n.b. = nicht bestimmt, () = 95%-Vertrauensintervall)

durch **8** und der 5-LO durch das Chinoxalinderivat **11** heraus. Diese potente Hemmung aller vier Enzyme deutet darauf hin, dass 2-Aryl-3-halogen-1,4-naphthochinone aufgrund ihrer Reaktivität (1,4-Addition von Nucleophilen mit nachfolgender Halogenwasserstoff-Eliminierung) grundsätzlich mit Proteinen kovalente Bindungen ausbilden und damit zytotoxisch wirken.

In der Reihe der Chinolin- und Isochinolinchinone **12–17** mit Sauerstofffunktion in 3-Position zeigten sich neue Effekte. Abweichend von den Hemmaktivitäten der analogen Naphthochinone (Typ A), bei denen die 3-Hydroxyverbindungen im Vergleich mit den 3-Methoxyderivaten die stärkeren 5-LO-Inhibitoren sind, kehren sich die Verhältnisse bei den entsprechenden Azanaphthochinonen um: Hier sind die 3-Methoxyverbindungen **12** und **13** die potenten 5-LO-Hemmer und **12** ein dualer 5-LO/COX-1-Inhibitor. Dagegen geht bei den 3-Hydroxyazanaphthochinonen die 5-LO-Hemmaktivität vollständig (**14**) bzw. weitgehend (**15** und **16/17**) verloren. Es kann vermutet werden, dass zwei polare Funktionen im Naphthochinonsystem (3-OH und Stickstoff) nachteilig für die Interaktion mit dem aktiven Zentrum sind. Während **14** ein selektiver COX-1-Hemmer ist, ist das Isomergemisch **16/17** ein potenter dualer 12-LO/COX-1-Inhibitor.

Die Naphthothiazin-Derivate **20** und **21** zeichnen sich durch folgende Aktivitäten aus: Die Vorstufe, das 2-Aryl-1,4-naphthochinon-Cysteinonjugat **19** ist ein unselektiver Hemmstoff, sein phenolisches Zyklisierungsprodukt **20** ist ein dualer mäßig potenter 5-LO/COX-1-Hemmer und das chinoide Oxidationsprodukt, das zyklische Chinonimin **21**, hemmt selektiv die 5-LO.

Die Ergebnisse der 2-Arylnaphthochinon-Reihe bestätigen die aufgestellte Hypothese, dass das Pharmakophor für die 5-LO-Hemmung in den Stoffklassen der 2-Aryl-1,4-anthra-, -naphtho- und -azanaphthochinone durch das 2-Aryl-1,4-benzochinonsystem repräsentiert wird. Bereits die 5-Methoxyverbindung **24** ist ein stärkerer selektiver 5-LO-Hemmer als der Standardinhibitor 2-(3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-hydroxy-1,4-naphthochinon (Typ A: n = 0). Wird das Methoxyderivat demethyliert, so liegt mit **27** einer der potentesten selektiven 5-LO-Inhibitoren vor, obgleich der Verbindung synthesebedingt eine *tert*-Butylgruppe fehlt, was erfahrungsgemäß zu einem Aktivitätsverlust führt (Wurm und Schwandt 1999). Es kann davon ausgegangen werden, dass das entsprechende Di-*tert*-butylderivat ein im

submikromolekularen Bereich aktiver selektiver 5-LO-Inhibitor sein würde.

Die 6-Methoxyverbindung **25** ist bemerkenswerterweise ein unselektiver Hemmstoff, der auch die cPLA<sub>2</sub> hemmt, während das Bis-(3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-Derivat **26** nur noch ein schwacher selektiver COX-1-Hemmer ist. 2-(3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-1,4-benzochinon (**28**) ohne Sauerstofffunktion im chinoiden System hemmt alle drei Enzyme der Arachidonsäurekaskade ohne die cPLA<sub>2</sub> zu beeinflussen.

Ein weiteres wesentliches Ergebnis der Untersuchung der 2-Aryl-1,4-benzochinon-Klasse ist der Befund, dass für die Selektivität der Enzyminhibition innerhalb der Arachidonsäurekaskade nicht nur die Anwesenheit, sondern auch die Position einer Sauerstofffunktion im chinoiden System von ausschlaggebender Bedeutung ist.

### 3. Experimenteller Teil

#### 3.1. Allgemeine Angaben

*Schmelzpunkte:* MELT-TEMP II, Laboratory Devices, USA. Elementaranalysen: Elemental Analyzer 240 B und C, Perkin-Elmer. Die Ergebnisse der C-H-Werte entsprachen in den Grenzen ± 0.4% absolut den berechneten Werten. Massenspektren: CH-7A-Varian MAT. EI-MS: Ionisierungsenergie 70 eV. IR-Spektren: Spektralphotometer 297 und 1420 Ratio Recording Infrarot Spectrometer, Perkin-Elmer. <sup>1</sup>H NMR-Spektren: Bruker AC-300 (300 MHz) und Bruker AVANCE-TM-DPX (400 MHz), TMS als innerer Standard. Die Interpretation der Spektren erfolgte nach den Regeln für Spektren erster Ordnung. Hieraus resultieren die teilweise nicht identischen J-Werte. SC: Kieselgel 60 Machery & Nagel, 0.063–0.2 mm, Art.-Nr. 81533. HPLC: Merck Hitachi (L-6200 Intelligent Pump, D-4250 UV-Vis Detector, D-2500 Chromato Integrator), Säule (ET 250/4 Nucleosil 100–5 C<sub>18</sub>, Machery & Nagel). Festphasenextraktion: RP-18 Säulen (Baker), Zellsolierung: Polymorphprep Nycomed (Lieferfirma Life Technologies GmbH, 76131 Karlsruhe).

#### 3.2. Ausgangsverbindungen

2-Methoxy-1,4-benzochinon (**22**), 1,4-Benzochinon (**23**)

#### 3.3. Bekannte Verbindungen

Chinolin-5,8-dion (Amareska 1999) (**1**), Isochinolin-5,8-dion (Barret und Daudon 1990) (**2**), Chinoxalin-5,8-dion (Adachi 1955) (**3**), 6,7-Dibromchinoxalin-5,8-dion (Boutherin-Falson und Desquand-Billiald 1997) (**6**), 2-(3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-chlor-1,4-naphthochinon (Wurm 1991) (**18**)

#### 3.4. Synthese der heterozyklischen anellierten Dibrom-1,4-benzochinone

Zu einer Lösung von 1 mmol 1,4-Benzochinonderivat in Eisessig wird die doppelte molare Menge einer Bromlösung (1 mmol/mL) gegeben und bei

RT 30 min gerührt. Zur HBr-Abspaltung wird 5 min mit 2 mmol Natriumacetat zum Sieden erhitzt und beim Abkühlen auf 80–90 °C wird H<sub>2</sub>O hinzugegeben. Der auskristallisierende Niederschlag wird abgesaugt und getrocknet oder die wässrige Phase wird mehrmals mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert, mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und zur Trockene eingengt.

### 3.4.1. 6,7-Dibromchinolin-5,8-dion (4)

Aus **1** (Ausbeute: 75%). Es kristallisieren orange Nadeln, Schmp. 242 °C (H<sub>2</sub>O). Die Substanz wurde sofort weiter zu **7** und **8** umgesetzt. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, ppm): δ = 7.75 (dd, J = 4.6/7.8 Hz, 1 H, 3-H), 8.52 (dd, J = 1.4/7.8 Hz, 1 H, 4-H), 9.09 (dd, J = 1.4/4.4 Hz, 1 H, 2-H). MS: m/z (%) = 319/317/315 (M<sup>+</sup>, <sup>79/81</sup>Br, 48/100/50), 291/289/287 ([M-CO]<sup>+</sup>, 9/20/11) 238/236 ([M-Br]<sup>+</sup>, 77/79), 210/208 ([M-Br-CO]<sup>+</sup>, 27/25), 182/180 ([M-Br-2 CO]<sup>+</sup>, 64/68), 131 ([M-2 Br-CO]<sup>+</sup>, 24), 100 ([M-2 Br-2 CO]<sup>+</sup>, 56). C<sub>9</sub>H<sub>3</sub>NO<sub>2</sub> (316.9)

### 3.4.2. 6,7-Dibromisochinolin-5,8-dion (5)

Aus **2** (Ausbeute: 40%). Schmp. 210 °C (Zers.). Die Verbindung wurde sofort zu **9/10** umgesetzt. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, ppm): δ = 7.97 (d, J = 5.0 Hz, 1 H, 4-H), 9.09 (d, J = 5.0 Hz, 1 H, 3-H), 9.44 (s, 1H, 1-H). MS: m/z (%) = 319/317/315 (M<sup>+</sup>, <sup>79/81</sup>Br, 48/100/48), 238/236 ([M-Br]<sup>+</sup>, 89/97), 210/208 ([M-Br-CO]<sup>+</sup>, 34/36), 182/180 ([M-Br-2 CO]<sup>+</sup>, 39/38), 155/153 ([M-2 Br]<sup>+</sup>, 18/18), 133/131 ([M-2 Br-CO]<sup>+</sup>, 33/34). C<sub>9</sub>H<sub>3</sub>Br<sub>2</sub>NO<sub>2</sub> (316.9)

## 3.5. Synthese der heterozyklisch anellierten Brom-2-arylbenzochinone

6.3 mmol des 2,3-Dibrom-1,4-benzochinonderivats werden in 50 mL DMSO gelöst und mit 1.3 g 2,6-Di-*tert*-butylphenol sowie 1.7 g fein gemahlenem Kaliumcarbonat versetzt. Es wird 30 min bei RT gerührt und die Reaktion anschließend durch Zugabe von 150 mL H<sub>2</sub>O beendet. Nach vorsichtigem Ansäuern mit HCl ce. wird mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert. Die Reinigung und Trennung erfolgt dann durch SC mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

### 3.5.1. 7-Brom-6-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-chinolin-5,8-dion (7)

Aus **4** (Ausbeute: 30%). Die Isomerentrennung erfolgte durch SC mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. 2. Fraktion: Goldgelbe Kristalle, Schmp. 233 °C (Ligroin). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3621 (OH), 3061 (CH: aromatisch), 2957, 2923, 2872 (CH: t-Bu), 1686 (C=O), 1590 (C=C: aromatisch). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, ppm): δ = 1.48 (s, 18 H, 2 t-Bu), 5.52 (s, 1 H, OH), 7.22 (s, 2 H, 2'- u. 6'-H), 7.74 (dd, J = 4.6/7.9 Hz, 1 H, 3-H), 8.49 (dd, J = 1.1/7.7 Hz, 1 H, 4-H), 8.95–9.19 (m, 1 H, 2-H). MS: m/z (%) = 443/441 (M<sup>+</sup>, <sup>79/81</sup>Br, 43/41), 428/426 ([M-Me]<sup>+</sup>, 100/92), 387/385 ([M-t-Bu]<sup>+</sup>, 11/11), 57 ([t-Bu]<sup>+</sup>, 89). C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>BrNO<sub>3</sub> (442.3)

### 3.5.2. 6-Brom-7-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-chinolin-5,8-dion (8)

Aus **4** (Ausbeute: 50%). Die Isomerentrennung erfolgte durch SC mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. 1. Fraktion: Dunkelrote Nadeln, Schmp. 217 °C (Ligroin). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3624, 3415 (OH), 3096 (CH: aromatisch), 2959, 2872 (CH: t-Bu), 1681 (C=O), 1591 (C=C: aromatisch). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, ppm): δ = 1.47 (s, 18 H, 2 t-Bu), 5.54 (s, 1 H, OH), 7.27 (s, 2 H, 2'- u. 6'-H), 7.76 (dd, J = 4.5/7.8 Hz, 1 H, 3-H), 8.57 (d, J = 7.9 Hz, 1 H, 4-H), 9.09 (d, J = 4.3 Hz, 1 H, 2-H). MS: m/z (%) = 443/441 (M<sup>+</sup>, <sup>79/81</sup>Br, 26/23), 428/426 ([M-Me]<sup>+</sup>, 68/66), 387/385 ([M-t-Bu]<sup>+</sup>, 63/63), 372/370 ([M-Me-t-Bu]<sup>+</sup>, 22/23), 57 ([t-Bu]<sup>+</sup>, 100). C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>BrNO<sub>3</sub> (442.3)

### 3.5.3. 6/7-Brom-7/6-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-isochinolin-5,8-dion (9/10)

Aus **5** (Ausbeute: 36%). Eine sc Trennung des Gemisches ist nicht möglich. Das Verhältnis der Isomere **9/10** lässt sich dem <sup>1</sup>H NMR-Spektrum entnehmen und beträgt 5:1. Dunkelrote Kristalle (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3619, 3449 (OH), 3093, 3067 (CH: aromatisch), 2959, 2913, 2873 (CH: t-Bu), 1676 (C=O), 1586 (C=C: aromatisch). <sup>1</sup>H NMR ([D<sub>6</sub>] DMSO, ppm): δ = 1.41 (s, 18 H, 2 t-Bu), 7.20 (s, 2 H, 2'- u. 6'-H), 7.37 (s, 1 H, OH), 7.90 (d, J = 5.0 Hz, 1 H, 4-H, **10**), 7.95 (d, J = 5.0 Hz, 1 H, 4-H, **9**), 9.10 (d, J = 5.0 Hz, 1 H, 3-H), 9.23 (s, 1 H, 1-H, **9**), 9.27 (s, 1 H, 1-H, **10**). MS: m/z (%) = 443/441 (M<sup>+</sup>, <sup>79/81</sup>Br, 37/34), 428/426 ([M-Me]<sup>+</sup>, 85/83), 387/385 ([M-t-Bu]<sup>+</sup>, 17/17), 57 ([t-Bu]<sup>+</sup>, 100). C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>BrNO<sub>3</sub> (442.3)

### 3.5.4. 6-Brom-7-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-chinoxalin-5,8-dion (11)

Aus **6** (Ausbeute: 43%). Rostrote Kristalle, Schmp. 237 °C (Cyclohexan). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3619, 3434 (OH), 2957, 2913, 2873 (CH: t-Bu), 1687 (C=O), 1596 (C=C: aromatisch). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, ppm): δ = 1.48 (s, 18 H, 2 t-Bu), 5.59 (s, 1 H, OH), 7.26 (s, 2 H, 2'- u. 6'-H), 9.08 (s, 2 H, 2-

u. 3-H). MS: m/z (%) = 444/442 ([M<sup>+</sup>, <sup>79/81</sup>Br], 48/40), 429/427 ([M-Me]<sup>+</sup>, 97/100), 401/399 ([M-Me-CO]<sup>+</sup>, 8/7), 388/386 ([M-t-Bu]<sup>+</sup>, 34/33), 373/371 ([M-Me-t-Bu]<sup>+</sup>, 20/22), 57 ([t-Bu]<sup>+</sup>, 86). C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (443.3)

## 3.6. Synthese der heterozyklisch anellierten Methoxy-2-arylbenzochinone

Eine 50 °C warme Lösung von 2 mmol der Halogenverbindung in 100 mL Methanol wird unter starkem Rühren und Argonatmosphäre tropfenweise mit einer Lösung von 2 mmol NaOH in 10 mL Methanol versetzt. Der Ansatz wird 12 h bei RT weitergeführt, anschließend in 200 mL Eiswasser gegossen und mit HCl angesäuert. Die rote Suspension wird mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert und die organische Phase mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Einengen wird der Rückstand sc mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gereinigt.

### 3.6.1. 6-(3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-7-methoxychinolin-5,8-dion (12)

Aus **7** (Ausbeute: 84%). Orange-rote Kristalle, Schmp.: 196 °C (Ligroin). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3596, 3438 (OH), 3077, 3055 (CH: aromatisch), 2956, 2873 (CH: t-Bu), 1680, 1656 (C=O), 1592 (C=C: aromatisch). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, ppm): δ = 1.47 (s, 18 H, 2 t-Bu), 3.97 (s, 3 H, OMe), 5.44 (s, 1 H, OH), 7.23 (s, 2 H, 2'- u. 6'-H), 7.67 (dd, J = 4.6/7.8 Hz, 1 H, 3-H), 8.46 (dd, J = 1.3/7.9 Hz, 1 H, 4-H), 9.02 (dd, J = 1.2/4.5 Hz, 1 H, 2-H). MS: m/z (%) = 393 (M<sup>+</sup>, 82), 378 ([M-Me]<sup>+</sup>, 100), 57 ([t-Bu]<sup>+</sup>, 24), 28 ([CO]<sup>+</sup>, 100). C<sub>24</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>4</sub> (393.5)

### 3.6.2. 7-(3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-6-methoxychinolin-5,8-dion (13)

Aus **8** (Ausbeute: 47%). Gelb-oranger Kristalle, Schmp. 182 °C (Ligroin). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3603, 3497, 3439, 3386 (OH), 2955, 2914, 2874 (CH: t-Bu), 1670 (C=O), 1597, 1578 (C=C: aromatisch). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, ppm): δ = 1.47 (s, 18 H, 2 t-Bu), 3.92 (s, 3 H, OMe), 5.44 (s, 1 H, OH), 7.28 (s, 2 H, 2'- u. 6'-H), 7.65 (dd, J = 4.6/7.8 Hz, 1 H, 3-H), 8.46 (dd, J = 1.6/7.8 Hz, 1 H, 4-H), 9.02 (dd, J = 1.6/4.6 Hz, 1 H, 2-H). MS: m/z (%) = 393 (M<sup>+</sup>, 48), 378 ([M-Me]<sup>+</sup>, 73), 322 ([M-Me-t-Bu]<sup>+</sup>, 46), 57 ([t-Bu]<sup>+</sup>, 40). C<sub>24</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>4</sub> (393.5)

## 3.7. Synthese der heterozyklisch anellierten Hydroxy-2-arylbenzochinone

2 mmol der Halogenverbindung werden in 100 mL NaOH-Lsg. (1 mol/L, Methanol/H<sub>2</sub>O = 1 + 1) 90 min unter Argonatmosphäre zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten wird der Ansatz mit 200 mL H<sub>2</sub>O verdünnt und vorsichtig mit HCl angesäuert. Die vereinigten CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Extrakte werden mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und nach dem Einengen mit Toluol sc gereinigt.

### 3.7.1. 6-(3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-7-hydroxychinolin-5,8-dion (14)

Aus **7**, sc Reinigung abweichend mit Ethylacetat (Ausbeute: 35%). Violette Kristalle, Schmp. 260 °C (Ligroin). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3440, 3399 (OH), 2958, 2919, 2875 (CH: t-Bu), 1673, 1650 (C=O), 1596, 1580 (C=C: aromatisch). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, ppm): δ = 1.48 (s, 18 H, 2 t-Bu), 5.45 (s, 1 H, 4'-OH), 7.41 (s, 2 H, 2'- u. 6'-H), 7.65 (s, 1 H, 7-OH), 7.71 (dd, J = 4.6/7.8 Hz, 1 H, 3-H), 8.53 (dd, J = 1.5/7.9 Hz, 1 H, 4-H), 9.00 (dd, J = 1.4/4.5 Hz, 1 H, 2-H). MS: m/z (%) = 379 (M<sup>+</sup>, 33), 364 ([M-Me]<sup>+</sup>, 35), 323 ([M-t-Bu]<sup>+</sup>, 100), 308 ([M-Me-t-Bu]<sup>+</sup>, 21), 57 ([t-Bu]<sup>+</sup>, 48). C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>4</sub> (379.4)

### 3.7.2. 7-(3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-6-hydroxychinolin-5,8-dion (15)

Aus **8**, sc Reinigung abweichend mit Ethylacetat (Ausbeute: 60%). Rote Kristalle. IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3612, 3442, 3399 (OH), 2958, 2917, 2874 (CH: t-Bu), 1661, 1629 (C=O), 1580 (C=C: aromatisch). <sup>1</sup>H NMR ([D<sub>6</sub>] DMSO, ppm): δ = 1.40 (s, 18 H, 2 t-Bu), 7.11 (s, 1 H, 4'-OH), 7.17 (s, 2 H, 2'- u. 6'-H), 7.80 (dd, J = 4.8/7.8 Hz, 1 H, 3-H), 8.35–8.44 (m, 1 H, 4-H), 8.94–9.05 (m, 1 H, 2-H), 10.92 (s, 1 H, 6-OH). MS: m/z (%) = 379 (M<sup>+</sup>, 47), 364 ([M-Me]<sup>+</sup>, 69), 323 ([M-t-Bu]<sup>+</sup>, 100), 267 ([M-2 t-Bu]<sup>+</sup>, 21), 57 ([t-Bu]<sup>+</sup>, 62). C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>4</sub> (379.4)

### 3.7.3. 7/6-(3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-6/7-hydroxyisochinolin-5,8-dion (16/17)

Aus **9/10** (Ausbeute: 11%). Die Isomere lassen sich sc nicht trennen. Anhand des <sup>1</sup>H NMR-Spektrums konnte ein Isomerieverhältnis **16/17** von 10:1 ermittelt werden. Rot-braune Kristalle (Cyclohexan). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3630, 3396 (OH), 2957, 2915, 2873 (CH: t-Bu), 1665, 1655 (C=O), 1595 (C=C: aromatisch). <sup>1</sup>H NMR ([D<sub>6</sub>] DMSO, ppm): δ = 1.40 (s, 18 H, 2 t-Bu), 7.10 (s, 1 H, 4'-OH), 7.18 (s, 2 H, 2'- u. 6'-H), 7.84 (d, J = 4.9 Hz, 1 H, 4-H, **16**), 7.94 (d, J = 4.9 Hz, 1 H, 4-H **17**), 9.04 (d, J = 4.8 Hz, 1 H,

3-H, **16**), 9.10 (d, 4.8 Hz, 1H, 3-H, **17**), 9.18 (s, 1H, 1-H, **16**), 9.23 (s, 1H, 1-H, **17**), 11.09 (s, 1H, 6/7-OH). MS:  $m/z$  (%) = 379 ( $M^+$ , 63), 364 ( $[M-Me]^+$ , 100), 323 ( $[M-t-Bu]^+$ , 36), 57 ( $[t-Bu]^+$ , 40).  $C_{23}H_{25}NO_4H_2O$  (397.5)

### 3.8. Synthese der Thiazine

#### 3.8.1. Ethyl-2-acetyl-amino-3-[3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-1,4-dioxo-1,4-dihydro-2-naphthylsulfanyl]-propionat (**19**)

1 mmol 2-Brom-3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-1,4-naphthochinon wird in 20 mL DMSO gelöst und unter Zusatz je einer äquimolaren Menge *N*-Acetylcysteinethylester und DABCO 30 min bei RT gerührt. Nach Abschluss der Reaktion wird mit 100 mL  $H_2O$  versetzt und vorsichtig mit HCl cc. angesäuert. Nach Extraktion mit  $CH_2Cl_2$  und Trocknen mit  $Na_2SO_4$  wird eingeeignet und der Rückstand sc mit Toluol/Ether (9 + 1) gereinigt. (Ausbeute: 50%). Orange Kristalle, Schmp. 92 °C (Zers.) (Cyclohexan). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3629, 3596 (OH), 3383 (NH), 3072 (CH), 2958, 2913, 2873 (t-Bu), 1742, 1666 (C=O), 1594 (C=C).  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , ppm):  $\delta$  = 1.12 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 3H,  $CH_2CH_3$ ), 1.43 (s, 18H, 2 t-Bu), 1.80 (s, 3H, COMe), 3.22–3.41 (m, 2H, -S- $CH_2$ -), 3.82–4.05 (m, 2H,  $CH_2CH_3$ ), 4.56–4.70 (m, 1H, CH), 5.50 (s, 1H, OH), 6.19 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 1H, NH), 7.10 (d,  $J$  = 2.0 Hz, 2H, 2'- u. 6'-H), 7.67–7.83 (m, 2H, 6- u. 7-H), 8.08–8.20 (m, 2H, 5- u. 8-H). MS:  $m/z$  (%) = 551 ( $M^+$ , 28), 492 ( $[M-NHCOMe]^+$ , 13), 436 ( $[M-NHCOMe-t-Bu]^+$ , 17), 407 ( $[M-NHCOMe-t-Bu-Et]^+$ , 83), 158 ( $[C_{10}H_6O_2]^+$ , 63), 57 ( $[t-Bu]^+$ , 100), 43 ( $[CH_3CO]^+$ , 52).  $C_{31}H_{37}NO_6S$  (551.7)

#### 3.8.2. Ethyl-5-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-6-hydroxy-3H-naphtho[2,1-b][1,4]thiazin-2-carboxylat (**20**)

1 mmol **19** wird in 20 mL Ethanol gelöst und mit 5 mL  $H_2SO_4$  (50%) zum Sieden erhitzt. Nach beendeter Reaktion wird der Ansatz mit 50 mL  $H_2O$  verdünnt und mit  $CH_2Cl_2$  extrahiert. Der nach Trocknen mit  $Na_2SO_4$  und Einengen verbleibende Rückstand wird mit  $CH_2Cl_2$  sc gereinigt (Ausbeute: 60%). Ockerfarbene Kristalle, Schmp. 206 °C (Cyclohexan). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3628, 3509 (OH), 3069 (CH), 2959, 2911, 2872 (t-Bu), 1710 (C=O), 1617 (C=N), 1601 (C=C).  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , ppm):  $\delta$  = 1.38–1.54 (m, 21H, 2 t-Bu u.  $CH_2CH_3$ ), 3.50 (s, 2H, 3- $CH_2$ ), 4.38–4.56 (m, 2H,  $CH_2CH_3$ ), 5.45 (s, 1H, 4'-OH), 5.93 (s, 1H, 6-OH), 7.19 (s, 2H, 2'- u. 6'-H), 7.44–7.55 (m, 1H, 8-H), 7.55–7.65 (m, 1H, 9-H), 8.11–8.27 (m, 1H, 10-H), 8.43–8.57 (m, 1H, 7-H). MS:  $m/z$  (%) = 491 ( $M^+$ , 100), 435 ( $[M-t-Bu]^+$ , 11), 57 ( $[t-Bu]^+$ , 13).  $C_{29}H_{33}NO_4S$  (491.6)

#### 3.8.3. Ethyl-5-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-6-oxo-6H-naphtho[2,1-b][1,4]thiazin-2-carboxylat (**21**)

1 mmol Ammoniumcer(IV)-nitrat wird in 5 mL Acetonitril mit wenig  $H_2O$  gelöst. Parallel wird eine Lösung von **20** in 10 mL DMF unter Erwärmen zubereitet. Nach dem Abkühlen werden beide Lösungen vereint und 10 min bei RT gerührt. Danach wird der Ansatz in 50 mL  $H_2O$  gegeben, mit  $CH_2Cl_2$  extrahiert und nach Trocknen mit  $Na_2SO_4$  und Einengen mit Toluol/Ether (9 + 1) sc gereinigt (Ausbeute: 50%). Rot-violette Kristalle, Schmp. 142 °C (Cyclohexan). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3630, 3440 (OH), 3067 (CH: aromatisch), 2957, 2872 (CH: t-Bu), 1733 (C=O: Ester), 1711 (C=O: Keton), 1628 (C=N), 1596 (C=C: aromatisch).  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , ppm):  $\delta$  = 1.44–1.49 (m, 21H, 2 t-Bu u.  $CH_2CH_3$ ), 4.44 (q,  $J$  = 7.1/14.2 Hz, 2H,  $CH_2CH_3$ ), 5.39 (s, 1H, OH), 7.11 (s, 2H, 2'- u. 6'-H), 7.75–7.87 (m, 2H, 8- u. 9-H), 8.00 (s, 1H, 3-H), 8.33–8.42 (m, 1H, 7-H), 8.91–9.03 (m, 1H, 10-H). MS:  $m/z$  (%) = 489 ( $M^+$ , 65), 474 ( $[M-Me]^+$ , 16), 433 ( $[M-t-Bu]^+$ , 100), 57 ( $[t-Bu]^+$ , 43), 29 ( $[Et]^+$ , 18).  $C_{29}H_{31}NO_4S$  (489.0)

### 3.9 Synthese der Methoxyaryl-1,4-benzochinone

Eine Lösung von 1 mmol **22**, einer äquimolaren Menge Palladiumacetat und 2,6-Di-tert-butylphenol in 25 mL Essigsäure wird unter Argonatmosphäre zum Sieden erhitzt. Nach beendeter Reaktion wird das Gemisch abgekühlt, filtriert und in eine gesättigte Kochsalzlösung gegeben. Nach Extraktion mit Chloroform werden die vereinigten organischen Phasen mit  $Na_2SO_4$  getrocknet und eingeeignet. Die Trennung und Aufarbeitung der entstandenen Produkte erfolgt mittels SC mit Toluol/Ether (9 + 1).

#### 3.9.1. 2-(3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-5-methoxy-1,4-benzochinon (**24**)

Ausbeute: 40% nach sc Trennung mit Toluol/ Ether (9 + 1), 2. Fraktion. Leuchtend rote Kristalle, Schmp. 267–269 °C (Cyclohexan). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3607 (OH), 3075, 3050 (CH), 2955, 2912, 2876 (t-Bu), 1662, 1624 (C=O), 1596 (C=C).  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , ppm):  $\delta$  = 1.46 (s, 18H, 2 t-Bu), 3.87 (s, 3H, OMe), 5.54 (s, 1H, OH), 6.00 (s, 1H, 6-H), 6.76 (s, 1H, 3-H), 7.35 (s, 2H, 2'- u. 6'-H). MS:  $m/z$  (%) = 342 ( $M^+$ , 54), 327 ( $[M-Me]^+$ , 100), 286 ( $[M-t-Bu]^+$ , 31), 57 ( $[t-Bu]^+$ , 30).  $C_{21}H_{26}O_4$  (342.4)

#### 3.9.2. 2-(3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-6-methoxy-1,4-benzochinon (**25**)

Ausbeute: 7.5% nach sc Trennung mit Toluol/Ether (9 + 1), 1. Fraktion. Orange Kristalle, Schmp. 185–186 °C (Cyclohexan). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3621, 3453 (OH), 3061 (CH), 2959 (t-Bu), 1677, 1641 (C=O), 1586 (C=C).  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , ppm):  $\delta$  = 1.46 (s, 18H, 2 t-Bu), 3.87 (s, 3H, OMe), 5.52 (s, 1H, OH), 6.74 (d,  $J$  = 2.4 Hz, 1H, 5-H), 7.26 (s, 1H, 3-H), 7.34 (s, 2H, 2'- u. 6'-H). MS:  $m/z$  (%) = 342 ( $M^+$ , 54), 327 ( $[M-Me]^+$ , 100), 57 ( $[t-Bu]^+$ , 31).  $C_{21}H_{26}O_4$  (342.4)

#### 3.9.3. 2,3-Bis-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-5-methoxy-1,4-benzochinon (**26**)

Ausbeute: 2.5% nach sc Trennung mit Toluol/Ether (9 + 1), 3. Fraktion. Tiefviolette Kristalle, Schmp. 267–268 °C (Cyclohexan). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3637 (OH), 2957, 2914, 2874 (CH: t-Bu), 1670, 1637 (C=O), 1599 (C=C: aromatisch).  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , ppm):  $\delta$  = 1.26/1.27 (2s, 36H, 4 t-Bu), 3.89 (s, 3H, OMe), 5.18 (s, 1H, 4'-OH), 5.20 (s, 1H, 4'-OH), 6.07 (s, 1H, 6-H), 6.76 (s, 2H, 2'- u. 6'-H), 6.77 (s, 2H, 2'- u. 6'-H). MS:  $m/z$  (%) = 546 ( $M^+$ , 68), 518 ( $[M-CO]^+$ , 15), 490 ( $[M-t-Bu]^+$ , 16), 57 ( $[t-Bu]^+$ , 100).  $C_{35}H_{46}O_5$  (546.7)

### 3.10. Synthese des Aryl- (**28**) und des Hydroxyaryl-1,4-benzochinons (**27**)

#### 3.10.1. 2-(3-tert-Butyl-4-hydroxyphenyl)-5-hydroxy-1,4-benzochinon (**27**)

Die Lösung von 1 mmol **24** in 10 mL  $CH_2Cl_2$  wird unter Eiskühlung mit 1 mL  $Me_3SiH$  3 h unter Argon gerührt. Danach werden unter weiterer Eiskühlung 5 mL MeOH tropfenweise zum Ansatz hinzugegeben, der dann bei RT im Vakuum zur Trockene eingeeignet wird. Der Rückstand wird abschließend sc mit  $CH_2Cl_2$  gereinigt (Ausbeute: 20%). Schwarz-rote, metallisch glänzende Kristalle, Schmp. 182–184 °C (Cyclohexan/Toluol = 2 + 1).  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , ppm):  $\delta$  = 1.42 (s, 9H, t-Bu), 5.15 (s, 1H, 4'-OH), 6.18 (s, 1H, 3-H), 6.72 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 1H, 5'-H), 6.83 (s, 1H, 6-H), 7.01 (s, 1H, 5-OH), 7.30 (dd,  $J$  = 2.2/8.3 Hz, 1H, 6'-H), 7.41 (d,  $J$  = 2.1 Hz, 1H, 2'-H). MS:  $m/z$  (%) = 272 ( $M^+$ , 20), 257 ( $[M-Me]^+$ , 48), 216 ( $[M-t-Bu]^+$ , 100), 57 ( $[t-Bu]^+$ , 69).  $C_{16}H_{16}O_4$  (272.3)

#### 3.10.2. 2-(3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-1,4-benzochinon (**28**)

0.1 mmol **23**, 0.05 mmol 2,6-Di-tert-butylphenol und 10 g Natriumacetat werden in 100 mL Eisessig 12 h zum Sieden erhitzt. Anschließend wird der Ansatz in 2 L Eiswasser gegeben und es wird mit 500 mL  $CH_2Cl_2$  extrahiert. Danach wird dreimal mit 1 L  $H_2O$  neutral gewaschen, mit  $Na_2SO_4$  getrocknet und abschließend sc mit Toluol/Ether (9 + 1) gereinigt (Ausbeute: 10%). Schmp. 139 °C (Cyclohexan). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3629 (OH), 2960, 2913, 2874 (CH: t-Bu), 1655 (C=O), 1595 (C=C).  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , ppm):  $\delta$  = 1.46 (s, 18H, 2 t-Bu), 5.53 (s, 1H, OH), 6.79–6.83 (m, 3H, 3-, 5- u. 6-H), 7.34 (s, 2H, 2'-u.6'-H). MS:  $m/z$  (%) = 312 ( $M^+$ , 46), 297 ( $[M-Me]^+$ , 100), 57 ( $[t-Bu]^+$ , 37).  $C_{20}H_{24}O_3$  (312.4)

### 3.11 Bestimmung der 5-LO-Inhibition

Das Literaturverfahren (Dannhardt und Lehr 1992) wurde in folgender Weise modifiziert: Die Isolierung der humanen Granulozyten erfolgte aus Citratvollblut mittels Polymorphprep.<sup>®</sup> Die in DMSO gelösten Testsubstanzen bzw. DMSO allein für die Kontrollmessung wurden mit den in PBS suspendierten Granulozyten versetzt und nach 10 min weitere 5 min lang mit  $CaCl_2$  vorinkubiert (DMSO-Endkonzentration: 0.25% (v/v)). Danach wurde die Enzymreaktion mit Calciumionophor A23187 gestartet und nach 5 min mit Nordihydroguajaretsäure (gelöst in MeOH/MeCN) abgebrochen. Nach Festphasenextraktion wurde der Entzündungsmediator LTB<sub>4</sub> mittels HPLC quantifiziert. Zur Bestimmung der Enzymhemmung wurden die Mittelwerte in Anwesenheit ( $n = 4$ ) und in Abwesenheit ( $n = 4$ ) der Testsubstanzen ins Verhältnis gesetzt. Die Hemmung war statistisch signifikant verglichen mit den Kontrollwerten (Student t-Test,  $P < 0.05$ ).

### 3.12 Bestimmung der 12-LO- und COX-1-Inhibition

Das Literaturverfahren (Lehr 1989) wurde in folgender Weise modifiziert: Die Isolierung der Thrombozyten erfolgte nach Zentrifugation durch ABERNEN des plättchenreichen Plasmas. Die in DMSO gelösten Testsubstanzen bzw. DMSO allein für die Kontrollmessung wurden der eingestellten Thrombozytensuspension zugesetzt und nach 10 min weitere 5 min lang mit  $CaCl_2$  vorinkubiert (DMSO-Endkonzentration: 0.25% (v/v)). Danach wurde die Enzymreaktion mit Calciumionophor A23187 gestartet und nach 3 min mit Nordihydroguajaretsäure (gelöst in MeOH/MeCN) abgebrochen. Nach Festphasenextraktion wurden die Mediatoren 12-HETE und 12-HHT mittels HPLC quantifiziert. Zur Bestimmung der Enzymhemmung wurden die Mittelwerte in Anwesenheit ( $n = 4$ ) und in Abwesenheit ( $n = 4$ ) der Testsubstanzen ins Verhältnis gesetzt. Die Hemmung war statistisch signifikant verglichen mit den Kontrollwerten (Student t-Test,  $P < 0.05$ ).

### 3.13 Bestimmung der cPLA<sub>2</sub>-Inhibition

Das Literaturverfahren (Lehr, Schulze Efringhoff 2000) wurde in folgender Weise modifiziert: Die Isolierung der Thrombozyten erfolgte wie zuvor für den 12-LO/COX-1-Assay beschrieben. Die eingestellte Thrombozytensuspension wurde mit den in DMSO gelösten Testsubstanzen bzw. DMSO allein für die Kontrollmessung und ETYA-Lösung zur Hemmung der Lipoxygenasen und Cyclooxygenasen versetzt und 10 min vorinkubiert (DMSO-Endkonzentration: 0,25% (v/v)). Die Stimulierung der Zellen wurde nun durch Zugabe von Calciumionophor A23187 gestartet und nach 3 min mit Nordihydroguajarsäure (gelöst in MeOH/MeCN) abgebrochen. Die Freisetzung der AA wurde dann nach Festphasenextraktion mittels HPLC quantifiziert. Zur Bestimmung der Enzymhemmung wurden die Mittelwerte in Anwesenheit (n = 4) und in Abwesenheit (n = 4) der Testsubstanzen ins Verhältnis gesetzt. Die Hemmung war statistisch signifikant verglichen mit den Kontrollwerten (Student t-Test, P < 0,05).

#### Literatur

- Adachi J (1955) 5,8-Dihydroxyquinoxaline and its derivatives. *Nippon Kagaku Zasshi* 76: 311–318.
- Amareska AS (1999) A new synthesis of quinoline-5,8-quinone. *Synth Commun* 29: 3063–3066
- Barret R, Daudon M (1990) Oxidation of phenols to quinones by bis(trifluoroacetoxy)iodobenzene. *Tetrahedron Lett* 31: 4871–4872.
- Billmann JH, Rendall JL (1944) Amides of nicotinic acid and related acids. *J Amer Chem Soc* 66: 540–541.
- Boutherin-Falson O, Desquand-Billiald S, Favrou A, Finet M, Tembo O, Torregosa J-L, Yannik-Arnoult S (1997) Preparation of 2-aryl-4,9-dioxoimidazo[4,5-g]quinolines and analogs for treatment of venous insufficiency. *PCT Int. Patent. CAN* 127: 121732.
- Dannhardt G, Lehr M (1992) *In vitro* evaluation of 5-lipoxygenase and cyclooxygenase inhibitors using bovine neutrophils and platelets and HPLC. *J Pharm Pharmacol* 44: 419–424.
- Lehr M (1989) Synthese und Testung von 5-lipoxygenase- und cyclooxygenasehemmenden mono- und diarylierten 2,3-Dihydro-1H-pyrrolizinen und diarylierten Pyrrolen. Dissertation Universität Regensburg.
- Lehr M, Schulze Efringhoff A (2000) Comparison of the inhibition of the cytosolic phospholipase A<sub>2</sub>-mediated arachidonic acid release by several indole-2-carboxylic acids and 3-(pyrrol-2-yl)-propionic acids in bovine and in human platelets. *Arch Pharm Med Chem* 333: 312–314.
- de Oliveira RA, Carazza F, da Silva Pereira MO (2000) Palladium(II)assisted preparation of methoxyarylbenzoquinones. *Synth Commun* 30: 4563–4572.
- Probst R, Wurm G (1998) Arylated 1,2- and 1,4-anthraquinones with partial arotinoid structure as 5-lipoxygenase inhibitors. *Pharmazie* 53 (Suppl.), 30.
- Richwien A (2003) Beeinflussung der Arachidonsäurekaskade durch anellierte Aryl-1,4-benzochinon-Derivate. Dissertation, Freie Universität Berlin.
- Wurm G (1991) 1,4-Naphthoquinones. XXI. 2-(3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-1,4-naphthoquinones as 5-Lipoxygenase Inhibitors. *Arch Pharm (Weinheim)* 324: 491–495.
- Wurm G, Geres U (1985) 1,4-Naphthoquinones. XII: Teuber reaction of 5-methoxy-2-pivaloyl-1-naphthol. *Arch Pharm (Weinheim)* 318: 664–667.
- Wurm G, Schwandt S (2003) Methylierte 2-Aryl-1,4-Naphthochinonderivate, 5-Lipoxygenase-Inhibitoren mit reduzierter antioxidativer Aktivität. *Pharmazie* 58: 531–538.
- Wurm G, Schwandt S (1999) 2-(3-Halogen-4-hydroxyphenyl)-1,4-naphthochinon-Derivate aus 2-(3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-Analoga, potentielle 5-Lipoxygenase-Inhibitoren. *Pharmazie* 54: 487–490.