

Institut für Pharmazie der Freien Universität Berlin, Germany

## Beeinflussung der Arachidonsäurekaskade durch 2-Aryl-3-halogen/3-hydroxy-1,4-naphthochinone mit Salicyl- und Zimtsäure-Partialstruktur Untersuchungen an 1,4-Naphthochinonen, 29. Mitt.\*

A. RICHWIEN, G. WURM

Eingegangen am 11. Juni, 2003, angenommen am 25. Juli 2003

Prof. Dr. Gotthard Wurm, Institut für Pharmazie, Freie Universität Berlin, Machnower Str. 20, D-14165 Berlin

rehiwer@zedat.fu-berlin.de

Pharmazie 59: 163–169 (2004)

Durch Austausch einer *tert*-Butylgruppe des selektiven 5-Lipoxygenase (5-LO)-Inhibitors 2-(3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-hydroxy-1,4-naphthochinon (**1**) gegen polare Funktionen (–CHO, –COOH, –CH=CHCOOR und –CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–COOR) wurde nach potenteren Hemmstoffen gesucht und gleichzeitig die 5-LO-Selektivität der neuen Verbindungen innerhalb der Arachidonsäurekaskade untersucht. Hierfür wurden 12-LO- und COX-1-Assays mit aktivierten humanen Thrombozyten herangezogen. Beim Screening der Testverbindungen mit 3-Hydroxykonstitution wurden neue selektive 5-LO- (**4**, **9** und **16**) und ein selektiver COX-1-Inhibitor (**10**) sowie ein dualer 5-LO/COX-1- (**23**) und ein 12-LO/COX-1-Hemmstoff (**12**) gefunden. 5-LO- und 12-LO-Hemmung schließen sich in dieser Verbindungs-kategorie offensichtlich aus strukturellen Gründen aus. Zusätzlich zu den bekannten 3-Chlor- und 3-Brom-analoga (**19**, **20**) von **1** wurden die 3-Fluor- (**22**), 3-Iod- (**23**) und 3-Carbonitril- (**24**)-Derivate synthetisiert. Alle 3-Halogenverbindungen mit Ausnahme von **23** und das Nitril sind potente unselektive Inhibitoren aller drei Enzyme. Ursächlich wird aber die Hemmung der Arachidonsäurefreisetzung durch Inhibierung der cytosolischen Phospholipase A<sub>2</sub> (cPLA<sub>2</sub>) hervorgerufen. Ausgenommen hiervon ist **24**, welches keine cPLA<sub>2</sub>-Hemmung aufweist.

### Influence of 2-aryl-3-halogen/3-hydroxy-1,4-naphthoquinones with salicylic and cinnamic acid partial structures on the arachidonic acid cascade

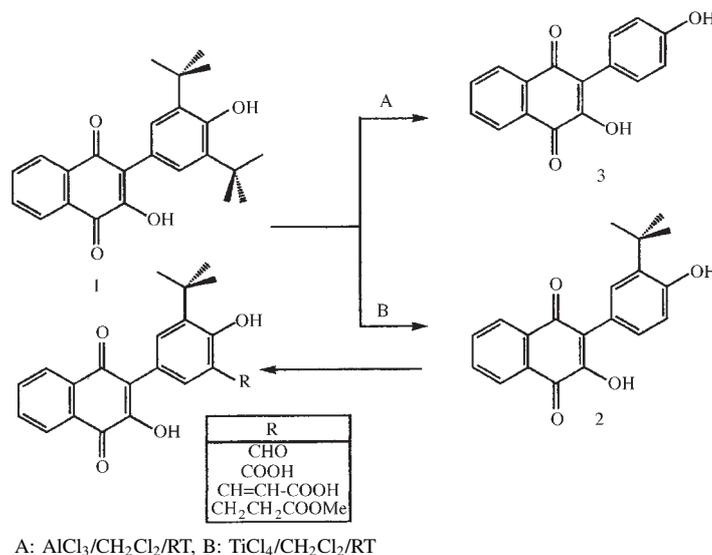
Searching for more potent 5-lipoxygenase (LO) inhibitors one *tert*-butyl group of the selective 5-LO-inhibitor 2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-hydroxy-1,4-naphthoquinone (**1**) was substituted by polar functions (–CHO, –COOH, –CH=CH–COOR, –CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–COOR). At the same time the 5-LO selectivity of the new compounds within the arachidonic acid cascade was investigated. For this 12-LO- and COX-1-assays with activated human platelets were used. Screening the test compounds new selective 5-LO-inhibitors (**4**, **9** and **16**) and a COX-1-inhibitor (**10**) as well as dual 5-LO/COX-1- (**23**) and 12-LO/COX-1-(**12**) inhibiting compounds were found. Obviously in this class of compounds 5-LO and 12-LO inhibition are mutually excluded for a structural reason. In addition to the well known 3-chloro- (**19**) and 3-bromo- (**20**) analogues of **1** the 3-fluoro- (**22**), 3-iodo- (**23**) and the 3-carbonitrile- (**24**) derivatives were synthesized. All 3-halogen compounds, except **23** and the nitrile, are potent non selective inhibitors of all three enzymes. Causative for this unselectivity is the inhibition of the arachidonic acid release by inhibition of the cytosolic phospholipase A<sub>2</sub> (cPLA<sub>2</sub>) with the exception of **24**.

#### 1. Einleitung

2-(3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-hydroxy-1,4-naphthochinon (**1**) ist ein potenter 5-Lipoxygenase (5-LO)-Inhibitor (Wurm und Schwandt 1999). Die Eliminierung einer *tert*-Butylgruppe (**2**) führt zu einer Abschwächung der Enzymhemmung (siehe Tabelle 1), die vollständige Debutylierung (**3**) bewirkt den Verlust der Hemmwirkung.

Durch Einführung polarer Funktionen in die 5'-Position von **2** (Schema 1) sollte einerseits untersucht werden, in wie weit das Aktivitätsspektrum dieser neuen Verbindungen in Richtung 12-LO-Hemmung verschoben wird und andererseits, ob durch die Strukturvariationen eine selektive Hemmung der Enzyme 5-LO und 12-LO sowie COX-1 innerhalb der Arachidonsäurekaskade erzielt werden kann.

Schema 1



Zur Testung der Verbindungen wurden humane Blutzellen herangezogen, Granulozyten für den 5-LO- und Thrombozyten für den 12-LO- und COX-1-Assay.

## 2. Untersuchungen, Ergebnisse und Diskussion

### 2.1. Synthese der Verbindungen

Die Synthese der Carbaldehyde **4** und **7** (Schema 2) erfolgt durch Formylierung der Monobutylderivate **2** und **6** mit Hexamethyltetraamin in Trifluoressigsäure (Matsuo et al. 1982). **7** wird mit MeI/Ag<sub>2</sub>O in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> in die Methoxyverbindung **8** überführt. Durch modifizierte Cannizzaro-Reaktion mit Ag<sub>2</sub>O/KOH in Methanol (Pearl 1947) entstehen sowohl aus **4** als auch aus **7** und **8** die Salicylsäure-Derivate **5** und **9** (Schema 2).

**4** und **7** werden auch als Startkomponenten zur Gewinnung der Zimtsäure-Derivate **10–12** sowie der mit 1,4-Naphthochinon substituierten Cumarine **13** und **14** genutzt (Schema 3). **10** und **11** entstehen durch Wittig-Reaktion der Carbaldehyde mit Methoxycarbonylmethyltriphenylphosphoran in Acetonitril. Durch alkalische Verseifung von **10** und **11** entsteht die freie Zimtsäure **12**, bei der sauren Verseifung von **11** das Cumarinderivat **13**. Das 2-Ethoxycarbonylcumarin **14** fällt in geringer Ausbeute bei dem Versuch an, durch eine Variante der Knoevenagel-Reaktion in neutralem, wässrigen Milieu unter Phasentransferkatalyse aus **7** und Cyanessigester den entsprechenden  $\alpha$ -Cyanzimtsäureester zu gewinnen (Wang et al. 2001). Durch die lange Reaktionsdauer wird die Nitrilfunktion offenbar zur Carbonsäure hydrolysiert, die dann zum Cumarin **14** zyklisiert (Schema 3).

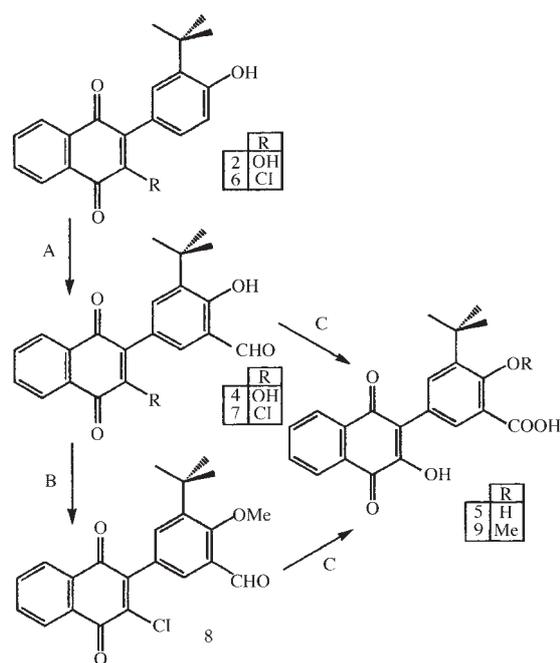
Durch Reduktion der Zimtsäure-Partialstruktur von **10** unter Einsatz von Hydrid-Transferreaktionen entstehen die Propionsäure-Derivate **15** und **16** (Schema 4). Das Methylpropionat **15** wird in Cyclohexen mit Palladium auf Aktivkohle (Pd/C) gebildet, während in Dimethylformamid mit Natriumhypophosphit und Pd/C Amidierung unter Bildung des Dimethylcarboxamids **16** erfolgt.

Nach Variation des Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenylrests des 2-Aryl-1,4-naphthochinons durch Ersatz einer *tert*-Butylfunktion mit polaren Strukturelementen wurde auch das 1,4-Naphthochinon-Segment durch systematische Substitution der 3-Position mit den Halogenen F, Cl, Br, I und dem Pseudohalo-

genid CN variiert (Abb. 5). Die 3-Chlor/3-Brom-Verbindungen **19/20** (Wurm 1991) sind bereits als äquipotente 5-LO-Inhibitoren bekannt (Wurm und Schwandt 1999). Durch Veränderung der funktionell gleichartigen Substituenten des chinoiden Systems sollte der Einfluss auf die 5-LO-Hemmwirkung und die Selektivität gegenüber den Enzymen des Arachidonsäure-Stoffwechsels untersucht werden.

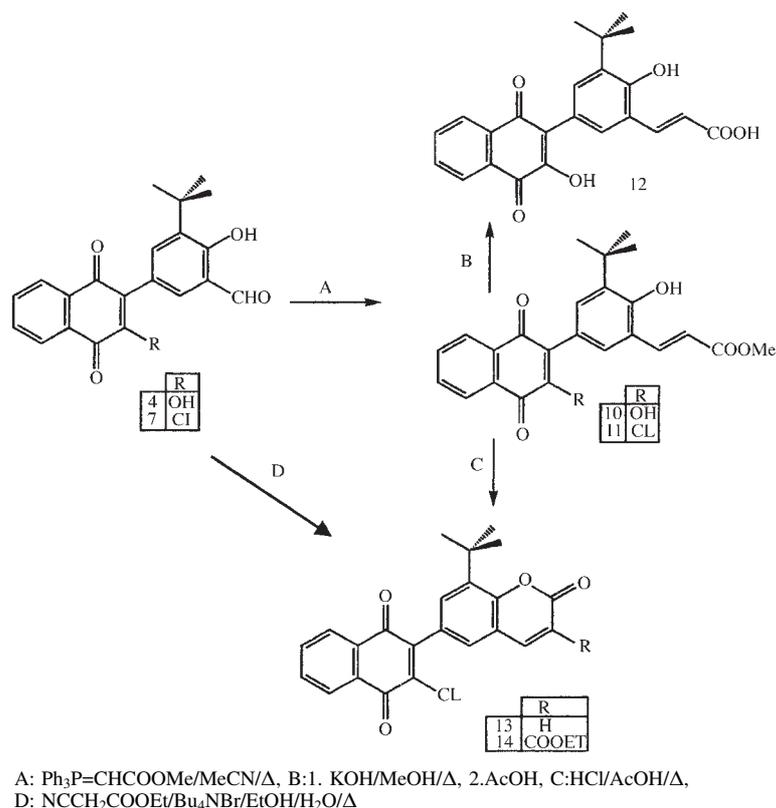
Ausgangsstoffe für die Synthese des neuen 2-(3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-fluor-1,4-naphthochinons **22** wie auch der bekannten Analoga **19/20** sind die 2,3-Dichlor- bzw. die 2,3-Dibrom-1,4-naphthochinone **17/18** (Schema 5). **22** entsteht aus **21** durch Arylierung mit 2,6-Di-*tert*-butylphenol und K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in DMSO. Die Synthese von 2,3-Difluor-1,4-naphthochinon (**21**) erfolgt durch zweimaliges

Schema 2



A: (CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>N<sub>4</sub>/TFA/ $\Delta$ , B: MeI/Ag<sub>2</sub>O/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, C: Ag<sub>2</sub>O/KOH/MeOH

Schema 3

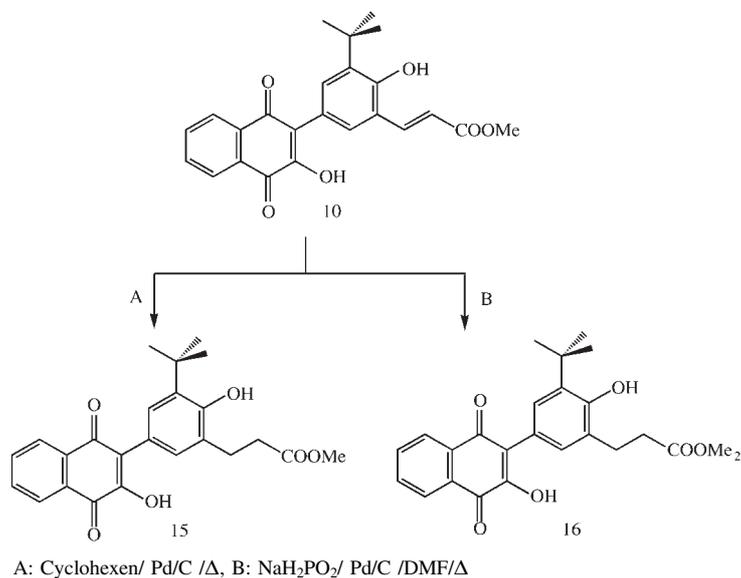


Sintern von **17** bzw. **18** mit einem NaF/KF-Gemisch bei 280 °C. Als Synthon für 2-(3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-iod-1,4-naphthochinon (**23**) dient das Bromderivat **20**, das mit dem Komplex Tetraiodocuprat(I) in Diethylketon unter Argon zum Sieden erhitzt wird. Das Carbonitril **24**, das bereits in der Literatur (Mizuno et al. 1994) Erwähnung fand, wurde von uns schließlich ebenfalls gewonnen. Hierzu wird wieder das 2-Aryl-3-brom-1,4-naphthochinon **19** mit  $\text{Zn}(\text{CN})_2$  unter Palladiumkatalyse in DMF zum Sieden erhitzt (Schema 5).

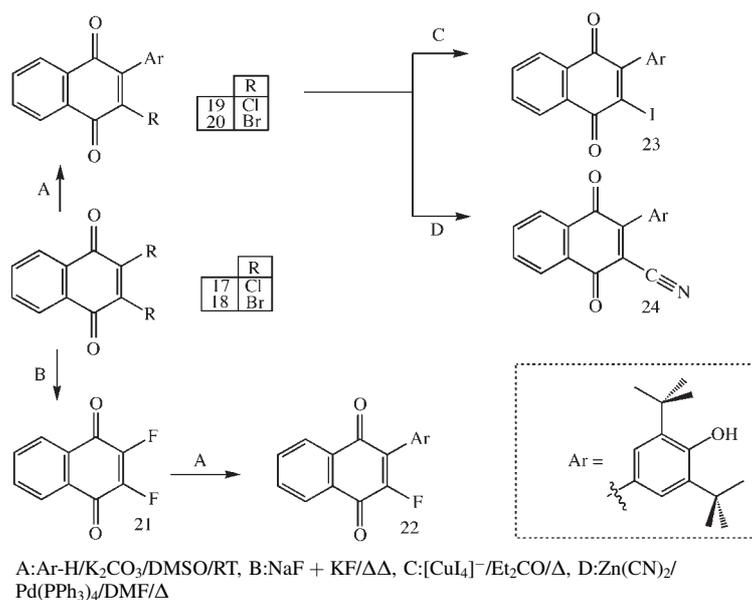
## 2.2. Pharmakologische Testergebnisse

Die Testergebnisse zur Hemmung von 5- und 12-LO sowie COX-1 durch die neuen Verbindungen im Vergleich mit den bekannten Inhibitoren **2**, **19**, **20** und dem Standard-5-LO-Hemmer **1** sind in den Tabellen 1 und 2 zusammengestellt. In Tabelle 1 besitzen alle Verbindungen in 3-Position eine Hydroxyfunktion, in Tabelle 2 sind die Substanzen in derselben Position mit Ausnahme von **24** mit einem Halogen substituiert.

Schema 4



Schema 5



In der Reihe der 3-Hydroxyderivate konnte die Aktivität der 5-LO-Hemmung nicht wie angestrebt in den submikromolaren Bereich verschoben werden. Die Verbindungen **1**, **2**, **4**, **9** und **16** sind nahezu spezifische 5-LO-Inhibitoren. Am potentesten ist der Carbaldehyd **4**. Die Oxidation des Aldehyds zur hochpolaren Carbonsäure **5** führt zum Selektivitätsverlust. Es entsteht ein nur noch mäßig potenter 5-LO-Hemmer, der dafür aber erstmals eine beachtlich starke 12-LO-Hemmung aufweist. Wird die Hydroxyfunktion des Phenylrests methyliert, kehrt mit **9** die 5-LO-Selektivität zurück. Das Methylcinnamat **10** ist ein selektiver COX-1-Hemmer, die freie Säure **12** ein dualer 12-LO/COX-1-Inhibitor ohne jegliche 5-LO-Hemmaktivität. Wird die Doppelbindung des Cinnamats **10** zum Propionat **15** hydriert, entsteht ein potenter Hemmstoff aller drei Enzyme. Dieser Effekt beruht dabei nicht auf der Hemmung der cytosolischen Phospholipase A<sub>2</sub> (cPLA<sub>2</sub>). Diese komplette Enzymhemmung wird aufgehoben, wenn der Methyl ester **15** in das Dimethylamid **16** überführt wird. Es resultiert ein selektiver, mäßig aktiver 5-LO-Inhibitor.

Alle 3-Halogennaphthochinone mit Ausnahme des 3-Iodderivats **23** hemmen unselektiv alle drei Enzyme im niedrig mikromolaren Bereich. Die Vermutung liegt nahe, dass dieser Effekt auf einer Hemmung des vorgelagerten En-

zyms, der cPLA<sub>2</sub>, die das für die Arachidonsäurekaskade erforderliche Substrat bereitstellt, beruhen könnte. Diese Vermutung konnte, wie die Messwerte in Tabelle 2 zeigen, im cPLA<sub>2</sub>-Assay an humanen Thrombozyten bestätigt werden.

Das 3-Iodderivat **23** beweist die Hypothese zusätzlich. Diese Verbindung zeigt Selektivität für 5-LO und COX-1, weshalb Hemmung der cPLA<sub>2</sub> auszuschließen ist, was durch das Testergebnis bestätigt wird. Die Breitband-Enzymhemmung der 3-Halogen-1,4-naphthochinon-Derivate beruht offenbar auf ihrer Eigenschaft als vinyloge Säurehalogenide zu reagieren und mit Nukleophilen (Aminen, Thiolen und Carbinolen) unter 1,4-Addition und Halogenwasserstoff-Eliminierung kovalente Bindungen auszubilden. Dadurch können aktive Zentren von Enzymen blockiert bzw. die Proteinstruktur allosterisch modifiziert werden. Wegen dieser Eigenschaften sind die Verbindungen der Tabelle 2 als zytotoxisch einzustufen und damit keine interessanten Pharmakamodelle. Besonders interessant ist das Carbonitril **24**, das wie das 3-Hydroxy-2-phenylpropionat **15** die drei Enzyme der Arachidonsäurekaskade potent hemmt, ohne die cPLA<sub>2</sub> zu beeinflussen. **24** und die 3-Hydroxy-Derivate von **1** bieten Ansätze für weitere Wirkstoffentwicklungen.

**Tabelle 1: Beeinflussung der Arachidonsäurekaskade durch 2-Aryl-1,4-naphthochinonderivate mit Hydroxyfunktion in 3-Position**

Verb.	5-LO	12-LO	COX-1	cPLA <sub>2</sub>
	IC <sub>50</sub> (μM)	IC <sub>50</sub> (μM)	IC <sub>50</sub> (μM)	IC <sub>50</sub> (μM)
1	3.9 (2.9–5.2)	≫10	>10	>10
2	8.7 (4.8–16)	≫10	>10	>10
3	≫10	≫10	≫10	–
4	2.2 (1.7–2.8)	≫10	>10	–
5	13 (6.6–25)	5.2 (4.6–5.8)	7.0 (5.5–8.8)	–
9	7.8 (4.9–12)	>10	>10	–
10	>10	>10	7.2 (4.7–11)	–
12	≫10	4.0 (3.3–4.9)	4.1 (3.3–5.1)	–
15	4.8 (3.8–6.0)	4.0 (2.1–7.5)	1.9 (1.4–2.6)	>10
16	7.9 (6.2–10)	>10	>10	–

**Tabelle 2: Beeinflussung der Arachidonsäurekaskade durch 2-Aryl-1,4-naphthochinonderivate mit Halogenfunktion in 3-Position**

Verb.	5-LO	12-LO	COX-1	cPLA <sub>2</sub>
	IC <sub>50</sub> (μM)	IC <sub>50</sub> (μM)	IC <sub>50</sub> (μM)	IC <sub>50</sub> (μM)
6	3.9 (3.6–4.2)	6.8 (4.7–9.9)	2.4 (1.2–4.8)	4.6 (3.9–5.5)
7	1.9 (1.6–2.2)	2.6 (1.8–3.7)	3.1 (2.2–4.4)	2.8 (1.7–4.6)
8	3.8 (3.4–4.3)	3.4 (2.8–4.2)	2.2 (1.2–4.2)	3.6 (3.1–4.1)
11	3.3 (3.2–3.4)	3.2 (2.5–4.0)	4.3 (2.8–6.6)	4.8 (3.3–7.0)
13	3.4 (3.0–3.8)	1.9 (1.2–3.1)	1.9 (1.2–3.0)	3.2 (2.8–3.6)
14	3.1 (2.7–3.5)	1.8 (1.1–3.0)	2.5 (1.6–3.9)	3.9 (3.3–4.7)
22	3.3 (3.1–3.5)	3.7 (3.7–3.7)	3.7 (3.3–4.1)	4.8 (3.9–5.9)
19	1.8 (1.4–2.4)	6.0 (4.9–7.4)	2.6 (2.1–3.2)	5.8 (3.6–9.3)
20	3.3 (3.3–3.3)	5.3 (3.6–7.8)	3.3 (2.2–4.9)	6.2 (3.6–11)
23	1.4 (1.2–1.7)	>10	5.4 (2.9–10)	>10
24	3.8 (1.7–8.3)	3.9 (2.1–7.2)	1.0 (0.63–1.6)	>10

### 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  $\pm 0.4\%$  absolut den berechneten Werten. Massenspektren: CH-7A-Varian MAT. EI-MS: Ionisierungsenergie 70 eV. IR-Spektren: Spektralphotometer 297 und 1420 Ratio Recording Infrared Spectrometer, Perkin-Elmer.  $^1\text{H}$  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 Macherey & 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>, Macherey & Nagel). Festphasenextraktion: RP-18 Säulen (Baker), Zellsolierung: Polymorphprep Nycomed (Lieferfirma Life Technologies GmbH, 76131 Karlsruhe).

#### 3.2. Bekannte Verbindungen

- 2-(3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-hydroxy-1,4-naphthochinon (**1**) (Wurm 1991).  
 2-(3-*tert*-Butyl-4-hydroxyphenyl)-3-hydroxy-1,4-naphthochinon (**2**) (Wurm und Gurka 1997).  
 2-Hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-1,4-naphthochinon (**3**) (Wurm und Gurka 1997).  
 2-(3-*tert*-Butyl-4-hydroxyphenyl)-3-chlor-1,4-naphthochinon (**6**) (Wurm und Gurka 1997).  
 2,3-Dichlor-1,4-naphthochinon (**17**)  
 2,3-Dibrom-1,4-naphthochinon (**18**)  
 2-(3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-chlor-1,4-naphthochinon (**19**) (Wurm 1991).  
 2-Brom-3-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-1,4-naphthochinon (**20**) (Wurm 1991).

#### 3.3. Synthese der Carbaldehyde **4**, **7** und **8**

14.7 mmol des monodebutylierten Naphthochinons **2** werden in 60 mL Trifluoressigsäure suspendiert und mit 14.7 mmol Hexamethylentetraamin versetzt. Es wird 3 h unter Rückfluss erhitzt und die Reaktion dann durch Zugabe von 250 mL H<sub>2</sub>O beendet. Das Gemisch wird noch 15 min bei RT weitergerührt. Nach Extraktion mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> wird mit H<sub>2</sub>O gewaschen und schließlich mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet.

##### 3.3.1. 3-*tert*-Butyl-2-hydroxy-5-(3-hydroxy-1,4-dioxo-1,4-dihydro-2-naphthyl)-benzaldehyd (**4**)

Aus **2**, sc mit Toluol gereinigt, Ausbeute: 60%, gelbe Kristalle, Schmp. 192 °C (Ethanol). – IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3433, 3379 (OH), 3000 (C–H), 2960, 2868 (t-Bu), 1651 (C=O), 1609 (C=C). –  $^1\text{H}$ -NMR ([D<sub>6</sub>] DMSO, ppm):  $\delta$  = 1.40 (s, 9H, t-Bu), 7.55 (d, J = 1.1 Hz, 1H, 4-H), 7.71 (s, 1H, 6-H), 7.76–7.94 (m, 2H, 6'- u. 7'-H), 7.94–8.20 (m, 2H, 5'- u. 8'-H), 10.01 (s, 1H, CHO), 11.22 (s, 1H, 2-OH), 11.94 (s, 1H, 3'-OH). – MS: m/z (%) = 350 (M<sup>+</sup>, 79), 335 ([M-Me]<sup>+</sup>, 100), 57 ([t-Bu]<sup>+</sup>, 74). C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub> (350.4)

##### 3.3.2. 3-*tert*-Butyl-5-(3-chlor-1,4-dioxo-1,4-dihydro-2-naphthyl)-2-hydroxybenzaldehyd (**7**)

Aus **6**, Ausbeute: 95%. Gelbe, glänzende Kristalle, Schmp. 182 °C (EtOH). – IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3440 (OH), 3000 (C–H), 2959, 2870 (t-Bu), 2914 (CHO), 1675, 1658 (C=O), 1595 (C=C). –  $^1\text{H}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, ppm):  $\delta$  = 1.45 (s, 9H, t-Bu), 7.45 (d, J = 2.1 Hz, 1H, 4-H), 7.60 (d, J = 2.0 Hz, 1H, 6-H), 7.67–8.07 (m, 2H, 6'- u. 7'-H), 8.07–8.20 (m, 1H, 8'-H), 8.30 (dd, J = 3.2/5.8 Hz, 1H, 5'-H), 9.92 (s, 1H, CHO), 12.05 (s, 1H, OH). – MS: m/z (%) = 370, 368 (M<sup>+</sup>, <sup>35/37</sup>Cl, 19/50), 355, 353 ([M-Me]<sup>+</sup>, 36/100). C<sub>21</sub>H<sub>17</sub>ClO<sub>4</sub> (368.8)

##### 3.3.3. 3-*tert*-Butyl-5-(3-chlor-1,4-dioxo-1,4-dihydro-2-naphthyl)-2-methoxybenzaldehyd (**8**)

1.4 mmol **7** werden in 20 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und mit 0.5 g Silberoxid versetzt. Der Suspension werden 13.6 mmol Methyljodid zugesetzt und es wird 1 h unter Rückfluss erhitzt. Die Abtrennung des Silberoxids und die Reinigung erfolgen sc mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (Ausbeute: 90%). Gelbe Kristalle, Schmp. 170 °C (EtOH). – IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3000 (C–H), 2960, 2870 (t-Bu), 2922 (CHO), 1677 (C=O), 1592 (C=C). –  $^1\text{H}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>, ppm):  $\delta$  = 1.45 (s, 9H, t-Bu), 4.04 (s, 3H, OMe), 7.53 (d, J = 2.3 Hz, 1H, 4-H), 7.71 (d, J = 2.3 Hz, 1H, 6-H), 7.82 (dd, J = 3.3/5.8 Hz, 6'- u. 7'-H), 8.04–8.19 (m, 1H, 8'-H), 8.20–8.39 (m, 1H, 5'-H), 10.37 (s, 1H, CHO). – MS: m/z (%) = 384, 382 (M<sup>+</sup>, <sup>35/37</sup>Cl, 9/25), 369, 367 ([M-Me]<sup>+</sup>, 21/51), 328, 326 ([M-t-Bu]<sup>+</sup>, 3/8). C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>ClO<sub>4</sub> (382.8)

#### 3.4. Synthese der Benzoesäurederivate **5** und **9**

0.8 mmol des Benzaldehyds werden unter Eiskühlung mit 10 mL einer gesättigten methanolischen KOH (~50%) und einer äquimolaren Menge Silberoxid versetzt. Unter Argonatmosphäre wird 8 h bei RT gerührt. Nach Verdünnen mit H<sub>2</sub>O und vorsichtigem Ansäuern mit HCl cc. wird der Niederschlag mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> aufgenommen und es wird noch zweimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wird zum Abschluss sc mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gereinigt.

##### 3.4.1. 3-*tert*-Butyl-2-hydroxy-5-(3-hydroxy-1,4-dioxo-1,4-dihydro-2-naphthyl)-benzoesäure (**5**)

Aus **4**, Ausbeute: 42%, dunkelorange Kristalle, Schmp. 261 °C (EtOH/H<sub>2</sub>O). – IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3354 (OH), 3079 (C–H), 2960, 2874 (t-Bu), 1662 (C=O), 1595 (C=C). –  $^1\text{H}$  NMR ([D<sub>6</sub>] DMSO, ppm):  $\delta$  = 1.40 (s, 9H, t-Bu), 7.51 (d, J = 2.1 Hz, 1H, 4-H), 7.80 (d, J = 2.1 Hz, 1H, 6-H), 7.83–7.88 (m, 2H, 6'- u. 7'-H), 7.94–8.16 (m, 2H, 5'- u. 8'-H), 11.07 (s, 1H, 2-OH), 12.38 (s, 1H, 3'-OH), 14.09 (s, 1H, COOH). – MS: m/z (%) = 366 (M<sup>+</sup>, 58), 348 ([M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 59), 333 ([M-H<sub>2</sub>O-Me]<sup>+</sup>, 100). C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub> (366.4)

##### 3.4.2. 3-*tert*-Butyl-5-(3-hydroxy-1,4-dioxo-1,4-dihydro-2-naphthyl)-2-methoxybenzoesäure (**9**)

Aus **8**, Ausbeute: 85%, orange Kristalle, Schmp. 236 °C (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). – IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3309, 3250 (OH), 3040, 2996 (C–H), 2959, 2869 (t-Bu), 1698 (C=O: COOH), 1668 (C=O: Chinon), 1594 (C=C). –  $^1\text{H}$ -NMR ([D<sub>6</sub>] DMSO, ppm):  $\delta$  = 1.37 (s, 9H, t-Bu), 3.82 (s, 3H, OMe), 7.36 (d, J = 2.2 Hz, 1H, 4-H), 7.56 (d, J = 2.0 Hz, 1H, 6-H), 7.76–7.94 (m, 2H, 6'- u. 7'-H), 7.94–8.23 (m, 2H, 5'- u. 8'-H), 11.14 (s, 1H, 3-OH), 12.98 (s, 1H, COOH). – MS: m/z (%) = 380 (M<sup>+</sup>, 64), 365 ([M-Me]<sup>+</sup>, 6), 347 ([M-H<sub>2</sub>O-Me]<sup>+</sup>, 100). C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub> (380.4)

#### 3.5. Synthese der Zimtsäurederivate **10**, **11** und **12**

1 mmol des entsprechenden Aldehyds wird unter Erwärmen in 20 mL Acetonitril gelöst. Diese noch heiße Lösung wird mit 1 mmol Methoxycarbonylmethylentriphenylphosphoran versetzt und 30 min unter Rühren bis auf RT abkühlen gelassen.

##### 3.5.1. Methyl-3-*tert*-butyl-2-hydroxy-5-(3-hydroxy-1,4-dioxo-1,4-dihydro-2-naphthyl)-cinnamat (**10**)

Aus **4**, Aufarbeitung: Der Ansatz wird in 50 mL H<sub>2</sub>O gegeben und dann mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, eingeeengt und abschließend mit Toluol/Ether (9+1) sc gereinigt (Ausbeute: 80%). Orange Kristalle, Schmp. 190–192 °C (Toluol). – IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3395 (OH), 3073 (C–H), 2953, 2918, 2872 (t-Bu), 1701 (C=O: Ester), 1660, 1630 (C=O: Chinon), 1595 (C=C). –  $^1\text{H}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, ppm):  $\delta$  = 1.46 (s, 9H, t-Bu), 3.81 (s, 3H, OMe), 5.84 (s, 1H, 2-OH), 6.47 (d, J = 15.8 Hz, 1H,  $\alpha$ -H), 7.51 (d, J = 2.1 Hz, 1H, 4-H), 7.56 (d, J = 2.1 Hz, 1H, 6-H), 7.63 (s, 1H, 3'-OH), 7.68–7.78 (m, 1H, 6'-H), 7.78–7.86 (m, 1H, 7'-H), 8.04 (d, J = 15.9 Hz, 1H,  $\beta$ -H), 8.14 (dd, J = 1.2/7.5 Hz, 1H, 5'-H), 8.21 (dd, J = 1.0/7.7 Hz, 1H, 8'-H). – MS: m/z (%) = 406 (M<sup>+</sup>, 50), 359 ([M-MeOH-Me]<sup>+</sup>, 100). C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>O<sub>6</sub> (406.4)

##### 3.5.2. Methyl-3-*tert*-butyl-5-(3-chlor-1,4-dioxo-1,4-dihydro-2-naphthyl)-2-hydroxycinnamat (**11**)

Aus **7**, Aufarbeitung: Beim Abkühlen auf RT kristallisiert das Produkt bereits aus und kann abgesaugt werden. Die Kristalle werden mit Acetonitril gewaschen und aus Toluol umkristallisiert. Durch SC der Mutterlauge mit Toluol/Ether (9 + 1) wird weitere Substanz gewonnen (Ausbeute: 90%). Gelbe Kristalle, Schmp. 226 °C (Toluol). – IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3427 (OH), 3071 (C–H), 2954, 2919, 2872 (t-Bu), 1698 (C=O: Ester), 1676, 1630 (C=O: Chinon), 1596 (C=C). –  $^1\text{H}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, ppm):  $\delta$  = 1.46 (s, 9H, t-Bu), 3.81 (s, 3H, OMe), 6.01 (s, 1H, OH), 6.45 (d, J = 15.9 Hz, 1H,  $\alpha$ -H), 7.30–7.42 (m, 2H, 4- u. 6-H), 7.74–7.85 (m, 2H, 6'- u. 7'-H), 8.05 (d, J = 15.9 Hz, 1H,  $\beta$ -H), 8.10–8.19 (m, 1H, 8'-H), 8.19–8.27 (m, 1H, 5'-H). – MS: m/z (%) = 426, 424 (M<sup>+</sup>, <sup>35/37</sup>Cl, 15/37), 379, 377 ([M-MeOH-Me]<sup>+</sup>, 39/100). C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>ClO<sub>5</sub> (424.9)

##### 3.5.3. 3-*tert*-Butyl-(2-hydroxy-1,4-dioxo-1,4-dihydro-2-naphthyl)-zimtsäure (**12**)

1 mmol **10** wird in 20 mL Methanol gelöst und mit 5 mL 10%iger KOH versetzt. Unter Argonatmosphäre wird 2 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abschluss der Reaktion wird bei gleichzeitiger Eiskühlung vorsichtig mit Essigsäure neutralisiert. Danach wird der Ansatz in 100 mL H<sub>2</sub>O gegeben

und mit viel  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert. Beim Einengen der organischen Phase kristallisiert bereits das Produkt aus (Ausbeute: 50%). Orange Kristalle, Schmp. 160 °C ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). – IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3364 (OH), 3075 (C–H), 2959, 2921, 2872 (t-Bu), 1686 (C=O: COOH), 1660, 1629 (C=O: Chinon), 1595 (C=C). –  $^1\text{H-NMR}$  ( $[\text{D}_6]$  DMSO, ppm):  $\delta = 1.38$  (s, 9H, t-Bu), 6.27 (d,  $J = 15.7$  Hz, 1H,  $\alpha$ -H), 7.32 (d,  $J = 1.9$  Hz, 1H, 4-H), 7.51 (d,  $J = 1.9$  Hz, 1H, 6-H), 7.79–7.92 (m, 2H, 6'- u. 7'-H), 7.99–8.06 (m, 3H, 5'-, 8'- u.  $\beta$ -H), 9.32 (s, 1H, 2-OH), 11.00 (s, 1H, 3'-OH), 12.26 (s, 1H, COOH). – MS:  $m/z$  (%) = 392 ( $\text{M}^+$ , 1.8), 348 ( $[\text{M-CO}_2]^+$ , 49), 333 ( $[\text{M-CO}_2\text{-Me}]^+$ , 48), 293 ( $[\text{M-CO}_2\text{-t-Bu}]^+$ , 33), 44 ( $[\text{CO}_2]\text{I}00$ ). – POS-FAB:  $m/z$  (%) = 393 ( $[\text{M-H}]^+$ , 42), 375 ( $[\text{M-H-H}_2\text{O}]^+$ , 17).  $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{O}_6 \cdot 2\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$  (437.4)

### 3.6. Synthese der Cumarinderivate 13 und 14

#### 3.6.1. 8-tert-Butyl-6-(3-chlor-1,4-dioxo-1,4-dihydro-2-naphthyl)-cumarin (13)

1 mmol **11** wird in 30 mL Methanol gelöst und unter Zusatz von 5 mL 6N-HCl 3 h unter Rückfluss erhitzt. Danach wird der Ansatz in 100 mL  $\text{H}_2\text{O}$  gegeben und mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert. Nach Trocknen mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Einengen wird der Rückstand mit Toluol/Ether (9+1) sc gereinigt (Ausbeute: 50%). Gelbe Kristalle, Schmp. 177–178 °C (Cyclohexan). – IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3084 (C–H), 2959, 2912, 2871 (t-Bu), 1734 (C=O: Lacton), 1674 (C=O: vinyloges Säurechlorid), 1625 (C=O: Keton), 1593, 1573 (C=C). –  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta = 1.55$  (s, 9H, t-Bu), 6.46 (d,  $J = 9.5$  Hz, 1H, 3-H), 7.39 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H, 7-H), 7.51 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1H, 5-H), 7.74 (d,  $J = 9.6$  Hz, 1H, 4-H), 7.78–7.87 (m, 2H, 6'- u. 7'-H), 8.13–8.21 (m, 1H, 8'-H), 8.21–8.30 (m, 1H, 5'-H). – MS:  $m/z$  (%) = 394, 392 ( $\text{M}^+$ ,  $^{35/37}\text{Cl}$ , 18/48), 379, 377 ( $[\text{M-Me}]^+$ , 30/100).  $\text{C}_{23}\text{H}_{17}\text{ClO}_4$  (392.8)

#### 3.6.2. Ethyl-8-tert-butyl-6-(3-chlor-1,4-dioxo-1,4-dihydro-2-naphthyl)-2-oxo-2H-chromen-3-carboxylat (14)

Die zum Sieden erhitzte Lösung von 1 mmol **7**, 3 mmol 2-Cyanoessigsäureethylester und 1.2 mmol Cetyltrimethylammoniumbromid in 30 mL Ethanol wird unter Rühren tropfenweise mit 170 mL siedendem  $\text{H}_2\text{O}$  versetzt. Der Ansatz wird dann unter starkem Rühren 48 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Erkalten wird mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert und der Rückstand mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /Ether (9+1) sc getrennt (Ausbeute: 15–20%). Gelbe Nadeln, Schmp. 182 °C (Toluol/Ligroin, 1:1). – IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3440 ( $\text{H}_2\text{O}$ ), 3070 (C–H), 2965, 2874 (t-Bu), 1766 (C=O: Ester), 1708 (C=O: Lacton), 1678, 1619 (C=O: Chinon), 1592, 1578 (C=C). –  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta = 1.43$  (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H, Me), 1.54 (s, 9H, t-Bu), 4.42 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 7.50 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H, 7-H), 7.62 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1H, 5-H), 7.83 (dd,  $J = 3.3/5.7$  Hz, 2H, 6'- u. 7'-H), 8.18 (dd,  $J = 3.3/5.7$  Hz, 1H, 8'-H), 8.26 (dd,  $J = 3.3/5.7$  Hz, 1H, 5'-H), 8.54 (s, 1H, 4-H). – MS:  $m/z$  (%) = 466, 464 ( $\text{M}^+$ ,  $^{35/37}\text{Cl}$ , 22/52), 451, 449 ( $[\text{M-Me}]^+$ , 14/34), 405, 403 ( $[\text{M-Me-EtOH}]^+$ , 39/100), 29 ( $[\text{Et}]^+$ , 23).  $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{ClO}_6$  (464.1)

### 3.7. Synthese der Propionsäurederivate 15 und 16

#### 3.7.1. Methyl-3-[3-tert-butyl-2-hydroxy-5-(3-hydroxy-1,4-dioxo-1,4-dihydro-2-naphthyl)-phenyl]-propiolat (15)

2 mmol **10** werden in 100 mL Tetrahydrofuran mit 70 mmol Cyclohexen und 2 g Pd-C (10%ig) 10 min zum Sieden erhitzt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum abgezogen und der Rückstand sc gereinigt (Ausbeute: 50%). Orange Kristalle, Schmp. 141–142 °C (Cyclohexan). – IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3421 (OH), 2956 (t-Bu), 1714 (C=O: Ester), 1658 (C=O: Chinon), 1595 (C=C). –  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta = 1.45$  (s, 9H, t-Bu), 2.79 (q,  $J = 4.2/5.2/6.5/7.5$  Hz, 2H,  $\beta$ -H), 2.93 (t,  $J = 5.4/6.4$  Hz, 2H,  $\alpha$ -H), 3.71 (s, 3H, OMe), 7.18 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H, 6-H), 7.37 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H, 4-H), 7.54 (s, 1H, 2-OH), 7.72 (dd,  $J = 1.2/7.5$  Hz, 1H, 6'-H), 7.69 (dd,  $J = 1.3/7.5$  Hz, 1H, 7'-H), 7.95 (s, 1H, 3'-OH), 8.12 (dd,  $J = 0.9/7.5$  Hz, 1H, 5'-H), 8.20 (t,  $J = 0.9/7.7$  Hz, 1H, 8'-H). – MS:  $m/z$  (%) = 408 ( $\text{M}^+$ , 88), 376 ( $[\text{M-MeOH}]^+$ , 41), 361 ( $[\text{M-MeOH-Me}]^+$ , 93), 352 ( $[\text{M-t-Bu}]^+$ , 55), 320 ( $[\text{M-MeOH-t-Bu}]^+$ , 100), 291 ( $[\text{M-MeOH-t-Bu-CO}]^+$ , 34), 57 ( $[\text{t-Bu}]^+$ , 64).  $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_6$  (408.4)

#### 3.7.2. 3-[3-tert-Butyl-2-hydroxy-5-(3-hydroxy-1,4-dioxo-1,4-dihydro-2-naphthyl)phenyl]-N,N-dimethylpropionamid (16)

2 mmol **10** werden mit 100 mg Pd-C (10%ig) in 100 mL DMF zum Sieden erhitzt und eine Lösung von 400 mg  $\text{NaH}_2\text{PO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  in 10 mL  $\text{H}_2\text{O}$  zugegeben. Die Lösung wird weitere 12 h unter Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum abgezogen und der Rückstand mit n-Butanol gekocht und heiß filtriert (Ausbeute: 50%). Dunkelrote Kristalle, Schmp. 204 °C (Cyclohexan). – IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3405 (NH), 3164, 3130, 3084 (C–H), 2986, 2837 (Me), 1621 (C=O), 1566 (C=C). –  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta = 1.45$  (s, 1H, t-Bu), 2.76 (t,  $J = 5.4/5.6$  Hz, 2H,  $\beta$ -H), 2.95 (s, 3H, Me), 2.98 (s, 3H, Me), 2.99 (d,  $J = 5.6$  Hz, 2H,  $\alpha$ -H), 3.01 (s, 1H, 2-OH), 7.19 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H, 4-H), 7.36 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1H, 6-H), 7.53 (s, 1H, 3'-OH), 7.67–7.75 (m, 1H, 6'-H), 7.75–7.83 (m, 1H, 7'-H), 8.10–8.16

(m, 1H, 5'-H), 8.16–8.24 (m, 1H, 8-H). – MS:  $m/z$  (%) = 421 ( $\text{M}^+$ , 64), 376 ( $[\text{M-NMe}_2]^+$ , 48), 363 ( $[\text{M-t-Bu}]^+$ , 62), 46 ( $[\text{H}_2\text{NMe}_2]^+$ , 100).  $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{NO}_5$  (421.5)

### 3.8. Synthese der Halogen- und Pseudohalogenanaloge 21–24

#### 3.8.1. 2,3-Difluor-1,4-naphthochinon (21) (Kaieda, Hirota 1986)

1 g **17** wird mit 6 g einer Mischung aus gleichen Teilen NaF und KF verrieben und in einem Reagenzglas im Ölbad 15 min auf 280 °C erhitzt. Die gesinterte Reaktionsmasse wird mit 100 mL  $\text{H}_2\text{O}$  versetzt und 5 min gerührt. Der abfiltrierte Rückstand wird erneut in gleicher Weise umgesetzt und aufgearbeitet. Der nun braune Rückstand wird mit Toluol sc gereinigt und das hellgelbe Eluat aus Cyclohexan kristallisiert. (Ausbeute: 20%). Gelbe Kristalle, Schmp. 190 °C (Cyclohexan). – IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3098 (C–H), 1684, 1655 (C=O), 1591 (C=C). –  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta = 7.79$ –7.86 (m, 2H, 6- u. 7-H), 8.12–8.19 (m, 2H, 5- u. 8-H). – MS:  $m/z$  (%) = 194 ( $\text{M}^+$ , 77), 166 ( $[\text{M-CO}]^+$ , 32), 147 ( $[\text{M-CO-F}]^+$ , 20), 138 ( $[\text{M-2 CO}]^+$ , 100).  $\text{C}_{10}\text{H}_4\text{F}_2\text{O}_2$  (194.1)

#### 3.8.2. 2-(3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-fluor-1,4-naphthochinon (22)

6.3 mmol **21** werden in 50 mL DMSO gelöst und mit 1.3 g 2,6-Di-tert-butylphenol sowie 1.7 g fein gemahltem Kaliumcarbonat versetzt. Es wird 30 min bei RT gerührt und die Reaktion anschließend durch Zugabe von 150 mL  $\text{H}_2\text{O}$  beendet. Nach vorsichtigem Ansäuern mit HCl cc. wird mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert. Die Reinigung erfolgt dann durch SC mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Ausbeute: 70%, orange Kristalle, Schmp. 190 °C (Cyclohexan). – IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3631 (OH), 3074 (C–H), 2956, 2916, 2873 (t-Bu), 1672, 1618 (C=O), 1595 (C=C). –  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta = 1.48$  (s, 18H, 2 t-Bu), 5.53 (s, 1H, OH), 7.34 (s, 2H, 2'- u. 6-H), 7.72–7.84 (m, 2H, 6- u. 7-H), 8.13–8.23 (m, 2H, 5- u. 8-H). – MS:  $m/z$  (%) = 380 ( $\text{M}^+$ , 45), 365 ( $[\text{M-Me}]^+$ , 100), 57 ( $[\text{t-Bu}]^+$ , 55).  $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{FO}_3$  (380.4)

#### 3.8.3. 2-(3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-iod-1,4-naphthochinon (23)

0.38 mmol **26** und 2.3 mmol Kupfer(I)-iodid werden in 10 mL 3-Pentanon 2 h unter Rückfluss und Argonatmosphäre erhitzt. Danach werden 2.4 mmol Natriumiodid hinzugegeben und das resultierende Gemisch wird über Nacht weitergekocht. Im Anschluss wird das Lösungsmittel abdestilliert und 20 mL  $\text{H}_2\text{O}$  zugesetzt. Nach Extraktion mit Ether werden die vereinigten organischen Phasen über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und eingeengt, um dann abschließend sc mit Ethylacetat/Hexan (1:5) gereinigt zu werden. (Ausbeute: 60%). Goldgelbe Kristalle, Schmp. 210 °C (Cyclohexan). – IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3621 (OH), 3075 (C–H), 2955, 2910, 2870 (t-Bu), 1668 (C=O), 1592, 1556 (C=C). –  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta = 1.48$  (s, 18H, 2 t-Bu), 5.46 (s, 1H, OH), 7.16 (s, 2H, 2'- u. 6'-H), 7.69–7.81 (m, 2H, 6- u. 7-H), 8.11–8.18 (m, 1H, 8-H), 8.18–8.24 (m, 1H, 5-H). – MS:  $m/z$  (%) = 488 ( $\text{M}^+$ , 61), 473 ( $[\text{M-Me}]^+$ , 100), 432 ( $[\text{M-t-Bu}]^+$ , 26).  $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{IO}_3$  (488.4)

#### 3.8.4. 3-(3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-1,4-dioxo-1,4-dihydro-naphthalin-2-carbonitril (24) (Mizuno et al. 1994)

0.2 mmol **20**, 0.2 mmol  $\text{Zn}(\text{CN})_2$  und 6.0  $\mu\text{mol}$   $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  werden in 1 mL DMF unter Argonatmosphäre 12 h erhitzt. Nach dem Abkühlen auf RT wird das Reaktionsgemisch mit 60 mL Ethylacetat verdünnt und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wird mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum abgezogen (Ausbeute: 50%). Orange Kristalle, Schmp. 234–235 °C (Cyclohexan). – IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3595 (OH), 3184, 3070 (C–H), 2959, 2915, 2874 (t-Bu), 2222 (C $\equiv$ N), 1672 (C=O), 1591 (C=C). –  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta = 1.50$  (s, 18H, 2 t-Bu), 5.78 (s, 1H, OH), 7.52 (s, 2H, 2'- u. 6'-H), 7.80–7.89 (m, 2H, 6- u. 7-H), 8.16–8.25 (m, 2H, 5- u. 8-H). – MS:  $m/z$  (%) = 387 ( $\text{M}^+$ , 61), 372 ( $[\text{M-Me}]^+$ , 88), 330 ( $[\text{M-t-Bu}]^+$ , 39), 316 ( $[\text{M-Me-2 CO}]^+$ , 57 ( $[\text{t-Bu}]^+$ , 100).  $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{NO}_3$  (387.5)

### 3.9. 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  $\text{CaCl}_2$  vorinkubiert (DMSO-Endkonzentration: 0.25% (V/V)). Danach wurde die Enzymreaktion mit Calciumionophor A23187 gestartet und nach 5 min mit Nordihydroguajarsäure (gelöst in MeOH/MeCN) abgebrochen. Nach Festphasenextraktion wurde der Entzündungsmediator  $\text{LTB}_4$  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,  $P < 0.05$ ).

### 3.10. 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 Abernten 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  $\text{CaCl}_2$  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,  $P < 0.05$ ).

### 3.11. Bestimmung der cPLA<sub>2</sub>-Inhibition

Das Literaturverfahren (Lehr und Schulze-Effringhoff 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 Nordihydroguajaretsäure (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,  $P < 0.05$ ).

\*28. Mitt.: Wurm und Schwandt (2003)

### Literatur

- 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.
- Kaieda O, Hirota K (1986) Fluorinated quinones. *Eur Pat Appl* 14 pp. CODEN: EPXXDW; EP 170190.
- Lehr M (1989) Synthese und Testung von 5-lipoxygenase- und cyclooxygenase-hemmenden mono- und diarylierten 2,3-Dihydro-1H-pyrrolizinen und diarylierten Pyrrolen. Diss. Univ. Regensburg.
- Lehr M, Schulze Effringhoff 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.
- Matsuo K, Okumura M, Tanaka K (1982) Total synthesis of mimocin, an isoquinoline antibiotic. *Chem Pharm Bull* 30: 4170–4174.
- Mizuno A, Takagi K, Goto M, Sasaki Y (1994) Constitution and absorption spectra of 1,4-naphthoquinone derivatives containing hindered phenols. *Wakayama Kogyo Koto Senmon Gakko Kenkyu Kiyu* 29: 67–71.
- Pearl IA (1947) Reactions of vanillin and its derived compounds III. The Cannizzaro reaction of vanillin. *J Org Chem Soc* 12: 79–89.
- Wang S, Ren Z, Cao W, Tong W (2001) The Knoevenagel condensation of aromatic aldehydes with malononitrile or ethyl cyanoacetate in the presence of CTMAB in water. *Synth Commun* 31: 673–677.
- 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, Gurka H.-J (1997) Phenyl-1,4-naphthochinonderivate mit Hydroxylierungsmustern von Bioflavonoiden. *Pharmazie* 52: 739–743.
- Wurm G, Schwandt S (1999) 2-(3-Halogen-4-hydroxyphenyl)-1,4-naphthochinon-Derivate aus 2-(3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-Analoga, potente 5-Lipoxygenase-Inhibitoren. *Pharmazie* 54: 487–490.
- Wurm G, Schwandt S (2003) Methylierte 2-Aryl-1,4-naphthochinonderivate, 5-Lipoxygenase-Inhibitoren mit reduzierter antioxidativer Aktivität. *Pharmazie* 58: 531–538.