

Institut für Pharmazeutische Chemie¹ und Institut für Anorganische und Analytische Chemie² der Technischen Universität Braunschweig und Institut für Pharmazeutische Chemie³ der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Germany

Pyrano[3,4-*c*]chinoline aus 1-Desaza-1-oxa-nifedipin

K. GÖRLITZER¹, J. TRITTMACHER¹, P. G. JONES², P. FROBERG³, G. DRUTKOWSKI³

Eingegangen am 29. Januar, 2003, angenommen am 20. Februar 2003

Prof. Dr. Klaus Görlitzer, Institut für Pharmazeutische Chemie, Beethovenstr. 55, 38106 Braunschweig
k.goerlitzer@tu-bs.de

Pharmazie 58: 539–542 (2003)

Die Umsetzung des 1,5-Diketons **1** mit Acetanhydrid/Eisessig in Gegenwart von Zinkchlorid liefert neben dem 1-Desaza-1-oxa-nifedipin (**2**) das anellierte Lacton **3**. Die Struktur von **2** und **3** wird durch Röntgenkristallanalyse bewiesen. Die pH-abhängige Reduktion der Nitrogruppe von **2** führt unter Ringschluss zu den Pyrano[3,4-*c*]chinolinen **4Aa, b**. Die cyclische Hydroxamsäure **4Aa** ist ein schwacher, nicht selektiver Hemmstoff von 5-, 12- und 15-Lipoxygenasen von menschlichem Vollblut.

Pyrano[3,4-*c*]quinolines from 1-desaza-1-oxa-nifedipine

The reaction of the 1,5-diketone **1** with acetic anhydride/acetic acid in the presence of zinc chloride yields the 1-desaza-1-oxa-nifedipine **2** and the annulated lactone **3** as a by-product. The structures of **2** and **3** are confirmed by X-ray structure analysis. The pH-dependent reduction of the nitro group from **2** leads to the pyrano[3,4-*c*]quinolines **4Aa, b** by ring closure. The cyclic hydroxamic acid **4Aa** represents a weak, non-selective inhibitor of 5-, 12- and 15-lipoxygenase of human full-blood.

1. Einleitung

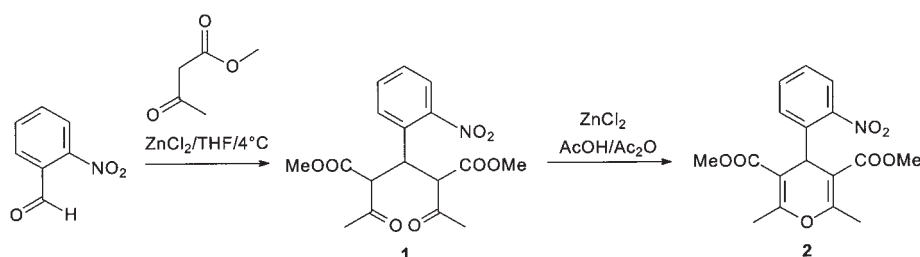
Aus dem ersten Calciumkanalblocker mit 1,4-Dihydropyridin-Struktur Nifedipin wurden nach Dehydrierung zum korrespondierenden Pyridin, anschließender pH-abhängiger Reduktion der 4-(2-Nitrophenyl)-Gruppe und spontaner intramolekularer Esteraminolyse unter Ringschluss Benzo[*c*][2,7]naphthyridine gebildet. Aus dem intermediär gebildeten Phenylhydroxylamin entstand eine cyclische Hydroxamsäure, das primäre aromatische Amin lieferte ein Lactam [1]. Die tricyclische Hydroxamsäure war Ausgangspunkt für Struktur-Wirkungs-Beziehungen, mit dem Ziel, Inhibitoren der 5-Lipoxygenase zu finden, die sich zur Therapie allergischen Asthmas eignen [2]. Nach der Darstellung des zu Nifedipin durch Austausch der NH-Gruppe gegen Sauerstoff erhaltenen 4*H*-Pyrans [3] sollte geprüft werden, ob ein reduktiver Ringschluss zu Pyrano[3,4-*c*]chinolinen möglich ist. Im Gegensatz zu Nifedipin gelang dies nach Reduktion der Nitrogruppe aus der 1,4-Dihydroform bisher nur bei der Darstellung von Pyridazino[3,4-*c*]chinolinen [2, 4].

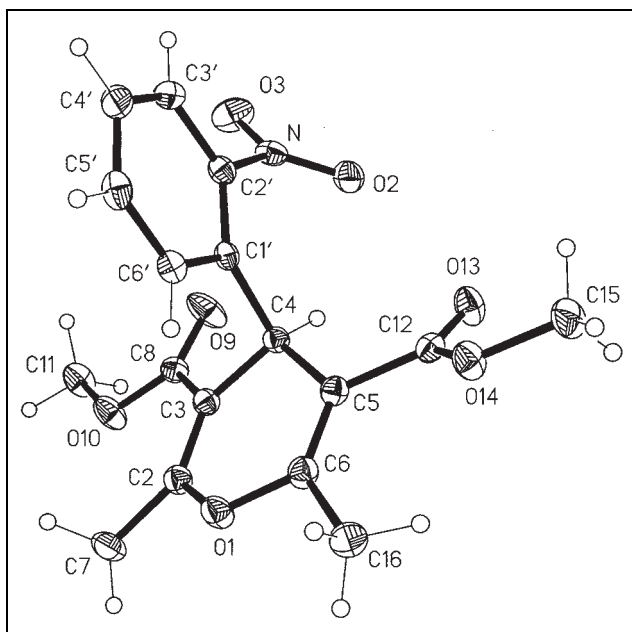
2. Untersuchungen, Ergebnisse und Diskussion

Durch Umsetzung von 2-Nitrobenzaldehyd mit Acetessig-säuremethylester und Zinkchlorid in Tetrahydrofuran ließ sich nach 4 Monaten bei 4 °C in 5% Ausbeute die Tetracarbonyl-verbindung **1** isolieren. Bei einer Reaktionszeit von 10 Monaten (!) ließ sich die Ausbeute auf 28% steigern. Das 1,5-Diketon **1** cyclisierte in Acetanhydrid/Eisessig unter Zusatz von Zinkchlorid zum 4*H*-Pyran **2** [3]. Die Substanz **2** ist das isoelektronische Oxa-Analoge des Calcium-Kanalblockers Nifedipin (Schema 1).

Die röntgenographische Strukturanalyse eines Einkristalls von **2** zeigt eine flache Boot-Konformation für das 4*H*-Pyran, wobei die Atome O1 bzw. C4 um 0.15 bzw. 0.26 Å aus der Ebene der anderen Atome liegen. In Analogie zur Konformation von Nifedipin [5] nimmt der 4-Arylsubstituent die pseudoaxiale Stellung ein und ist orthogonal zur Ringebene angeordnet (Interplanarwinkel 90°). Die Nitrogruppe steht aber clinal zum 4-H. Beide Estergruppen nehmen überraschenderweise die *s-trans*-Konformation ein (Abb. 1). Sie unterscheiden sich damit

Schema 1

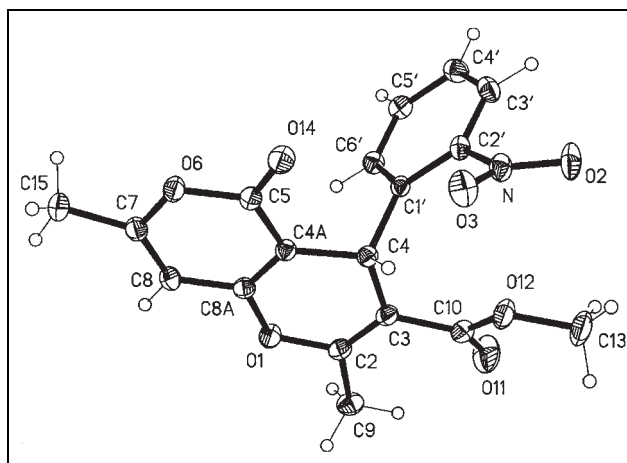


Fig. 1: Röntgenstrukturanalyse von **2**

sowohl von Nifedipin mit *cis/trans*-Anordnung [6] als auch von 4*H*-Pyranen, die entweder *cis/cis*- oder *cis/trans*-Konformation aufweisen [3].

Bei der Aufarbeitung eines größeren Ansatzes zur Darstellung des 4*H*-Pyrans **2** konnte aus der Mutterlauge eine weitere Substanz **3** in geringen Mengen isoliert werden. Im ^1H -NMR-Spektrum von **3** findet man drei separierte Singulets für Methylprotonen, während das Signal für eine der beiden Estermethylgruppen fehlt. Dafür wird ein weiteres Singulett für Methinprotonen im Bereich für olefinische Protonen registriert. Die Nitrophenylgruppe ist nach dem ^1H -NMR- und IR-Spektrum erhalten geblieben. Im EI-MS erscheint der mutmaßliche Molpeak bei $m/z = 340$, im CI-MS (positiv) wird der Peak höchster Masse bei $m/z = 375$ erhalten. Da sich von der Substanz Einkristalle erzeugen ließen, konnte die Struktur **3** durch Röntgenbeugung bewiesen werden. Danach liegt ein $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -ungesättigtes anelliertes Sechsringlacton vor (Abb. 2). Der anellierte Heterocyclus von **3** ist nahezu eingeebnet (mittlere Abweichung aller 10 Atome des bicyclischen Systems: 0.03 Å; maximaler absoluter Torsionswinkel: 6°), der Nitroaromat nimmt eine pseudoaxiale Position ein und steht orthogonal (Interplanarwinkel 90°) zum 4*H*-Pyran, wobei die Nitrogruppe clinal zum 4-H angeordnet ist. Der 3-Carbonsäuremethylester weist *s-cis*-Konformation auf.

Die Verbindung **3** ist wahrscheinlich durch Kondensation der 2-Methylgruppe des 4*H*-Pyrans **2** mit Acetanhydrid und anschließende intramolekulare Umesterung unter Eliminierung von Methylacetat gebildet worden (Schema 2).

Fig. 2: Röntgenstrukturanalyse von **3**

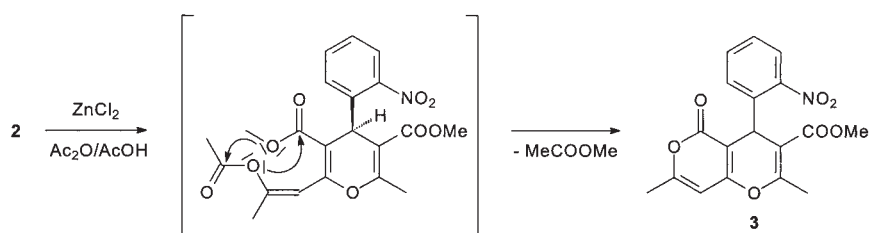
Aus Nifedipin und strukturverwandten Verbindungen waren cyclische Hydroxamsäuren vom Phenanthridin-Typ synthetisiert und auf lipoxigenasehemmende Wirkung geprüft worden [2]. In gleicher Weise gelang die Darstellung eines Pyrano[3,4-*c*]pyridins durch Reduktion der Nitrogruppe von **2** mit Zink im schwach sauren Medium. Das intermediär gebildete Hydroxylamin reagierte mit einer Esterfunktion zur cyclischen Hydroxamsäure **4a**.

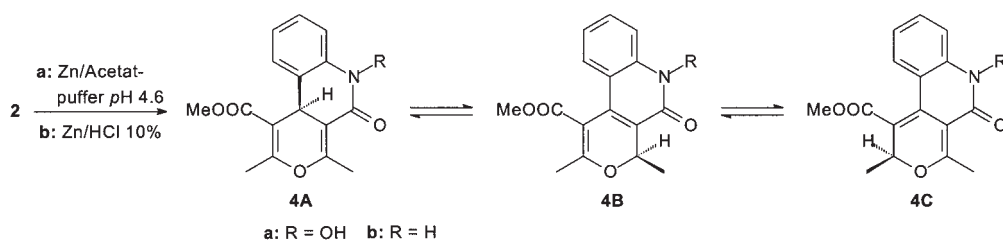
Für das Pyrano[3,4-*c*]chinolin **4a** lassen sich drei Tautomere **A-C** formulieren. Im ^1H -NMR-Spektrum werden die Protonen einer Methylgruppe als Dublett bei $\delta = 2.12$ mit der Kopplungskonstanten $J = 1.4$ Hz registriert, diejenigen der anderen treten dagegen als Singulett bei $\delta = 2.33$ auf. Im NOE-Differenzspektrum werden nach Sättigung des Singulets die Signale für die Methoxygruppe sowie ein Methin- und ein aromatisches Proton verstärkt. Die chemischen Verschiebungen der Methylgruppen-Signale im ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektrum beweisen, daß diese an sp^2 -hybridisierten Kohlenstoffen stehen müssen und somit die Struktur **4Aa** zutrifft. Diese Zuordnung konnte durch die Anwendung der zweidimensionalen NMR-Techniken HSQC und HMBC gesichert werden (Schema 3).

Die Reduktion der Nitrogruppe mit Zink im sauren Milieu zum aromatischen Amin lieferte durch nachfolgende intramolekulare Aminolyse das Lactam **4b**. Im ^1H -NMR-Spektrum tritt die 4-Methylgruppe bei $\delta = 2.18$ als Dublett mit $J = 1.5$ Hz und die 2-Methylgruppe bei $\delta = 2.33$ als Dublett mit $J = 0.5$ Hz in Resonanz. Da hier die Protonen beider Methylgruppen eine long-range-Kopplung zeigen, muss das 4*H*-Pyran-Derivat **4Ab** vorliegen. Das Methin-Proton 10b-H wird wie bei **4Aa** nicht aufgelöst als verbreitertes Singulett registriert.

Das tricyclische Hydroxamsäure-Derivat **4Aa** wurde auf Lipoxigenase-Hemmung geprüft. In einem *In-vitro*-Test an Sojabohnen-Lipoxigenase (15-LOX) [7] war **4Aa** in einer Konzentration von 100 μM inaktiv. Bei der Prüfung

Schema 2⁴



Schema 3⁴

auf Wirksamkeit an menschlichem Vollblut wurden Leukotrien B₄ (LTB₄) und 5-HETE als Arachidonsäuremetabolite des 5-Lipoxygenasewegs sowie 12- und 15-HETE als Metabolite des 12- bzw. 15-LOX-Wegs mittels HPLC bestimmt. Außerdem wurde die Bildung von 12-HHT als Metabolit des Cyclooxygenasewegs ermittelt [8]. Bei einer Konzentration von 10 µM zeigte der Inhibitor **4Aa** eine unselektive Hemmung sowohl der 5-LOX (Hemmung der LTB₄-Bildung von 51%) als auch der 12-LOX (59%) und 15-LOX (34%)⁵. Im Vergleich zu Zileuton, einem therapeutisch genutzten 5-LOX-Inhibitor mit Hydroxamsäure-Funktion, das einen IC₅₀-Wert von 0,7 µM aufweist [9], ist für eine 50% 5-LOX-Hemmung durch **4Aa** mit 10 µM eine sehr viel größere Konzentration notwendig. Der Cyclooxygenaseweg bleibt unbeeinflusst.

3. Experimenteller Teil

3.1. Allgemeine Angaben

Vgl. [3]. UV-Spektren: Analytik Jena Specord 200 UV/VIS-Spektrometer. MS: Chemische Ionisation (CI)-MS: Reaktandgas NH₃. HPLC: Eluenten: (1) = Acetonitril/H₂O (70:30); (2) = Acetonitril/Phosphatpuffer pH 2.3 (70:30). Detektion (DAD): (1) = 250 nm; (2) = 230 nm. Lipoxygenase-Assays vgl. [8].

Tabelle: Röntgenographische Daten von 2 und 3

| Verbindung | 2 | 3 |
|--------------------------------------|---|---|
| Formel | C ₁₇ H ₁₇ NO ₇ | C ₁₈ H ₁₅ NO ₇ |
| M _r | 347.32 | 357.31 |
| Habitus | farbloses Prisma | farblose Tafel |
| Kristallgröße (mm) | 0.33 × 0.13 × 0.10 | 0.25 × 0.25 × 0.16 |
| Kristallsystem | monoklin | triklin |
| Raumgruppe | P2 ₁ /n | P(-1) |
| Gitterkonstanten | | |
| a (Å) | 7.7841(6) | 7.5873(6) |
| b (Å) | 16.2649(14) | 8.9247(8) |
| c (Å) | 13.0476(11) | 12.4765(11) |
| α (°) | 90 | 85.04(4) |
| β (°) | 104.531(4) | 87.184(4) |
| γ (°) | 90 | 71.748(4) |
| δ (Å ³) | 1599.1(2) | 799.11(12) |
| Z | 4 | 2 |
| D _x (Mg m ⁻³) | 1.443 | 1.485 |
| μ (mm ⁻¹) | 0.113 | 0.116 |
| F (000) | 728 | 372 |
| T (°C) | -140 | -140 |
| 2 θ _{max} | 60 | 60 |
| Zahl der Reflexe: | | |
| Gemessen | 18257 | 9293 |
| Unabhängig | 4665 | 4617 |
| R _{int} | 0.0346 | 0.0212 |
| Parameter | 230 | 238 |
| Restraints | 0 | 0 |
| wR2 (F ² , alle Refl.) | 0.1173 | 0.1149 |
| R1 (F > 2σ(F)) | 0.0406 | 0.0389 |
| S | 1.051 | 1.063 |
| max. Δρ (e Å ⁻³) | 0.357 | 0.417 |

3.2. Methyl-2,7-dimethyl-4-(2-nitrophenyl)-5-oxo-4H,5H-pyrano[4,3-b]-pyran-3-carboxylat (3)

27.2 g (0.2 mol) wasserfreies ZnCl₂ werden in 100 ml THF gelöst und eine Lösung aus 15.1 g (0.1 mol) 2-Nitrobenzaldehyd in 23.2 g (0.2 mol) Acetessigsäuremethylester zugetropft. Der Ansatz wird 10 Monate bei 4 °C belassen und dann über bas. Al₂O₃ mit EtOAc eluiert. Das Lösemittelgemisch wird i. Vak. abdestilliert. Die sich nach Zugabe von EtOH gebildeten Kristalle werden abgesaugt (Methyl-(2Z)-2-acetyl-3-(2-nitrophenyl)prop-2-enoat) und der vom Lösemittel befreite Rückstand einer Gradienten-FC (Fließmittel: Petroläther/EtOAc 20:1 → 3:1) unterworfen. Die 2. Fraktion liefert die Verbindung **1** [3], Ausbeute: 3.63 g (10%). Die Mutterlauge wird i. Vak. zur Trockne eingedampft und mit einer Lösung aus 8.18 g (60 mmol) wasserfreiem ZnCl₂ in 50 ml Ac₂O und 40 ml AcOH versetzt. Der Ansatz wird 7 d bei RT gerührt, dann mit H₂O und Et₂O versetzt und die wässrige Phase mehrmals mit Et₂O extrahiert. Die vereinigten Et₂O-Phasen werden mit H₂O, NaHCO₃-Lösung (5%) und ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach dem Abdestillieren des Lösemittels i. Vak. ergibt das Umkristallisieren aus EtOH die Verbindung **2** [3], Ausbeute: 6.18 g (18%). Die Mutterlauge wird eingengt und eine FC (Fließmittel: Petroläther/EtOAc 20:1) durchgeführt. Als 4. Fraktion wird Verbindung **3** als Nebenprodukt isoliert. Ausbeute: 227 mg (<1%). Fast farblose Kristalle, Schmp. 185 °C (EtOH). IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 1735 (C=O, Lacton), 1727 (C=O, Ester), 1675, 1638 (C=C), 1603, 1581 (C=C, Aromat), 1529, 1355 (NO₂). UV (MeOH): λ_{\max} (lg ε) = 204 nm (4.30), 266 (4.14). ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 2.20 (s, 3 H, 7-CH₃), 2.44 (s, 3 H, 2-CH₃), 3.58 (s, 3 H, OCH₃), 5.77 (s, 1 H, 4-H), 5.91 (s, 1 H, 8-H), 7.31 (dd, J = 8 Hz, J = 7.2 Hz, 1 H, 4'-H), 7.34 (d, J = 7.8 Hz, 1 H, 6'-H), 7.49 (dd, J = 7.6 Hz, J = 7.6 Hz, 1 H, 5'-H), 7.83 (d, J = 8 Hz, 1 H, 3'-H). ¹³C-NMR (CDCl₃) + DEPT: δ (ppm) = 18.67 (2-CH₃), 19.94 (7-CH₃), 31.08 (C-4), 51.79 (OCH₃), 98.05 (C-8), 101.53 (C-4a), 107.61 (C-3), 124.61 (C-3'), 127.71 (C-6'), 131.11 (C-4'), 132.65 (C-5'), 137.74 (C-1'), 149.46 (C-2'), 158.71, 158.75 (C-2, C-7), 161.99 (C-8a), 162.47 (C-5), 166.10 (C=O, COOCH₃). MS (EI): m/z (%) = 357 [M]⁺⁺ (<1), 340 [M-OH]⁺⁺ (30), 280 (100); MS (CI): m/z (%) = 375 [M + NH₄]⁺ (10), 358 [M + H]⁺ (3), 328 [M + NH₄-NO-OH]⁺ (100). HPLC (1): t_s = 1.07 min. C₁₈H₁₅NO₇ (357.3)

3.3. Methyl-6-hydroxy-2,4-dimethyl-5-oxo-6,10b-dihydro-5H-pyrano[3,4-c]chinolin-1-carboxylat (4a)

3 mmol (1.04 g) **2** werden in 50 ml EtOH gelöst, 10 ml Acetatpuffer pH 4.6 und 10 aktivierte Zinkplättchen zugegeben und 8 h unter Rückfluß erhitzt. Der gebildete Niederschlag wird abgesaugt, mit H₂O gewaschen, getrocknet und mit 2 Tropfen EtOH und 0.1N-HCl bis zum Ausfällen der Hydroxamsäure versetzt. Ausbeute: 206 mg (22%). Farbloses Pulver, Schmp. ab 140 °C Zers. (EtOH/H₂O), + FeCl₃: tief blauviolett. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3297 (OH), 1717 (C=O, Ester), 1696 (C=O, Hydroxamsäure), 1629 (C=C). UV (MeOH): λ_{\max} (lg ε) = 203 nm (4.48), 230 (4.21), 280 (3.77). ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 2.12 (d, J = 1.4 Hz, 3 H, 4-CH₃), 2.33 (s, 3 H, 2-CH₃), 3.68 (s, 3 H, OCH₃), 4.45 (s, 1 H, 10b-H), 6.73 (d, J = 7.2 Hz, 1 H, 10-H), 7.03 (m, 1 H, 8-H), 7.24–7.29 (m, 2 H, 7-H, 9-H), 10.46 (s, 1 H, OH). NOE-Differenzspektrum: gesättigtes ¹H-Signal (verstärktes ¹H-Signal): 2-CH₃ (OCH₃, 10-H, 10b-H), 10b-H (10-H, OCH₃). ¹³C-NMR (CDCl₃) + DEPT: δ (ppm) = 16.44 (4-CH₃), 18.45 (2-CH₃), 32.03 (C-10b), 51.75 (OCH₃), 101.32 (C-1), 103.13 (C-4a), 112.35 (C-7), 122.51 (C-10), 122.77 (C-8), 127.18 (C-9), 127.29 (C-10a), 138.45 (C-6a), 152.07 (C-4), 159.44 (C-2), 162.50 (C-5), 167.11 (COOCH₃). Zuordnung über HSQC und HMBC gesichert! MS (EI): m/z (%) = 301 [M]⁺⁺ (55), 241 [M-HCOOCH₃]⁺⁺ (100). HPLC(2): t_s = 0.69 min. C₁₆H₁₅NO₅ · 0.5 H₂O (310.3)

3.4. Methyl-2,4-dimethyl-5-oxo-6,10b-dihydro-5H-pyrano[3,4-c]chinolin-1-carboxylat (4b)

3 mmol (1.04 g) **2** werden in 40 ml EtOH gelöst, 20 ml HCl (10%) und 10 aktivierte Zinkplättchen zugegeben und mehrere h unter Rückfluß erhitzt. Der Ansatz wird auf Eis gegossen, der gebildete Niederschlag abgesaugt und mit H₂O gewaschen. Gegebenenfalls wird eine FC (Eluent: Petroläther/

EtOAc 4:1) durchgeführt. Ausbeute: 46 mg (14%). Fast farbloses Pulver, Schmp. ab 185 °C Zers. (EtOH). IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3175 (NH), 1719 (C=O, Ester), 1704 (C=O, Lactam), 1654, 1629 (C=C), 1591 (C=C, Aromat). UV (MeOH): λ_{max} (lg ϵ) = 203 nm (4.48), 226 (4.24), 276 (3.70), 290^{sh} (3.66). ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 2.18 (d, J = 1.5 Hz, 3 H, 4-CH₃), 2.33 (d, J = 0.5 Hz, 3 H, 2-CH₃), 3.74 (s, 3 H, OCH₃), 4.63 (s, 1 H, 10b-H), 6.80 (dd, J = 8 Hz, J = 1 Hz, 1 H, 10-H), 6.82 (d, J = 8.5 Hz, 1 H, 7-H), 6.99 (ddd, J = 7.5 Hz, J = 7.5 Hz, J = 1 Hz, 1 H, 8-H), 7.16 (t, J = 7.5 Hz, 1 H, 9-H), 7.93 (s, 1 H, NH). ¹³C-NMR (CDCl₃) + DEPT: δ (ppm) = 17.06 (4-CH₃), 18.84 (2-CH₃), 33.03 (C-10b), 51.67 (OCH₃), 101.98 (C-1), 103.4 (C-4a), 115.27 (C-7), 122.92 (C-8), 123.83 (C-10), 127.20 (C-9), 128.42 (C-6a), 136.04 (C-10a), 153.55 (C-4), 160.30 (C-2), 167.66 (C-5), 168.03 (COOCH₃). Zuordnung über HSQC und HMBC gesichert! MS (EI): m/z (%) = 285 [M]⁺⁺ (43), 225 [M-HCOOCH₃]⁺⁺ (100). HPLC(1): t_{R} = 0.93 min. C₁₆H₁₅NO₄ (285.3)

3.5. Röntgenstrukturanalyse von 2 und 3

Vgl. [3]. Numerische Einzelheiten sind in der Tabelle zusammengestellt. Vollständige Daten (außer Strukturfaktoren) wurden unter den Nummern CCDC-202196 (2), CCDC-202197 (3) beim Cambridge Crystallographic Data Centre deponiert und können kostenlos angefordert werden vom Direktor, CCDC, 12 Union Rd., Cambridge CB2 1EZ, UK (e-mail: deposit@chemcrs.cam.ac.uk), oder via www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrieving.html.

3.6. Biologische Methoden

Vgl. [8]

⁴ Bei der Substanz 3 bzw. 4 ist jeweils nur ein Enantiomer gezeichnet

⁵ Die prozentualen Hemmwerte stellen Mittelwerte von Dreifachbestimmungen dar. Die Hemmung war statistisch signifikant verglichen mit den Kontrollwerten (n = 3), P < 0,05.

Literatur

- Görlitzer, K.; Buss, D.: Arch. Pharm. (Weinheim, Ger.) **318**, 97 (1985)
- Görlitzer, K.; Dobberkau, P.-M.; Ewert, H.-J.; Heinrici, Ch.; Bartke, U.; Buss, D.; Kupfer, C.; Nuhn, P.: Pharmazie **52**, 575 (1997) et loc. cit.
- Görlitzer, K.; Trittmacher, J.; Jones, P. G.: Pharmazie **57**, 523 (2002)
- Görlitzer, K.; Behrje, H.: Pharmazie **51**, 528 (1996)
- Goldmann, S.; Stoltefuß, J.: Angew. Chem. **103**, 1587 (1991)
- Triggle, A. M.; Shefter, E.; Triggle, D. J.: J. Med. Chem. **23**, 1442 (1980)
- Clemens, F.; Drutkowski, G.; Wiese, M.; Froberg, P.: Biochim. Biophys. Acta **1549**, 88 (2001)
- Görlitzer, K.; Fabian, J.; Jones, P. G.; Froberg, P.; Drutkowski, G.: Pharmazie **57**, 362 (2002)
- Carter, G. W.; Young, P. R.; Albert, D. H.; Bouska, J.; Dyer, R.; Bell, R. L.; Summers, J. B.; Brooks, D. W.: J. Pharmacol. Exp. Ther. **256**, 929 (1991)