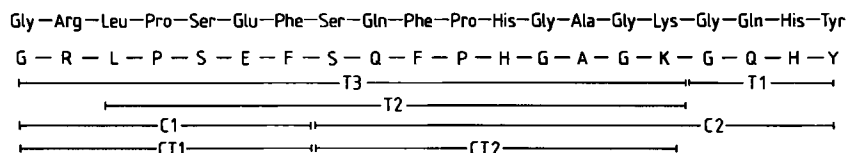


Abb. 5. LSI-Massenspektrum positiver Ionen vom Spaltstück CT2: Ser-Gln-Phe-Pro-His-Gly-Ala-Gly-Lys; m/z 928 = MH^+ ; Glycerin-Untergrund subtrahiert.

Die chymotryptische Verdauung von T2 lieferte ein Teilstück der Masse m/z 591 (CT3) und das bereits bekannte Spaltstück CT2 der Masse m/z 927.

CT3 hat die Sequenz Leu-Pro-Ser-Glu-Phe und somit bis auf das Fehlen des *N*-terminalen Dipeptides Gly-Arg die gleiche Sequenz wie C1 und CT1. Daraus war zu folgern, daß das Bruchstück T3 ein nur unvollständig tryptisch verdautes Peptid ist.



Schema 1. Struktur des neuen Icosaepptides. Bruchstücke siehe Text. Zweite Zeile: Ein-Buchstaben-Code.

Addiert man die Molekulargewichte der chymotryptischen Spaltstücke C1 (Masse 804) und C2 (Masse 1412), so erhält man nach Subtraktion von 18 amu (= Masse von H_2O) für das Peptid ein Molekulargewicht von 2198. Die gleiche Masse erhält man aus den Spaltstücken der tryptischen Verdauung T3 = CT1 (M 804) + CT2 (M 927) und T1 (M 503) nach Subtraktion von 2×18 . Es ergibt sich somit für das Peptid die in Schema 1 gezeigte Struktur. Analoge Strukturen sind bisher unbekannt.

Eingegangen am 23. Februar 1987 [Z 2109]

- [1] C. Y. Yang, E. Pauly, H. Kratzin, N. Hilschmann, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 348 (1981) 1077; B. Peeters, W. Rombauts, J. Mous, W. Heyns, *Eur. J. Biochem.* 115 (1981) 115.
- [2] M. Barber, R. S. Bordoli, G. V. Garner, D. B. Gordon, R. D. Sedgwick, W. Tetler, A. N. Tyler, *Org. Mass Spectrom.* 16 (1981) 256.
- [3] J.-Y. Chang, D. Brauer, B. Wittmann-Liebold, *FEBS Lett.* 93 (1978) 205; J.-Y. Chang, *Biochim. Biophys. Acta* 578 (1979) 188; J.-Y. Chang, *Biochem. J.* 199 (1981) 557.
- [4] D. Renner, G. Spittler, *Angew. Chem.* 97 (1985) 408; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 24 (1985) 408.
- [5] F. R. Gurd, *Methods Enzymol.* 11 (1967) 532.
- [6] E. Gras, B. Wittkop, *J. Biol. Chem.* 237 (1962) 1856.
- [7] P. Roepstorff, J. Fohlmann, *Biomed. Mass Spectrom.* 11 (1984) 604.
- [8] W. R. Gray, *Methods Enzymol.* 25 (1972) 121.
- [9] J.-Y. Chang, *Methods Enzymol.* 91 (1983) 455.

Substituierte α -Pyrone als Edukte für die Synthese von 4,4-disubstituierten 1,4-Dihydropyridinen

Von Vratislav Kvita* und Hans-Peter Sauter

Nachdem sich einige 4-Aryl-1,4-dihydropyridine als hochwirksame Calcium-Antagonisten erwiesen haben^[1],

[*] Dr. V. Kvita, H.-P. Sauter
Zentrale Forschungslaboratorien und
Zentrale Funktion Forschung Physik der Ciba-Geigy AG
Rosental, CH-4002 Basel (Schweiz)

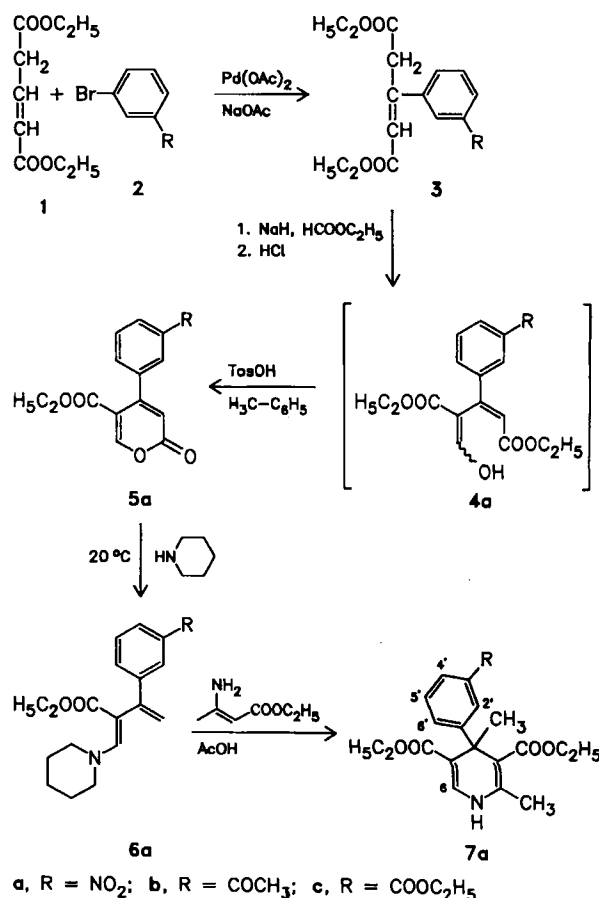
wurde in relativ kurzer Zeit eine große Zahl von Derivaten synthetisiert. Die Derivatisierung war jedoch lange Zeit auf die Phenylgruppe und auf C-2 und C-3 des 1,4-Dihydropyridinrings beschränkt. 4,4-Disubstituierte 1,4-Dihydropyridine waren nicht erhältlich.

Erst die Synthese von Goldmann^[2] machte die 4,4-disubstituierten 1,4-Dihydropyridine zugänglich. Aber auch dieser Weg ist nicht allgemein anwendbar. Verbindungen mit den am meisten erwünschten 2- oder 3-Nitrophenylgruppen an C-4 lassen sich nicht mit dieser Methode synthetisieren.

Ausgehend vom α -Pyronderivat erhielten wir jetzt durch eine neue Synthese auch ein 4-Methyl-4-(3-nitrophenyl)-1,4-dihydropyridin, das alle Strukturmerkmale vereinigt, die sich bisher als vorteilhaft erwiesen haben.

Der 3-(3-Nitrophenyl)-2-pentendisäure-diethylester **3a** wurde aus Glutaconsäure-diethylester **1** und 1-Brom-3-nitrobenzol **2a** durch eine Heck-Reaktion^[3] hergestellt, zu **4a** formyliert und anschließend in Anwesenheit einer katalytischen Menge Toluolsulfonsäure in Toluol cyclisiert. Der erhaltene 4-(3-Nitrophenyl)-6-oxopyran-3-carbonsäure-

re-ethylester **5a** reagierte bei Raumtemperatur mit Piperidin unter Abspaltung von CO_2 zu 3-(3-Nitrophenyl)-2-piperidinomethylen-3-butensäure-ethylester **6a**^[4], der mit 3-Aminocrotonsäure-ethylester zu 2,4-Dimethyl-4-(3-nitrophenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarbonsäure-diethylester



7a cyclisiert wurde. Ähnlich wie 1-Brom-3-nitrobenzol 2a reagieren auch 3-Bromacetophenon 2b und 3-Brombenzoesäure-ethylester 2c.

Arbeitsvorschriften

3a: Zu einem Gemisch von 50.22 g (0.27 mol) 1, 5.03 g (0.0224 mol) Palladium(II)-acetat, 20.26 g (0.247 mol) Natriumacetat und 54 mL Dimethylformamid (DMF) wird bei 115°C unter Rühren innerhalb 2 h eine Lösung von 45.25 g (0.224 mol) 2a in 90 mL DMF getropft; anschließend wird weitere 8 h auf 130°C erhitzt. Das Reaktionsgemisch wird danach im Vakuum eingengt, in CH_2Cl_2 und Wasser verrührt und über Hyflo Supercel (Fluka) filtriert. Die CH_2Cl_2 -Phase wird abgetrennt, mit Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Nichtumgesetztes 1 wird bei 100–110°C/10⁻² Torr abdestilliert und der Rückstand über eine Säule chromatographiert (3000 g Kieselgel 60, Merck; Laufmittel CH_2Cl_2). Nach Einengen im Vakuum bleibt 3a als gelbes Öl zurück, das bald vollständig kristallisiert. Ausbeute 34.5 g (50%), $\text{Fp} = 47^\circ\text{C}$, $\text{Kp} = 170^\circ\text{C}/10^{-2}$ Torr (Kugelrohrföfen). Korrekte Elementaranalyse. IR (CH_2Cl_2): $\tilde{\nu} = 1735$ (s), 1715 (s), 1640 (m), 1530 (s), 1350 (s), 1180 (s). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 8.30$ (t, 1H), 8.22 (dd, 1H), 7.76 (dd, 1H), 7.58 (t, 1H), 6.30 (s, 1H), 4.22 (q, 2H), 4.18 (s, 2H), 4.13 (q, 2H), 1.28 (t, 3H), 1.18 (t, 3H).

3b und **3c** werden analog 3a aus 1 und 2b bzw. 2c erhalten. **3b**: Ausbeute 57%, zähflüssiges Öl, $\text{Kp} = 154^\circ\text{C}/10^{-2}$ Torr (Kugelrohrföfen). Korrekte Elementaranalyse. IR (CH_2Cl_2): $\tilde{\nu} = 1730$ (s), 1710 (s), 1680 (s), 1630 (m). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 7.99$ (t, 1H), 7.90 (dd, 1H), 7.60 (dd, 1H), 7.44 (t, 1H), 6.28 (s, 1H), 4.18 (q, 2H), 4.16 (s, 2H), 4.08 (q, 2H), 2.58 (s, 3H), 1.26 (t, 3H), 1.14 (t, 3H). – **3c**: Ausbeute 32%, zähflüssiges Öl, $\text{Kp} = 160^\circ\text{C}/10^{-2}$ Torr (Kugelrohrföfen). Korrekte Elementaranalyse. IR (CH_2Cl_2): $\tilde{\nu} = 1720$ (s), 1710 (s), 1630 (m). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 8.08$ (t, 1H), 7.98 (dd, 1H), 7.58 (dd, 1H), 7.39 (t, 1H), 6.26 (s, 1H), 4.32 (q, 2H), 4.15 (q, 2H), 4.14 (s, 2H), 4.07 (q, 2H), 1.34 (t, 3H), 1.25 (t, 3H), 1.14 (t, 3H).

5a: Eine Suspension von 11.7 g (0.39 mol) NaH (80proz. in Öl) in 200 mL Ether wird mit 55.5 g (0.75 mol) Ameisensäure-ethylester versetzt. Nach 2 h Rühren wird während 2 h eine Lösung von 46.1 g (0.15 mol) 3a in 150 mL Ether zugegetropft. Nach dem Abklingen der H_2 -Entwicklung (1–2 h) wird das Reaktionsgemisch auf 300 g Eis mit 60 mL conc. HCl gegossen. Die Etherschicht wird abgetrennt und die wäßrige Phase mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinten Extrakte werden schließlich mit Wasser gewaschen, und die Lösung wird nach Trocknen mit Na_2SO_4 eingedampft. Der Rückstand wird über eine Säule chromatographiert (1700 g Kieselgel 60, Merck; Laufmittel CH_2Cl_2). Das Produkt 4a wird ohne weitere Reinigung in 130 mL Toluol gelöst, mit 0.2 g TosOH versetzt und das Lösungsmittel langsam abdestilliert. Die Lösung des Rückstands in CHCl_3 wird mit 2proz. wäßriger NaHCO_3 -Lösung gewaschen, mit MgSO_4 getrocknet und eingengt. Das zuerst ölige 5a kristallisiert aus und wird mit Et_2O gewaschen. Ausbeute 13 g (30%), $\text{Fp} = 155^\circ\text{C}$. Korrekte Elementaranalyse. IR (CHCl_3): $\tilde{\nu} = 1750$ (s), 1730 (s), 1630 (m), 1530 (s), 1350 (s). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 8.35$ (s, 1H), 8.28 (m, 1H), 8.15 (m, 1H), 7.63 (m, 1H), 7.58 (m, 1H), 6.25 (s, 1H), 4.15 (q, 2H), 1.13 (t, 3H).

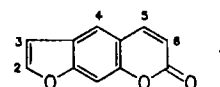
7a: Eine Suspension von 1.445 g (0.005 mol) 5a in 8 mL Acetonitril wird mit 0.43 g (0.005 mol) Piperidin versetzt und bei Raumtemperatur 17 h gerührt. Es entsteht unter CO_2 -Entwicklung eine Lösung von 6a, die bei 40°C eingengt, mit einer Lösung von 1.94 g (0.015 mol) 3-Aminocrotonsäure-diethylester in 0.3 g (0.005 mol) Essigsäure versetzt und 8 h auf 130°C erhitzt wird. Nach dem Eindampfen der Essigsäure im Vakuum wird der Rückstand über eine Säule chromatographiert (200 g Kieselgel 60, Merck; Laufmittel Essigsäure-ethylester/Hexan 1:2). Ausbeute 0.48 g (26%) vom öligen Produkt, das nach Zugabe von Et_2O kristallisiert, $\text{Fp} = 153^\circ\text{C}$. Gelbe Fluoreszenz bei 366 nm. Korrekte Elementaranalyse. IR (CHCl_3): $\tilde{\nu} = 3400$ (w), 1675 (s), 1620 (m), 1530 (s), 1350 (s). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 8.37$ (t, H-2'), 8.14 (dt) und 7.92 (dt, H-4', H-6'), 7.53 (t, H-5'), 7.89 (s, H-6), 5.00 (s, NH), 4.21 (q, CH_2), 4.00 (m, CH_2), 2.39 (s, CH_3), 2.03 (s, CH_3), 1.35 (t, CH_3), 1.15 (t, CH_3). Wegen des Chiralitätszentrums C-4 sind die Protonen innerhalb der beiden $-\text{OCH}_2$ -Gruppen diastereotop. Die deshalb mögliche Anisochronie wurde jedoch nur für die Protonen einer der beiden Gruppen beobachtet ($\Delta\delta = 0.04$ ppm) (vgl. [5]).

Eingegangen am 2. April,
veränderte Fassung am 11. Mai 1987 [Z 2176]

Ein Psoralen-substituiertes Dioxetan als DNA-Intercalator für photo-gentoxische Studien**

Von Waldemar Adam*, Axel Beinhauer, Roland Fischer und Hermann Hauer

Die physiologische Wirkung von Psoralen 1, einem linear-anellierten Furocumarin, bei der Phototherapie der Psoriasis (Schuppenflechte) beruht auf seiner photochemischen [2+2]-Cycloaddition an DNA unter UVA-Bestrahlung (300–400 nm)^[1]. Polycyclische Heteroarene dieser Art



schieben sich in DNA ein; unter Einwirkung von UV-Strahlen werden sie an der α -Pyranon- und/oder Furan-Doppelbindung mit günstig angeordneten Pyrimidinbasen (bevorzugt Thymin) durch Vierringbildung verknüpft. Vor kurzem gelang uns der Nachweis^[2], daß 1,2-Dioxetane (Quellen für die chemische Erzeugung von elektronisch angeregten Zuständen^[3]) photochemische Schäden an DNA verursachen. Obwohl Dioxetane in zellfreier DNA Photocycloadditionen induzieren können, beruht ihre photo-gentoxische Wirkung in Zellsystemen hauptsächlich auf radikalischen Reaktionen, was z. B. zu Strangbrüchen führt^[2].

Es war das Ziel dieser Arbeit, Dioxetane und Psoralen chemisch miteinander zu verknüpfen. Die resultierende Verbindung sollte sich wie andere Furocumarine in DNA einschieben, und die nachfolgende thermische Zersetzung des Dioxetans sollte zu elektronisch angeregtem Psoralen führen, welches sich an DNA cycloaddieren müßte. Wir berichten hier über die durch Carbonatverknüpfung^[4] geglückte Synthese der Dioxetane 3a–c und deren Aktivierungsparameter und Anregungsausbeuten (Tabelle 1).

Die Benzofuran- und Cumarin-substituierten Dioxetane 3a bzw. 3b dienten als Modellsubstanzen für die Synthese des Psoralen-substituierten Dioxetans 3c. Diese drei Dioxetane sollen als Vergleichssubstanzen für photobiologische Untersuchungen verwendet werden. Die entsprechenden Phenole wurden aus den Methoxyverbindungen durch Entmethylierung mit Me_3SiI in 43–58% Ausbeute erhalten. Die Umsetzung der Phenole mit dem Dioxetan-substituierten Chloroformiat 2 in Gegenwart von Triethylamin (Molverhältnis 1:1:1) in Dichlormethan bei ca. 0°C führte zu den Dioxetanen 3a–c. Sie wurden durch Chromatographie an Silicagel bei -30°C isoliert. Thermische Zersetzung (ca. 75°C) von 3a–c führte quantitativ unter Chemilumineszenz zu den Ketocarbonaten 4a–c. Die neuen Verbindungen 3 und 4 wurden vollständig charakterisiert (siehe Tabelle 2^[5]).

Die Aktivierungsparameter der Dioxetane 3a–c (Tabelle 1) wurden aus der jeweiligen Chemilumineszenzabnahme unter isothermen Bedingungen photometrisch bestimmt^[6]. Innerhalb der Fehlergrenze sind die Dioxetane 3 thermisch annähernd gleich stabil und unterscheiden sich in

[1] A. Fleckenstein, *Med. Klin. (Munich)* 70 (1975) 1665; F. Bossert, H. Meyer, E. Wehinger, *Angew. Chem.* 93 (1981) 755; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 20 (1981) 762; W. G. Nayler, *Eur. Heart J.* 1 (1980) 225; R. A. Janis, D. J. Trigg, *J. Med. Chem.* 26 (1983) 775.

[2] S. Goldmann, *Angew. Chem.* 93 (1981) 798; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 20 (1981) 779.

[3] R. F. Heck, *Org. React.* 27 (1982) 345; A. Spenser, *J. Organomet. Chem.* 258 (1983) 101; P. G. Ciattini, G. Ortar, *Synthesis* 1986, 70.

[4] Zur Reaktion von α -Pyronen mit Aminen siehe V. Kvita, H. Sauter, G. Rihs, *Helv. Chim. Acta* 66 (1983) 2769; 68 (1985) 1569; V. Kvita, *Synthesis* 1986, 786.

[5] K. Mislow, M. Raban, *Top. Stereochem.* 1 (1967) 1.

[*] Prof. Dr. W. Adam, Dipl.-Chem. A. Beinhauer, R. Fischer, Dr. H. Hauer
Institut für Organische Chemie der Universität
Am Hubland, D-8700 Würzburg

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Sonderforschungsbereich 172: „Molekulare Mechanismen Kanzerogener Primärveränderungen“), der Fritz-Thyssen-Stiftung und dem Fonds der Chemischen Industrie gefördert.