

2,2,4-Triphenyl-1,2-dihydrochinoliny-1-oxyl - ein stabiles Radikal als NO-Fänger

2,2,4-Triphenyl-1,2-dihydroquinoliny-1-oxyl - a Stable Radical as NO-Trap

Horst Weber* und Andreas Grzesiok

Institut für Pharmazeutische Chemie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Universitätsstr. 1, D-40255 Düsseldorf

Eingegangen am 7. Juni 1993

Mit der Erkenntnis, daß Stickstoffmonoxid (NO) als neuartiger Botenstoff¹⁾ für die Regulation vieler physiologischer Prozesse²⁾ fungiert, stellte sich die Frage nach einem einfachen aber spezifischen Testsystem für ein Screening potentieller Wirkstoffe, die im Verlauf oxidativer Reaktionen NO freisetzen und damit ein großes Potential neuer Wirkprinzipien darstellen könnten. Auch die endogene Biosynthese von NO erfolgt oxidativ, wobei unter Katalyse der NO-Synthase L-Arginin über N^ω-Hydroxy-L-arginin zu Citrullin und NO abgebaut wird.

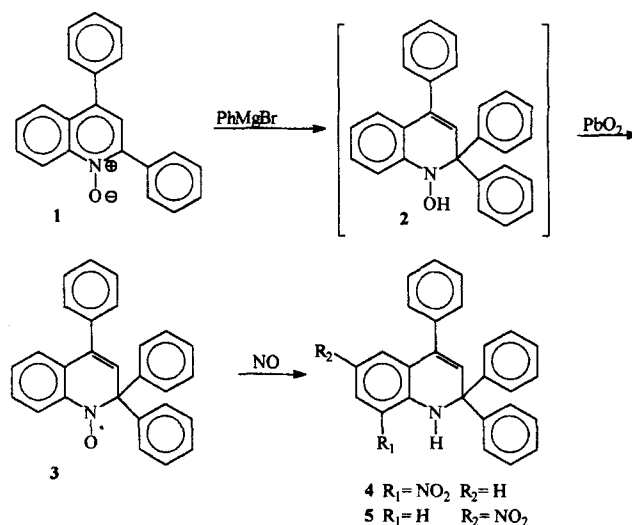
Deshalb sollte ein Reagenz entwickelt werden, das in Anwesenheit von Oxidationsmitteln einen sicheren Nachweis von NO durch Einbau in stabile Endprodukte ermöglicht.

Die seither bekannten indirekten Methoden zur Detektion von NO³⁾ sind dazu nicht in der Lage. Anders das kürzlich vorgestellte elegante Verfahren, bei dem NO mit einem cheletropen Spinfänger⁴⁾ zu einem persistenten Aminoxylradikal reagiert, das allerdings die Methode der ESR-Spektroskopie erfordert.

Zur Umgehung dieses instrumentellen Aufwandes stellen wir nunmehr ein umgekehrtes Prinzip für den Nachweis von NO vor: Als Reagenz dient die bisher nicht beschriebene Titelverbindung **3** als ein stabiles Aminoxylradikal aus der Reihe der 1,2-Dihydrochinoliny-1-oxyle⁵⁾, das die Vorteile der bereits bekannten Reaktionen von Aminoxylen mit NO in sich vereint, ohne die Nachteile aufzuweisen. So setzt sich **3** wie das von *Wieland* beschriebene, aber instabile Diphenylaminoxyl⁶⁾ mit NO zu stabilen, isolierbaren Nitroprodukten um. Während dort jedoch heftige Bedingungen notwendig sind, reagiert **3** dabei so spontan wie die von *Ullmann*, *Call* und *Osiecki*⁷⁾ beschriebenen Nitronylaminoxyle, die mit NO allerdings keine Anlagerungsprodukte liefern⁸⁾, was für Markierungsversuche zu fordern ist.

3 läßt sich aus dem N-Oxid **1** über eine *Grignard*-Reaktion darstellen, wobei das Hydroxylamin **2** nicht isoliert, sondern mit PbO₂ gleich zu **3** oxidiert wird. **3** ist ohne Zersetzung über mehrere Monate lagerfähig und reagiert sowohl in org. Lösungsmitteln (Ether, Alkohole, Chloroform, Aceton etc.) als auch in wäßrigen Systemen im Bereich von pH 6-14 spezifisch mit NO zu stabilen Nitroverbindungen. Als Hauptprodukte entstehen **4** und **5**, deren qualitativer und quantitativer Nachweis durch DC und HPLC problemlos möglich ist.

Zur Prüfung der Spezifität für NO wurde **3** auch mit NO₂ und NaNO₂ umgesetzt. Bei der Reaktion mit überschüssi-



gem NO₂ tritt erst nach längerer Zeit eine unspezifische Zersetzung von **3** ein, ohne daß die Nitroprodukte **4** und **5** nachzuweisen sind. Nach einwöchiger Inkubation von **3** mit NaNO₂ in Dioxan/Phosphat-Puffer pH 7, konnten die Nitroprodukte **4** und **5** durch DC nachgewiesen werden, was auf geringe Mengen freier salpetriger Säure (pK_S 3.29) bei diesem pH-Wert zurückgeführt werden kann. Bei pH >10 bleibt die Bildung der Nitroprodukte **4** und **5** aus NaNO₂ aus.

Die Tauglichkeit des vorgestellten Testsystems wurde an dem bekannten NO-Donator und Molsidomin-Metaboliten SIN-1⁹⁾ geprüft. Dazu wurde **3** mit SIN-1 in einem belüfteten Dioxan-Puffer-Gemisch (pH 7) umgesetzt. Die Nitroprodukte **4** und **5** konnten nach 1 h eindeutig durch DC nachgewiesen werden, nach 4 h war die Umsetzung abgeschlossen. Das Reagenz ist stabil gegenüber Oxidationsmitteln wie Kaliumhexacyanoferrat(III), Kaliumpermanganat, Natriummetaperiodat und Wasserstoffperoxid.

Weitere Derivate von 1,2-Dihydrochinoliny-1-oxylen mit verbesserten Eigenschaften (einheitliche Produkte, Löslichkeit in rein wäßrigen Systemen) sind in der Entwicklung.

Wir danken Herrn Prof. Dr. R. Sustmann und Herrn Dr. H.-G. Korth, Institut für Organische Chemie der Universität-Gesamthochschule Essen, für die Aufnahme sowie die Interpretationshilfe des ESR-Spektrums recht herzlich.

Experimenteller Teil

Schmelzpunkte: unkorrigiert, IR-Spektrum: Perkin-Elmer 1600 Series FTIR, ¹H-NMR (80 MHz): Varian FT-80A, (200 MHz): Bruker AC200, (TMS als interner Standard), MS: Finnigan 3500, ESR: Bruker ER-420, Elementaranalysen: Zentrale Einrichtung Chemie/Pharmazie "Mikroanalyse" der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf. - Temp. in °C.

2,4-Diphenylchinolin-1-oxid (1)

3 g 2,4-Diphenylchinolin⁽¹⁰⁾ (11 mmol) in 250 ml Dichlormethan werden bei 0°C langsam mit 3.8 g 3-Chlorperbenzoesäure in 100 ml Dichlormethan versetzt und 6 h bei 0°C, dann weitere 6 h bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Phase wird mit 1proz. NaOH gewaschen und liefert nach üblicher Aufarbeitung das Produkt. Gelbliche Kristalle (Petroleumäther 60-80), Schmp. 168°. Ausb. 73%. - C₂₁H₁₅NO (297.4) Ber. C 84.8 H 5.08 N 4.7 Gef. C 84.6 H 5.01 N 4.7. - IR (KBr): 3054; 1554; 1378; 1216 cm⁻¹. - ¹H-NMR/80 MHz (CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.9 ("dd", 1H, 8-H, ³J = 8.1 Hz), 8.1-7.46 (m, 14H arom.), - MS (180°): m/z = 297 (34 M⁺), 296 (100), 281 (22), 280 (34).

2,2,4-Triphenyl-1,2-dihydrochinolinyl-1-oxyl (3)

1 g 1 (3.4 mmol) in 75 ml trockenem Tetrahydrofuran werden unter Argon mit 10 mmol Phenylmagnesiumbromid in 50 ml trockenem Diethylether versetzt und 3 h gerührt. Nach Hydrolyse mit 2proz. Ammoniumchlorid-Lösung wird das rohe 2 mit Diethylether extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und i.Vak. zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird mit Diethylether aufgenommen, mit 2 g PbO₂ 2 h bei Raumtemp. gerührt, abfiltriert und i.Vak. zur Trockne gebracht. Zur Reinigung wird an Kieselgel mit Dichlormethan/Petroleumäther 40-60° (70/30) flash-chromatographiert (R_f = 0.35). Rote Kristalle (Methanol/Wasser), Schmp. 157°. Ausb. 80%. - C₂₇H₂₀NO (374.5) Ber. C 86.6 H 5.38 N 3.8 Gef. C 86.3 H 5.19 N 4.0. - IR (KBr): 3055; 3020; 1594; 1490; 1443; 1382 cm⁻¹. - ESR (CH₂Cl₂): g = 2.00570(1), a_N = 10.11; a_{H6,8} = 3.20; a_{H3} = 1.25; a_{H5,7} = 1.02 [G]. - MS (140°): m/z 374 (0.7 M⁺), 297 (0.7), 196 (25), 105 (100), 77 (50).

8-Nitro-2,2,4-triphenyl-1,2-dihydrochinolin (4)

6-Nitro-2,2,4-triphenyl-1,2-dihydrochinolin (5)

0.5 g 3 (1.3 mmol) in 50 ml Diethylether werden unter Argon mit einem kontinuierlichen NO-Strom von ca. 20 ml/min bis zum Farbumschlag nach

orange begast. Nach Vertreiben von NO mit Argon wird i.Vak. zur Trockne eingedampft. Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan/Petroleumäther 40-60° (50/50) liefert:

4 (R_f = 0.4) als rote Kristalle (Methanol/Wasser), Schmp. 196°. Ausb. 29%. - C₂₇H₂₀N₂O₂ (404.5) Ber. C 80.2 H 4.98 N 6.9 Gef. C 80.4 H 4.74 N 6.9. - IR (KBr): 3334; 3054; 3020; 1603; 1518; 1314 cm⁻¹. - ¹H-NMR/80 MHz (CDCl₃): δ (ppm) = 9.08 (s, 1H, NH, austauschbar mit CF₃COOD), 8.04 (dd, 1H, 7-H, ³J = 8.6 Hz, ⁴J = 1.5 Hz), 7.38-7.29 (m, 15 arom., 3x C₆H₅), 7.12 ("dd", 1H, 5-H, ³J = 7.5 Hz, ⁴J: nicht aufgelöst), 6.49 (dd, 1H, 6-H, ³J = 7.5 Hz, ³J = 8.6 Hz), 6.07 (d, 1H, 3-H, ⁴J = 2.1 Hz, nach CF₃COOD-Austausch s). - MS (150°): m/z 404 (0.1 M⁺), 327 (22), 202 (6), 77 (100).

5 (R_f = 0.19) als gelbe Kristalle (Methanol/Wasser), Schmp. 229°. Ausb. 24%. - C₂₇H₂₀N₂O₂ (404.5) Ber. C 80.2 H 4.98 N 6.9 Gef. C 80.3 H 5.07 N 6.9. - IR (KBr): 3347; 3057; 3026; 1605; 1490; 1305 cm⁻¹. - ¹H-NMR/200 MHz (CDCl₃): δ (ppm) = 7.98 (dd, 1H, 7-H, ³J = 9.0 Hz, ⁴J = 2.6 Hz), 7.88 (d, 1H, 5-H, ⁴J = 2.6 Hz), 7.49-7.26 (m, 15 H arom., 3x C₆H₅), 6.57 (d, 1H, 8-H, ³J = 9.0 Hz), 5.98 (d, 1H, 3-H, ⁴J = 1.9 Hz, nach CF₃COOD-Austausch s), 5.16 (d, 1H, NH, ⁴J = 1.9 Hz, entfällt nach Zusatz von CF₃COOD). - MS (200°): m/z 404 (0.1 M⁺), 327 (6), 202 (6), 77 (100).

Literatur

- 1 D.E. Koshland Jr., *Science* **1992**, 258, 1861.
- 2 S. Moncada, *Acta Physiol. Scand.* **1992**, 145, 201-227.
- 3 M. Feelish, E. Noack, *Eur. J. Pharmacol.* **1987**, 142, 465-469; *ibidem* **1987**, 139, 19-30.
- 4 H.G. Korth, K.U. Ingold, R. Sustmann, H. de Groot, H. Sies, *Angew. Chem.* **1992**, 104, 915-917.
- 5 C. Berti, M. Colonna, L. Greci, *Tetrahedron* **1976**, 32, 2147-2151.
- 6 H. Wieland, K. Roth, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1920**, 53, 210-230.
- 7 E.F. Ullmann, L. Call, J.H. Osiecki, *J. Org. Chem.* **1970**, 35, 3623-3631.
- 8 T. Akaike, M. Yoshida, Y. Miyamoto, K. Sato, M. Kohno, K. Sasamoto, K. Miyasaka, S. Ueda, H. Maeda, *Biochemistry* **1993**, 32, 827-832.
- 9 M. Feelish, *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **1991**, 17 (Suppl. 31), S25-S33.
- 10 W. Borsche, F. Sinn, *Liebigs Ann. Chem.* **1939**, 538, 283-292.

[KPh602]