

## **Synthesen von Nitrophenanthrencarbonsäuren mit konstitutioneller Beziehung zu den natürlichen Aristolochiasäuren\***

Von

**M. Pailer, W. Streicher**

Aus dem Organisch-chemischen Institut der Universität Wien  
und

**G. Wiedermann, M. Rotter**

Hygiene-Institut der Universität Wien

(Eingegangen am 24. April 1971)

### *Syntheses of Nitrophenanthrene Carboxylic Acids Structurally Related to the Natural Aristolochia Acids*

The synthesis of various methoxy- and methylenedioxy-substituted nitrophenanthrene carboxylic acids is described. Some of the substances cause an increase in the phagocytic activity of leucocytes as has been established for natural aristolochia acid-I.

Es wird die Synthese verschiedener methoxy- und methylenedioxysubstituierter Nitrophenanthrencarbonsäuren beschrieben. Einige Substanzen, die getestet wurden, zeigen die bei der natürlichen Aristolochiasäure-I festgestellte Steigerung der Phagozytoseaktivität von Leukozyten.

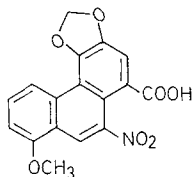
Verschiedene Aristolochia-Arten wurden seit alters her als Arzneipflanzen verwendet. Vor allem findet man Hinweise auf eine ausgezeichnete Wirkung bei der Heilung von Wunden. Eine antibiotische oder antibakterielle Wirkung des Drogenextraktes konnte jedoch nicht bzw. nur in sehr geringem Ausmaß nachgewiesen werden<sup>1, 2</sup>.

Erst die Untersuchungen von Möse und Lucas (1961)<sup>3</sup> und Möse (1963)<sup>4</sup> wiesen nach, daß der Extrakt aus Aristolochia clematidis eine deutliche Steigerung der Phagozytose-Aktivität von Leukozyten bewirkt. Spätere Untersuchungen wurden nicht mehr mit dem Extrakt der Droge durchgeführt, sondern mit Aristolochiasäure-I, die die Hauptmenge der in verschiedenen Aristolochia-Arten vorkommenden Aristolochiasäuren darstellt. Die Kon-

---

\* Herrn Prof. Dr. E. Ziegler mit den besten Wünschen zum 60. Geburtstag gewidmet.

stitution dieser Säure wurde von *Pailer* und Mitarb.<sup>5, 6</sup> bestimmt. Es handelt sich um die 8-Methoxy-6-nitro-phenanthro-[3,4-*d*]-1,3-dioxol-5-carbonsäure.



Die Aristolochiasäure (*AS*) zeigt nach den Befunden verschiedener Autoren unter anderem folgende Wirkungen:

Steigerung der Phagozytose-Aktivität von Warm- und Kaltblüterleukozyten *in vitro* und *in vivo*<sup>7, 8</sup>, insbesondere von menschlichen Leukozyten<sup>9, 10, 11</sup>.

Signifikante Erhöhung der Clearancefunktion des reticuloendothelialen Systems (*RES*), und zwar wird sowohl die Eliminierung von Kohlepartikeln als auch von Bakterien in Gegenwart von Antigen signifikant gefördert. Die Clearance-Raten sind bei Tieren, die mit *AS* vorbehandelt wurden, etwa doppelt so hoch wie bei unbehandelten Tieren<sup>10, 12</sup>.

Die Überlebenszeit von Tieren mit Pneumokokkeninfektionen erfährt bei Behandlung mit *AS* eine deutliche Verlängerung<sup>7, 13, 14</sup>. Nach einer Infektion mit *Mycobacterium tuberculosis* überleben weit mehr Meerschweinchen, die vor der Infektion mit *AS* behandelt wurden, als unbehandelte Tiere<sup>15</sup>. Bei Infekten, die nicht oder nur geringgradig auf eine leukozytäre Abwehr reagieren (Virusinfekte, Toxoplasmeninfektion), ist keine signifikante Wirkung bei Behandlung mit *AS* feststellbar<sup>3, 4, 7</sup>.

Die *AS* war in der Lage, die bekannte Schädigung der Phagozytoseaktivität durch Chloramphenicol auszugleichen<sup>8</sup>. Ebenso konnte gezeigt werden, daß die durch Prednison bewirkte Verminderung der Plasmazellenzahl durch *AS* aufgehoben wird<sup>16</sup>. Im Tierversuch (Setzen einer Wunde, Infektion mit *Staphylococcus aureus*) beobachtet man bei Behandlung mit *AS* eine wesentlich raschere Abheilung des Infekts und parallel dazu eine deutliche Steigerung der Phagozytoseaktivität der Leukozyten<sup>7</sup>.

Es liegen auch klinische Erfahrungen mit der *AS* vor, insbesondere bei therapieresistenten, langandauernden Eiterungen<sup>17</sup>, bei der Heilung von Wunden und Fisteln<sup>18</sup>, bei chronisch entzündlichen Gewebeprozessen<sup>19</sup>, bei der Behandlung von rezidivierender Angina im Kindesalter<sup>20</sup> und über die Anwendung der *AS* in der allgemeinen Chirurgie<sup>21</sup>.

Sämtliche Befunde weisen übereinstimmend darauf hin, daß es sich bei der *AS* nicht um eine antibiotisch wirksame Substanz handelt. Viel-

mehr muß es sich um eine Stimulierung der natürlichen Abwehrmechanismen des Körpers handeln. Neben der Steigerung der Phagozytose durch Leukozyten wird auch das *RES* aktiviert, das eine bedeutende Rolle bei der Eliminierung von Keimen und Partikeln aus dem Körper spielt. Über den Mechanismus der Wirkung der *AS* ist nur sehr wenig bekannt. Es ist wahrscheinlich, daß der Angriffspunkt dieser Substanz in den Leukozyten oder den Zellen des *RES* selbst gelegen ist<sup>12</sup>. Untersuchungen der zellulären Stoffwechselvorgänge brachten jedoch keine wesentliche Klärung dieser Frage<sup>11</sup>.

Wir wollten feststellen, ob auch synthetische Verbindungen, die in einer gewissen konstitutionellen Beziehung zu den *AS* stehen, möglicherweise eine solche phagozytosesteigernde Wirkung besitzen können. Lucas hat bereits 1964 einige von der *AS* abgeleitete Verbindungen auf ihre phagozytosesteigernde Wirkung untersucht<sup>22</sup>. Von den untersuchten Verbindungen (*ASI*, *ASI*-Methylester, Lactam des entsprechenden Amins, decarboxylierte *ASI*, 9-Nitrophenanthren und Phenanthren) steigerten nur die *ASI* und in geringerem Maß ihr Methylester die Phagozytose der Leukozyten.

Allen natürlich vorkommenden Aristolochiasäuren gemeinsam sind folgende Strukturelemente: eine Carboxylgruppe in Stellung 1, eine Methylendioxygruppe in Stellung 3,4 und eine Nitrogruppe in Stellung 10 des Phenanthrenringes. Zusätzlich können noch weitere Hydroxyl- bzw. Methoxylgruppen in den Stellungen 8 und/oder 6 auftreten<sup>23, 24, 25</sup>. Bei einem Plan zu einer Synthese von Verbindungen, die zu den natürlichen *AS* in konstitutioneller Beziehung stehen und die möglicherweise ähnliche pharmakologische Eigenschaften aufweisen könnten, sollten die wichtigsten Strukturelemente erhalten bleiben. Da eine Carboxylgruppe in Stellung 1 des Phenanthrenringes nur mit Schwierigkeiten einzuführen ist, bei der *Pschorr*-synthese aber die Phenanthren-9-carbonsäuren direkt anfallen, haben wir uns auf deren Synthese beschränkt. Wir haben daher Phenanthrencarbonsäuren bzw. deren Ester, die eine Methylendioxygruppe und eventuell zusätzliche Methoxylgruppe enthalten, hergestellt. Die Säuren bzw. deren Methylester wurden anschließend nitriert. Die Konstitution der Nitroprodukte konnten wir vorwiegend mit spektroskopischen Methoden bestimmen.

Im einzelnen haben wir folgende Phenanthrencarbonsäuren bzw. deren Methylester hergestellt.

Phenanthro[2,3—*d*][1,3]dioxol-5-carbonsäure (**1 a**)<sup>26</sup>

2-Methoxy-phenanthro[2,3—*d*][1,3]dioxol-5-carbonsäure (**1 c**)

Phenanthro[2,3—*d*][1,3]dioxol-6-carbonsäure (**6 a**)<sup>27</sup>

Phenanthro[3,4—*d*]-1,3-dioxol-6-carbonsäure (**7 a**)<sup>27</sup>

10-Methoxy-phenanthro[3,4—*d*]-1,3-dioxol-6-carbonsäure (**8 a**)<sup>24</sup>

Phenanthro[3,4—*d*]-1,3-dioxol-7-carbonsäure (**9 a**)<sup>28, 29</sup>

3,4-Dimethoxy-phenanthren-9-carbonsäure<sup>30</sup>.

Die Synthese dieser Verbindungen (mit Ausnahme von **1 c**) ist in der Literatur beschrieben. Wir haben für die Herstellung aller Säuren (mit Ausnahme von **9 a**) bei den verschiedenen Schritten der *Pschorrsynthese* dieselben Reaktionsbedingungen gewählt. Sie sind im exper. Teil für Verbindung **1 c** im einzelnen beschrieben. Bei **9 a** wurde nach der von *Schleppnik*<sup>28, 29</sup> beschriebenen Methode der „Tieftemperaturkondensation“ gearbeitet. Dabei wird in der ersten Stufe die Umsetzung der 2-Nitrophenylessigsäure mit dem entsprechenden Aldehyd in Essigsäureanhydrid bei 50° C durchgeführt. Nach der Reduktion der so erhaltenen Nitroarylzimtsäure wird nicht, wie üblich, die freie Aminosäure isoliert, sondern deren Ammoniumsalz. Die Ausbeute an diesem Salz läßt sich beträchtlich erhöhen, wenn man beim Einengen des nach der Reduktion mit FeSO<sub>4</sub> in Ammoniak erhaltenen Filtrates laufend geringe Mengen konz. Ammoniak zugibt, damit immer ein Überschuß an NH<sub>3</sub> vorhanden ist<sup>31</sup>. Im speziellen Fall konnte die Ausbeute an Ammonsalz von 40 auf 90% d. Th. gesteigert werden.

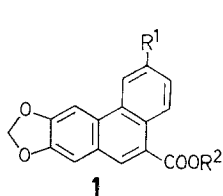
Die Nitrierung der Säuren bzw. ihrer Ester erfolgte auf möglichst schonende Weise, um die Entstehung von Di- oder Polynitroprodukten zu vermeiden. Am besten bewährte sich die Nitrierung in Eisessig oder Acetanhydrid bei tiefen Temperaturen mit HNO<sub>3</sub> ( $d = 1,40$ ). In den meisten Fällen erhielten wir einheitliche Produkte, nur bei der Nitrierung von **1 b** entstanden 3 isomere Mononitroprodukte.

Wir möchten die Ergebnisse dieser Nitrierungen im folgenden Formelschema vorwegnehmen (s. S. 663 u. 664).

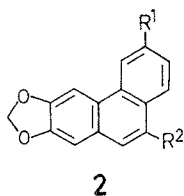
Es zeigt sich, daß die Methylendioxygruppe eine ausgesprochen starke p-dirigierende Wirkung hat. Diese Eigenschaft ist bekannt. So erhält man z. B. bei der Nitrierung von Piperonal ausschließlich das 6-Nitropiperonal und keine Spur von 2- oder 5-Nitroprodukt. Vielmehr erhält man als Nebenprodukt durch Decarbonylierung auch das andere mögliche p-Substitutionsprodukt, das 3,4-Methylendioxy-1-nitrobenzol<sup>32</sup>.

Wenn eine p-Position zur Methylendioxygruppe frei ist, wie dies bei den Phenanthro[3,4-*d*]-1,3-dioxolen **7 a**, **7 b**, **8 a**, **8 b**, **9 a** und **9 b** der Fall ist, tritt die Nitrogruppe ausschließlich in diese Position, also in Stellung 5 ein.

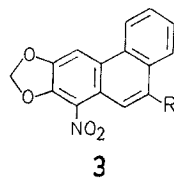
Ist keine p-Stellung frei, z. B. bei den Phenanthro[2,3-*d*][1,3]-dioxolen, so überträgt sich der dirigierende Effekt vinylog auf entferntere Positionen. So entsteht aus **6 a** die entsprechende 5-Nitrosäure. In **1 a** und **1 c** sind die Verhältnisse komplizierter. Hier ist die vinyloge p-Position, also Stellung 5, durch eine Carboxylgruppe besetzt. Tatsächlich erhält man in beiden Fällen ein Dinitroprodukt, das keine Carbonsäure mehr ist. Es muß also eine Nitrogruppe unter Decarboxylierung in die 5-Stellung eingetreten sein.

Phenanthro[2,3-*d*][1,3]dioxole

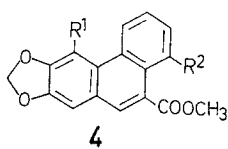
- 1a:**  $R^1 = H, R^2 = H$   
**1b:**  $R^1 = H, R^2 = CH_3$   
**1c:**  $R^1 = CH_3O, R^2 = H$   
**1d:**  $R^1 = CH_3O, R^2 = CH_3$



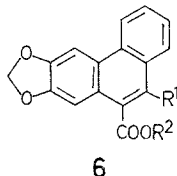
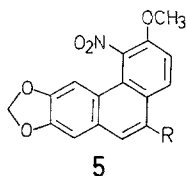
- 2a:**  $R^1 = R^2 = H$   
**2b:**  $R^1 = H, R^2 = NO_2$   
**2c:**  $R^1 = CH_3O, R^2 = H$



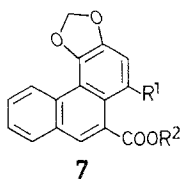
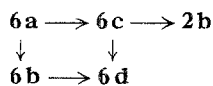
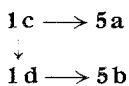
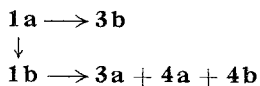
- 3a:**  $R = COOCH_3$   
**3b:**  $R = NO_2$



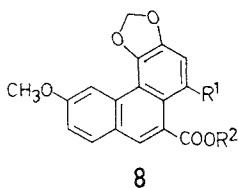
- 4a:**  $R^1 = H, R^2 = NO_2$    **5a:**  $R = NO_2$   
**4b:**  $R^1 = NO_2, R^2 = H$    **5b:**  $R = COOCH_3$



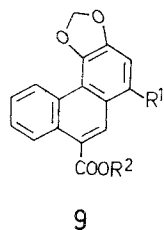
- 6a:**  $R^1 = R^2 = H$   
**6b:**  $R^1 = H, R^2 = CH_3$   
**6c:**  $R^1 = NO_2, R^2 = H$   
**6d:**  $R^1 = NO_2, R^2 = CH_3$



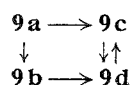
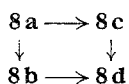
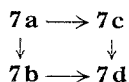
- 7a:**  $R^1 = R^2 = H$   
**7b:**  $R^1 = H, R^2 = CH_3$   
**7c:**  $R^1 = NO_2, R^2 = H$   
**7d:**  $R^1 = NO_2, R^2 = CH_3$



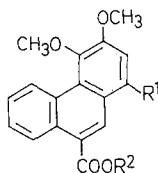
- 8a:**  $R^1 = R^2 = H$   
**8b:**  $R^1 = H, R^2 = CH_3$   
**8c:**  $R^1 = NO_2, R^2 = H$   
**8d:**  $R^1 = NO_2, R^2 = CH_3$



- 9a:**  $R^1 = R^2 = H$   
**9b:**  $R^1 = H, R^2 = CH_3$   
**9c:**  $R^1 = NO_2, R^2 = H$   
**9d:**  $R^1 = NO_2, R^2 = CH_3$   
**9e:**  $R^1 = Br, R^2 = CH_3$



## Phenanthren-9-carbonsäure



10

**10 a:**  $R^1 = R^2 = H$ **10 b:**  $R^1 = H, R^2 = CH_3$ **10 c:**  $R^1 = NO_2, R^2 = H$ **10 d:**  $R^1 = NO_2, R^2 = CH_3$ **10 a**  $\longrightarrow$  **10 c**

$$\begin{array}{ccc} \downarrow & & \downarrow \\ \mathbf{10\ b} & & \mathbf{10\ d} \end{array}$$

Nitriert man jedoch die Ester **1 b** und **1 d**, so ist eine Decarboxylierung nicht möglich und man erhält bei **1 b** ein Gemisch von drei isomeren Nitroestern und bei **1 d** interessanterweise den 1-Nitroester.

Daß bei der Nitrierung von **1 a** und **1 c** eine Decarboxylierung eingetreten war, konnte im IR-Spektrum leicht festgestellt werden. Die Phenanthrencarbonsäuren zeigen in KBr übereinstimmend die charakteristische Bandengruppe zwischen  $3000$  und  $2500\text{ cm}^{-1}$  sowie die Carbonylbande bei etwa  $1680\text{ cm}^{-1}$ . Diese Banden bleiben bei der Nitrierung von **6 a**, **7 a**, **8 a**, **9 a** und **10 a** erhalten und man findet zusätzlich zwei intensive Banden bei etwa  $1510\text{--}1530\text{ cm}^{-1}$  und bei  $1330\text{--}1350\text{ cm}^{-1}$ . In den Nitrierungsprodukten von **1 a** und **1 c**, **3 b** und **5 a** fehlen die typischen Säurebanden, während die Banden der Nitrogruppe zusätzlich auftreten. Die Carbonylschwingung sowohl der nicht nitrierten als auch der nitrierten Ester liegt erwartungsgemäß bei etwa  $1720\text{ cm}^{-1}$ .

Die Massenspektren der Nitroprodukte zeigten, daß außer bei der Nitrierung von **1 a** und **1 c**, bei denen, wie gesagt, unter Decarboxylierung Dinitroprodukte entstanden waren, durchwegs Mononitroprodukte erhalten wurden. Die Spektren von **4 a** und **6 c** erlaubten außerdem gewisse Rückschlüsse auf die Position der Nitrogruppe. **4 a** zeigt zum Unterschied von **3 a** und **4 b** einen starken ( $M-46$ )-peak. Diesen Peak findet man auch bei den Methylestern der natürlichen *AS*, bei denen die  $COOCH_3$ -Gruppe und die Nitrogruppe in peri-Stellung zueinander stehen. Er kommt durch Abspaltung von  $NO_2$  zustande<sup>33</sup>. In **4 a** scheint also dieselbe relative Konfiguration von Nitro- und  $COOCH_3$ -Gruppe vorzuliegen.

Das *MS* der Nitrosäure **6 c** ist das einzige, bei dem ein starker ( $M-44$ )-peak auftritt, was der Abspaltung von einem Molekül  $CO_2$  entspricht. Diese  $CO_2$ -Abspaltung wird auch bei o-Nitrocarbonsäuren beobachtet<sup>34</sup> und legt somit nahe, daß die Nitrogruppe hier in die Stellung 5 des Ringsystems eingetreten ist.

Die NMR-Spektren der Nitroverbindungen erlaubten im Vergleich mit den nicht nitrierten Vorstufen und der einzelnen Verbindungen untereinander mit mehr oder weniger großer Sicherheit die Festlegung

der Position der Nitrogruppe. Zur Bestimmung des Einflusses der verschiedenen Substituenten wurden auch die NMR-Spektren einiger durch Decarboxylieren der entsprechenden Säuren erhaltenen Phenanthrene aufgenommen. Um den Vergleich der einzelnen Verbindungen zu erleichtern, werden im folgenden die Verbindungen nicht als Phenanthro-1,3-dioxole, sondern als Methylendioxyphenanthrene bezeichnet.

Unter Vernachlässigung des Einflusses der Methylendioxygruppe bzw. der Methoxygruppen auf entferntere Positionen kann man folgende ungefähre  $\delta$ -Werte für die Protonen an den verschiedenen Positionen des Phenanthrenringes ableiten: H-1 bzw. H-8 7,7 ppm, H-2 und H-3 bzw. H-6 und H-7 7,5 ppm, H-4 bzw. H-5 8,4 ppm. Eine Carbomethoxygruppe in Stellung 9 verschiebt H-8 um etwa 1,2 ppm und H-10 um etwa 0,7 ppm nach tieferem Feld. Eine 2,3- bzw. 6,7-Methylendioxygruppe verschiebt H-1 bzw. H-8 um etwa 0,6 ppm und H-4 bzw. H-5 um 0,5 ppm nach höherem, eine 3,4- bzw. 5,6-Methylendioxygruppe H-1 und H-2 bzw. H-7 und H-8 um je etwa 0,2 ppm nach höherem und H-5 (H-4) um 0,6 ppm nach tieferem Feld. Noch viel stärker ist die Beeinflussung der Stellung 5 durch eine Methoxygruppe in 4. Hier wird H-4 um 1,3 ppm nach tieferem Feld verschoben. Diese und weitere Substituenteneinflüsse sind in Tab. 1 zusammengefaßt. Sie stimmen innerhalb einer Grenze von etwa 0,2 ppm bei allen untersuchten Verbindungen überein und sind addierbar.

Tabelle 1

| Stellung des Protons*        | 1    | 2                      | 3                      | 4                | 5    | 6   | 7   | 8    | 9                  | 10   |
|------------------------------|------|------------------------|------------------------|------------------|------|-----|-----|------|--------------------|------|
| $\delta$ (ppm) ohne Substit. | 7,7  | 7,5                    | 7,5                    | 8,4              | 8,4  | 7,5 | 7,5 | 7,7  | 7,5                | 7,5  |
|                              | —0,6 | —O—CH <sub>2</sub> —O— |                        | —0,5             |      |     |     | +1,2 | COOCH <sub>3</sub> | +0,7 |
|                              | —0,2 | —0,2                   | —O—CH <sub>2</sub> —O— |                  | +0,6 |     |     |      |                    |      |
| Substituenten-einfluß**      | —0,5 | OCH <sub>3</sub>       |                        |                  |      |     |     |      |                    |      |
|                              |      | —0,3                   | OCH <sub>3</sub>       | —0,5             |      |     |     |      |                    |      |
|                              |      |                        |                        | OCH <sub>3</sub> | +1,3 |     |     |      |                    |      |
|                              | Br   | +0,2                   |                        |                  |      |     |     |      |                    | +0,5 |

\* Bezifferung als Methylendioxy-phenanthren.

\*\* Verschiebung zu tieferem Feld erhielt das Vorzeichen +.

Die Zuordnung der NMR-Signale der Nitroverbindungen war schwieriger und konnte in einigen Fällen nur durch Ausschluß der am wenigsten wahrscheinlichen Interpretationen erfolgen.

#### a) Phenanthro[2,3-d][1,3]-dioxole

Von den drei isomeren Nitro-Estern **3 a**, **4 a** und **4 b** enthielten **3 a** und **4 b** noch die charakteristischen Multipletts der 4 Protonen in Pos. 1, 2, 3 und 4, während an deren Stelle in **4 a** ein typisches *AMX*-System mit  $J_{AM} = J_{MX} = 9$  Hz und  $J_{AX} = 2$  Hz auftritt. In **3 a** und

**4 b** muß die Nitrogruppe also die 6-, 7- oder 11-Stellung, in **4 a** jedoch die 1- oder 4-Stellung des Phenanthro[2,3-*d*][1,3]-dioxolringsystems substituiert haben. Die Entscheidung ist durch Vergleich der  $\delta$ -Werte ziemlich eindeutig zu treffen.

Bei der (decarboxylierten) Dinitroverbindung **3 b** ist die Position der einen Nitrogruppe mit 5 gegeben, die zweite Nitrogruppe muß wieder wegen der unveränderten Signale von H-1, H-2, H-3 und H-4, in 7 oder 11 sein, wobei Pos. 7 die wahrscheinlichste zu sein scheint.

Auf Grund der charakteristischen Änderung der Multiplizität sind die Strukturen von **5 a** und **5 b** eindeutig festlegbar. In **5 b** verschwindet gegenüber **1 d** ein dublettisches ( $J = 2$  Hz) Protonensignal, und der mit 2 Hz dublettisch aufgespaltene *A*-Teil eines *AB*-Systems ( $J = 9$  Hz) vereinfacht sich zu einem normalen Dublett mit  $J = 9$  Hz. Dieselbe Änderung tritt auch beim Vergleich der Spektren von **1 d** und **5 a** auf. Die Nitrogruppe muß also bei **5 b** in die Stellung 1, bei **5 a** in die Stellung 1 und 5 eingetreten sein.

Am wenigsten einfach waren die Verhältnisse bei der Nitrierung von **6 a**. Von den im Spektrum von **6 b** sichtbaren Singletts bei  $\delta = 8,3, 8,3$  und  $7,9$  ppm verschwindet eines und man findet bei **6 d** nur mehr 2 Singletts bei  $7,43$  und  $7,96$  ppm. Die charakteristischen Multipletts für H-1, H-2, H-3 und H-4 bleiben erhalten. Die Nitrogruppe kann also nur in Stellung 5, 7 oder 11 des Phenanthren[2,3-*d*][1,3]dioxols gegangen sein. Bei keiner dieser 3 Positionen gibt es aber eine plausible Erklärung für die überraschende Verschiebung der restlichen Singletts nach höherem Feld. Trotzdem fällt die Entscheidung eindeutig auf die 5-Stellung. Decarboxyliert man nämlich **6 c**, so findet man im Spektrum des so erhaltenen Nitrophenanthren[2,3-*d*][1,3]-dioxols **2 b** wieder 3 Singletts bei  $7,60, 8,28$  und  $8,58$  ppm. Wäre die Nitrogruppe in Stellung 7 oder 11, so sollten nach der Decarboxylierung die 2 Protonen in 5 und 6 entweder ein *AB*-System oder aber ein Singlett mit der Intensität 2 ergeben (siehe **2 a, 2 c**), was aber nicht zutrifft.

#### b) Phenanthro[3,4-*d*]-1,3-dioxole

Bei der Nitrierung von **7 b** zu **7 d** verschwindet der *A*-Teil eines *AB*-Systems, während aus dem *B*-Teil ein Singlett wird. Die Nitrogruppe muß also in die Stellung 4 oder 5 des Phenanthro[3,4-*d*]-1,3-dioxol-Systems eingetreten sein. Die Entscheidung zwischen Stellung 4 und 5 fällt auf 5, da man ansonsten eine Verschiebung des ortho-H um  $0,6$  ppm nach höherem Feld annehmen müßte. Außerdem konnte schon *Schleppnik*<sup>28</sup> zeigen, daß bei katalytischer Reduktion dieser Verbindung ein cyclisches Lactam, ähnlich wie bei den natürlichen *AS* entsteht. Das gleiche Bild zeigen auch die NMR-Spektren von **8 b** und **8 d**.



Einen zusätzlichen Hinweis, daß bei **7 d** und **8 d** die 5-Nitroverbindung vorliegt, erhält man aus der Tatsache, daß beide Ester sich nicht unzersetzt zur Nitrosäure verseifen lassen. Dieselbe schwere Verseifbarkeit beobachtet man auch bei den Estern der natürlichen Aristolochiasäuren, bei denen die Methoxycarbonyl- und die Nitrogruppe vertauscht in Stellung 5 und 6 sitzen. Auch beim Übergang von **9 b** zu **9 d** verschwindet wieder ein Teil eines *AB*-Systems ( $J = 9$  Hz), während an Stelle des zweiten Teiles ein neues Singlett auftritt. Die Nitrogruppe muß also auch hier in Stellung 4 oder 5 eingetreten sein. Da zusätzlich das Singlett von H-6 um etwa 0,25 ppm nach tieferem Feld verschoben wird, fällt die Entscheidung auch hier auf Pos. 5.

### c) Phenanthren

Im NMR-Spektrum des Nitroproduktes **10 d** tritt ebenfalls ein neues Singlett bei  $\delta = 7,95$  ppm auf, während in **10 b** statt dessen ein *AB*-System mit  $J = 9$  Hz vorhanden ist. Die Nitrogruppe muß also die Pos. 1 oder 2 des Phenanthrenringes substituiert haben. Nachdem in **10 d** gegenüber **10 b** H-10 um etwa 0,5 ppm nach tieferem Feld verschoben wird, muß die 1-Nitroverbindung vorliegen. Die genauen NMR-Daten sind in den Tab. 2, 3 und 4 angeführt.

Von den hergestellten Nitrosäuren wurden zunächst 3 auf ihre Fähigkeit untersucht, die Phagozytose menschlicher Leukozyten zu steigern, und zwar die Nitrosäuren **6 c**, **7 c** und **9 c**. Sie wurden in ihre Natriumsalze übergeführt und in einem isobaren NaCl-Phosphatpuffer (pH = 7,0) als Stammlösung in einer Konzentration von 100 µg/ml bei 4 °C aufbewahrt.

Die Stammlösungen wurden unmittelbar vor Gebrauch in Parkermedium mit einem Zusatz von 10% Kalbserum auf die Gebrauchsverdünnung eingestellt.

In einer ersten Versuchsreihe wurden in mehreren Ansätzen der Einfluß der genannten Substanz auf die Phagozytosefähigkeit verschiedener Spenderleukozyten geprüft. Bei **9 c** wurden verschiedene Gebrauchsverdünnungen, und zwar 100 µg/ml, 20 µg/ml und 2 µg/ml, bei **7 c** und **6 c** nur die Konzentration 20 µg/ml eingestellt. In einer zweiten Versuchsreihe wurde die Wirksamkeit der drei Substanzen miteinander verglichen.

Als Testkeim verwendeten wir *E. coli* 0 111 : B 4. Die Keime wurden auf Nähragar bei 37 °C durch 24 Std. aerob gezüchtet, in isotoner NaCl-Lösung aufgeschwemmt und im Zeiss-Photometer auf eine Extinktion  $E = 0,5$  bei 390 mµ und 1 cm Schichtdicke eingestellt.

Als Testserum diente ein humanes Anticoliserum mit einem Titer von 1 : 5. Um eine relativ geringe Phagozytose zu erreichen, setzten wir dieses Serum der Colisuspension im Verhältnis 1 : 10 zu.

Tabelle 2. NMR-Spektren der Phenanthro[2,3-*d*][1,3]dioxole ( $\delta$ -Werte in ppm)

| Formel     | MHz | Legm.                       | H-1               | H-2                                | H-3               | H-4               | H-5                | H-6                | H-7                | H-11               | COOCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub>  | OCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub> O |
|------------|-----|-----------------------------|-------------------|------------------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|------------------|--------------------|
| <b>1 b</b> | 100 | CDCl <sub>3</sub>           | 8,35m             | 7,56m                              | 8,91m             | 8,91m             | COOCH <sub>3</sub> | 8,25s              | 7,10s              | 7,85s              | 3,97               | —                 | —                | 6,03               |
| <b>1 d</b> | 100 | CDCl <sub>3</sub>           | 7,60 <sup>1</sup> | OCH <sub>3</sub> 7,15 <sup>2</sup> | 8,80 <sup>3</sup> | 8,80 <sup>3</sup> | COOCH <sub>3</sub> | 8,06s              | 7,03s              | 7,66s              | 3,90 <sup>+</sup>  | 3,95 <sup>+</sup> | —                | 6,00               |
| <b>2 a</b> | 60  | CDCl <sub>3</sub>           | 8,35m             | 7,5m                               | 7,75m             | 7,75m             | 7,5s               | 7,5s               | 7,12s              | 7,93s              | —                  | —                 | —                | 5,98               |
| <b>2 b</b> | 100 | DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> | 8,76m             | 7,72m                              | 8,35m             | 8,35m             | NO <sub>2</sub>    | 8,58s <sup>+</sup> | 7,60s <sup>+</sup> | 8,28s <sup>+</sup> | —                  | —                 | —                | 6,26               |
| <b>2 c</b> | 60  | CDCl <sub>3</sub>           | 7,7 <sup>1</sup>  | OCH <sub>3</sub> 7,1 <sup>2</sup>  | 7,68 <sup>3</sup> | 7,68 <sup>3</sup> | 7,38 <sup>4+</sup> | 7,46 <sup>4+</sup> | 7,10s              | 7,80s              | —                  | 3,9               | —                | 5,98               |
| <b>3 a</b> | 100 | CDCl <sub>3</sub>           | 8,42m             | 7,66m                              | 8,90m             | 8,90m             | COOCH <sub>3</sub> | 8,77s              | NO <sub>2</sub>    | 8,12s              | 4,00               | —                 | —                | 6,25               |
| <b>3 b</b> | 100 | DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> | 8,32m             | 7,84m                              | 8,88m             | 8,88m             | NO <sub>2</sub>    | 8,88s              | NO <sub>2</sub>    | 8,68s              | —                  | —                 | —                | 6,52               |
| <b>4 a</b> | 100 | CDCl <sub>3</sub>           | 8,56 <sup>2</sup> | 7,57 <sup>5</sup>                  | 8,03 <sup>2</sup> | NO <sub>2</sub>   | COOCH <sub>3</sub> | 8,20s              | 7,18s              | 7,81s              | 3,88               | —                 | —                | 6,12               |
| <b>4 b</b> | 100 | CDCl <sub>3</sub>           | 7,95m             | 7,57m                              | 8,86m             | 8,86m             | COOCH <sub>3</sub> | 8,18s              | 7,2s               | NO <sub>2</sub>    | 4,00               | —                 | —                | 6,22               |
| <b>5 a</b> | 100 | DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> | NO <sub>2</sub>   | OCH <sub>3</sub> 7,80 <sup>3</sup> | 8,45 <sup>3</sup> | 8,45 <sup>3</sup> | NO <sub>2</sub>    | 8,50s              | 7,18s              | 7,64s              | —                  | 4,04              | —                | 6,27               |
| <b>5 b</b> | 100 | CDCl <sub>3</sub>           | NO <sub>2</sub>   | OCH <sub>3</sub> 7,35 <sup>3</sup> | 9,09 <sup>3</sup> | 9,09 <sup>3</sup> | COOCH <sub>3</sub> | 8,26s              | 7,24s              | 7,56s              | 3,98 <sup>+</sup>  | 4,00 <sup>+</sup> | —                | 6,09               |
| <b>6 b</b> | 100 | CDCl <sub>3</sub>           | 8,3m              | 7,5m                               | 7,8m              | 7,8m              | 8,3s               | COOCH <sub>3</sub> | 8,32s              | 7,90s              | 3,95               | —                 | —                | 6,00               |
| <b>6 d</b> | 100 | CDCl <sub>3</sub>           | 8,45m             | 7,65m                              | 7,94m             | 7,94m             | NO <sub>2</sub>    | COOCH <sub>3</sub> | 7,43s <sup>+</sup> | 7,96s <sup>+</sup> | 3,97               | —                 | —                | 6,12               |

Tabelle 3. NMR-Spektren der Phenanthro[3,4-*d*]-1,3-dioxole ( $\delta$ -Werte in ppm)

| Formel     | MHz | Lsgm.             | H-4               | H-5               | H-6                | H-7                | H-8               | H-9               | H-10             | H-11              | COOCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub>  | OCH <sub>2</sub> O |
|------------|-----|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| <b>7 b</b> | 60  | CDCl <sub>3</sub> | 7,20 <sup>8</sup> | 8,43 <sup>8</sup> | COOCH <sub>3</sub> | 8,18 s             | 7,16m             | 7,16m             | 7,16m            | 9,0m              | 3,98               | —                 | 6,17               |
| <b>7 d</b> | 60  | CDCl <sub>3</sub> | 7,83 s            | NO <sub>2</sub>   | COOCH <sub>3</sub> | 8,39 s             | 7,8m              | 7,8m              | 7,9m             | 9,0m              | 3,9                | —                 | 6,40               |
| <b>8 b</b> | 60  | CDCl <sub>3</sub> | 7,26 <sup>3</sup> | 8,56 <sup>8</sup> | COOCH <sub>3</sub> | 8,22 s             | 7,78 <sup>3</sup> | 7,19 <sup>2</sup> | OCH <sub>3</sub> | 8,50 <sup>1</sup> | 3,98 <sup>+</sup>  | 4,0 <sup>+</sup>  | 6,21               |
| <b>8 d</b> | 60  | CDCl <sub>3</sub> | 7,86 s            | NO <sub>2</sub>   | COOCH <sub>3</sub> | 8,25 s             | 7,90 <sup>3</sup> | 7,35 <sup>2</sup> | OCH <sub>3</sub> | 8,53 <sup>1</sup> | 4,02 <sup>+</sup>  | 3,90 <sup>+</sup> | 6,42               |
| <b>9 b</b> | 60  | CDCl <sub>3</sub> | 7,25 <sup>3</sup> | 7,56 <sup>8</sup> | 8,44 s             | COOCH <sub>3</sub> | 9,0m              | 7,68m             | 9,0m             | 9,0m              | 4,02               | —                 | 6,30               |
| <b>9 d</b> | 60  | CDCl <sub>3</sub> | 7,75 s            | NO <sub>2</sub>   | 8,78 s             | COOCH <sub>3</sub> | 8,95m             | 7,53m             | 8,6m             | 8,6m              | 3,85               | —                 | 6,28               |
| <b>9 e</b> | 60  | CDCl <sub>3</sub> | 7,48 s            | Br                | 8,72 s             | COOCH <sub>3</sub> | 9,0m              | 7,63m             | 9,0m             | 9,0m              | 4,0                | —                 | 6,24               |

Tabelle 4. NMR-Spektren der Phenanthrene ( $\delta$ -Werte in ppm)

| Formel      | MHz | Lsgm.             | H-1               | H-2               | H-5   | H-6   | H-7   | H-8                | H-9    | H-10              | COOCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub>  | OCH <sub>3</sub>  |
|-------------|-----|-------------------|-------------------|-------------------|-------|-------|-------|--------------------|--------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
| <b>10 b</b> | 100 | CDCl <sub>3</sub> | 7,66 <sup>3</sup> | 7,28 <sup>3</sup> | 9,71m | 7,64m | 8,88m | COOCH <sub>3</sub> | 8,32 s | 3,90 <sup>+</sup> | 3,98 <sup>+</sup>  | 3,98 <sup>+</sup> | 3,98 <sup>+</sup> |
| <b>10 d</b> | 100 | CDCl <sub>3</sub> | NO <sub>2</sub>   | 7,95 s            | 9,67m | 7,7m  | 8,78m | COOCH <sub>3</sub> | 8,82 s | 3,93 <sup>+</sup> | 4,00 <sup>+</sup>  | 4,07 <sup>+</sup> | 4,07 <sup>+</sup> |

<sup>s</sup> Singlett; <sup>m</sup> Multiplett; CHCl<sub>3</sub> CDCl<sub>3</sub>; DM (CO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SO; <sup>+</sup> nicht eindeutig zuzuordnen; <sup>1</sup> Dublett ( $J = 2$  Hz); <sup>2</sup> dublett-tisches Dublett ( $J_1 = 9$  Hz;  $J_2 = 2$  Hz); <sup>3</sup> Dublett ( $J = 9$  Hz); <sup>4</sup> AB-System ( $J = 9$  Hz); <sup>5</sup> Triplet ( $J = 9$  Hz).

Die Leukozyten stammten von gesunden Spendern beiderlei Geschlechts. Sie wurden nach der Methode von *Hirschhorn* und *Weissmann*<sup>35</sup> aus venösem Blut in folgender Weise isoliert: Den Spendern wurden je 10 ml Venenblut entnommen, das durch Heparinzusatz ungerinnbar gemacht wurde. Nach 60 Min. Sedimentation der Erythrozyten bei 37 °C und einem Neigungswinkel der Röhrchen von 60° entnahmen wir das überstehende leukozytenreiche Plasma und zentrifugierten es 5 Min. bei 100 g. Das Sediment wurde in der halben Menge des ursprünglichen Volumens Parkermedium mit 10% Kalbserum aufgenommen, so daß eine Konzentration von mindestens 8000 Leukozyten/mm<sup>3</sup> resultierte.

Die auf die beschriebene Weise gewonnenen Leukozyten wurden nach der Phagozytosemethode von *Hirschhorn* und *Weissmann*<sup>35</sup> eingesetzt.

Im einzelnen gingen wir dabei folgendermaßen vor: auf je zwei Objektträger wurde jeweils 1 Tropfen Nitrosäureverdünnung bzw. bei den Kontrollen (K) 1 Tropfen Parkermedium mit einem Zusatz von 10% Kalbserum aufgebracht und hernach je 1 Tropfen Leukozytenkonzentrat zugesetzt.

Sämtliche Ausgangsmaterialien wurden vor Gebrauch auf 37 °C erwärmt. Nach 30min. Inkubation bei 37 °C in der feuchten Kammer spülten wir die Objektträger in vorgewärmtem Parkermedium mit 10% Kalbserum, wobei lediglich polymorphkernige Leukozyten und spärlich mononukleäre Elemente in Form eines hauchartigen, weißlich-grauen Fleckes haften blieben. Nunmehr erfolgte der Zusatz von 2 Tropfen des Serum—Keim-Gemisches und eine weitere Inkubation bei 37 °C durch 20 Min. Bei all diesen Manipulationen ist streng darauf zu achten, daß die Präparate nicht austrocknen, um das Überleben der Leukozyten zu gewährleisten. Nach Ende der Inkubation wurden die Präparate neuerlich in Parkermedium ohne Kalbserum gewaschen und unter Preßluft möglichst rasch und schonend getrocknet; gefärbt wurde nach *May—Grünwald—Giemsa*. Pro Objektträger wurden mindestens 500 Zellen ausgezählt und die Zahl der bakterienhaltigen Zellen in Prozent der Zahl der ausgezählten Leukozyten (Phagozytoserate) ermittelt.

Die Ergebnisse der ersten Versuchsserie sind in Tab. 5 wiedergegeben.

Aus den dargestellten Werten ist ersichtlich, daß die 3 Substanzen stets imstande waren, eine Phagozytosesteigerung *in vitro* zu induzieren. Die erhaltenen absoluten Werte der Phagozytoserate sind nur innerhalb eines Ansatzes vergleichbar. Bei 9 c, das in verschiedenen Konzentrationen eingesetzt wurde, ist eine gewisse Dosisabhängigkeit zu erkennen.

Die Ergebnisse der zweiten Versuchsreihe sind in Tab. 6 zusammengefaßt.

Aus theoretischen Überlegungen war ein statistischer Vergleich der Ergebnisse mittels eines nicht parametrischen Tests bei der Verwendung der Leukozytenpräparationen eines singulären Spenders nicht zulässig.

Tabelle 5. Phagozytoserate (Mittelwert + einfacher mittlerer Fehler aus durchschnittlich 1000 ausgezählten Zellen) von humanen Leukozyten, die mit Substanz **6 c**, **7 c** bzw. **9 c** in vitro vorbehandelt worden waren

| Leukozytenspender | Substanz   | Dosis (g/gtt) | Phagozytoserate |
|-------------------|------------|---------------|-----------------|
| Ro                | <i>K</i>   | —             | 14,5 ± 1,2      |
|                   | <b>9 c</b> | 0,1           | 30,1 ± 1,2      |
|                   | <b>9 c</b> | 1,0           | 43,8 ± 2,0      |
|                   | <b>9 c</b> | 5,0           | 51,8 ± 2,5      |
| De                | <i>K</i>   | —             | 33,6 ± 1,9      |
|                   | <b>9 c</b> | 0,1           | 45,4 ± 2,4      |
|                   | <b>9 c</b> | 1,0           | 46,4 ± 1,8      |
|                   | <b>9 c</b> | 5,0           | 50,1 ± 1,7      |
| Ro                | <i>K</i>   | —             | 39,0 ± 1,9      |
|                   | <b>9 c</b> | 1,0           | 54,2 ± 0,7      |
| We                | <i>K</i>   | —             | 6,5 ± 0,6       |
|                   | <b>9 c</b> | 1,0           | 11,6 ± 0,5      |
| Ro                | <i>K</i>   | —             | 39,5 ± 2,77     |
|                   | <b>6 c</b> | 1,0           | 71,0 ± 2,33     |
|                   | <b>7 c</b> | 1,0           | 57,8 ± 2,64     |
| We                | <i>K</i>   | —             | 22,5 ± 1,50     |
|                   | <b>6 c</b> | 1,0           | 48,6 ± 3,72     |
|                   | <b>7 c</b> | 1,0           | 44,7 ± 3,02     |
| Vi                | <i>K</i>   | —             | 2,0 ± 0,33      |
|                   | <b>6 c</b> | 1,0           | 5,9 ± 0,56      |
|                   | <b>7 c</b> | 1,0           | 4,6 ± 0,55      |
| Ro                | <i>K</i>   | —             | 3,9 ± 0,50      |
|                   | <b>6 c</b> | 1,0           | 11,9 ± 0,67     |
|                   | <b>7 c</b> | 1,0           | 6,8 ± 1,73      |

Tabelle 6. Phagozytoserate (Mittelwert + einfachen mittleren Fehler aus durchschnittlich 1000 ausgezählten Zellen) von humanen Leukozyten, die mit Substanz **6 c**, **7 c** und **9 c** in vitro vorbehandelt worden waren

| Leukozytenspender | Substanz   | Dosis (g/gtt) | Phagozytoserate |
|-------------------|------------|---------------|-----------------|
| Ro                | <i>K</i>   | —             | 3,9 ± 0,50      |
|                   | <b>6 c</b> | 1,0           | 11,9 ± 0,67     |
|                   | <b>7 c</b> | 1,0           | 6,8 ± 1,73      |
|                   | <b>9 c</b> | 1,0           | 7,9 ± 0,79      |

Trotzdem ist aber unserer Meinung nach die Phagozytosebeeinflussung durch Substanzen **6 c** eindeutig besser als die von **9 c** und **7 c**.

## Experimenteller Teil

Schmelzpunkte wurden am Heiztisch nach *Kofler* bestimmt und sind nicht korrigiert. Sublimationen wurden im Kugelrohr durchgeführt, es wird die Temperatur des Luftbades angegeben. Die Infrarotspektren wurden auf einem Perkin-Elmer Gerät, Typ 237, aufgenommen. Für die Aufnahme der Massenspektren sind wir Herrn Dr. G. Schaden, Darmstadt, für die 100-MHz-NMR-Spektren Herrn Dr. W. Kump, Basel, zu großem Dank verpflichtet. Die Analysen wurden von Herrn Bieler vom Organ.-chem. Institut der Universität Wien ausgeführt.

### 2-Methoxy-phenanthro[2,3-d][1,3]dioxol-5-carbonsäure (**1c**)

2-Nitro-4,5-methylendioxy- $\alpha$ -(4'-methoxyphenyl)-zimtsäure. 8,3 g 4-Methoxyphenylessigsäure (0,05 Mol), 9,5 g 6-Nitropiperonal (0,05 Mol) und 5,5 g Triäthylamin (0,055 Mol) wurden in 100 ml  $Ac_2O$  gelöst und 8 Stdn. auf 100 °C erwärmt. Anschließend wurden 200 ml Wasser unter Erwärmen zugegeben. Nach Zersetzung des  $Ac_2O$  wurde bis zur Trübung mit noch etwa 100 ml  $H_2O$  versetzt. Beim Abkühlen schied sich ein gelbes kristallines Pulver ab, das abgesaugt und aus Äthanol/Wasser umkristallisiert wurde; 9,6 g (60% d. Th.) ockerfarbige Kristalle, Schmp. 203—205 °C.

2-Amino-4,5-methylendioxy- $\alpha$ -(4'-methoxyphenyl)-zimtsäure. 9 g der oben erhaltenen Nitrosäure wurden in einer Mischung von 60 ml konz.  $NH_3$  und 120 ml  $H_2O$  gelöst und zu einer sied. Lösung von 65 g  $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$  in 200 ml  $H_2O$  zugegeben und 30 Min. unter Rühren zum Sieden erhitzt. Nach Zugabe von Celite wurde abgesaugt und der Niederschlag mehrmals mit warmem verd.  $NH_3$  gewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden mit verd. Essigsäure angesäuert und der hellgelbe Niederschlag abgesaugt; Ausb. 9 g (95% d. Th.), Schmp. (Äthanol) 208—210 °C.

Ringschluß zu **1c**. 3,1 g der obigen Aminosäure wurden in 80 ml mit HCl-Gas gesätt. Methanol aufgeschlämmt und durch Zugabe von 50 ml DMF in Lösung gebracht. Unter Rühren und Kühlen auf 0 °C wurde dann 1,46 g Amylnitrit langsam zugetropft. Die dunkle Diazoniumsalzlösung wurde noch 20 Min. bei 0 °C gerührt und dann 1 Spatelspitze Naturkupfer C zugegeben. Nach Nachlassen der lebhaften  $N_2$ -Entwicklung wurde kurz erwärmt, filtriert, mit DMF nachgewaschen, das Filtrat in viel Wasser eingegossen und das ausgefallene helle Pulver abgesaugt; aus DMF/Wasser 1,95 g **1c** (68% d. Th.), Schmp. 300—303 °C (Zers.).

### 2-Methoxy-phenanthro[2,3-d][1,3]dioxol-5-carbonsäuremethylester (**1d**)

300 mg **1c** wurden in 15 ml Methanol aufgeschlämmt und mit einem Überschuß äther.  $CH_2N_2$ -Lösung versetzt. Nach Beendigung der  $N_2$ -Entwicklung wurde mit Äther verdünnt und mehrmals mit  $NaHCO_3$ -Lösung gewaschen. Der nach Trocknen und Eindampfen erhaltene kristalline Rückstand wurde bei 220°/0,001 mm sublimiert, Schmp. 91—92 °C.

Analog wie **1c** und **1d** wurden auch die übrigen gen. Phenanthren-carbonsäuren bzw. deren Ester hergestellt.

### 5,7-Dinitro-phenanthro[2,3-d][1,3]dioxol (**3b**)

500 mg **1a** wurden in 25 ml heißem Eisessig gelöst und unter Rühren rasch mit Eiswasser abgekühlt, wobei die Säure feinkristallin ausfiel. Unter

Rühren und Kühlen wurden 15 ml  $\text{HNO}_3$  ( $d = 1,40$ ) zugegeben und die Suspension 30 Min. bei  $0^\circ$  und weitere 60 Min. bei  $20^\circ$  gerührt. Man beobachtete Gelbfärbung und eine schwache Gasentwicklung. Anschließend wurde auf Eiswasser gegossen, der Niederschlag abfiltriert und aus *DMF*/Eisessig umkristallisiert. 150 mg gelbe Kristalle (**3 b**), Schmp.  $303\text{--}307^\circ\text{C}$  (Zers.).

$\text{C}_{15}\text{H}_9\text{NO}_2$ . *MS* Ber. 312,0382, Gef. 312,0390, 312,0392.

Ber. N 8,97. Gef. N 8,79.

7-Nitro-phenanthro[2,3-*d*][1,3]dioxol-5-carbonsäuremethylester (**3 a**)

11-Nitro-phenanthro[2,3-*d*][1,3]dioxol-5-carbonsäuremethylester (**4 b**)

4-Nitro-phenanthro[2,3-*d*][1,3]dioxol-5-carbonsäuremethylester (**4 a**)

1 g **1 b** wurde in 30 ml heißem Eisessig gelöst und unter Rühren rasch mit Eiswasser abgekühlt; zu der (übersättigten) Lösung wurden 20 ml  $\text{HNO}_3$  ( $d = 1,40$ ) zugegeben, wobei rasch Gelbfärbung eintrat. Nach 1 Min. Rühren bei  $0^\circ$  wurde auf Eiswasser gegossen, der ausgefallene Niederschlag abgesaugt und bei  $100^\circ/12$  mm getrocknet. Er wurde in Benzol aufgenommen und auf einer Kieselgelsäule mit Benzol/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  chromatographiert. Es wurden drei gelbe Zonen aufgefangen, die durch mehrmalige präparative *DC* weiter gereinigt wurden (1 mm Kieselgel PF, Cyclohexan/Benzol = 1/1; 3mal entwickelt). Nach steigenden  $R_f$ -Werten geordnet, erhielt man **4 a**, **3 a** und **4 b** in Form gelber Kristalle. Sie wurden aus Äthanol/ $\text{CHCl}_3$  umkristallisiert.

**3 a**: Schmp.  $241\text{--}243^\circ\text{C}$ .

$\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{NO}_6$ . Ber. N 4,31. Gef. N 4,39.

**4 b**: Schmp.  $187\text{--}189^\circ\text{C}$ .

$\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{NO}_6$ . *MS* Ber. 325,0586, Gef. 325,0581, 325,0583.

Ber. N 4,31. Gef. N 4,28.

**4 a**: Schmp.  $201\text{--}204^\circ\text{C}$ . Ber. N 4,31. Gef. N 3,96.

2-Methoxy-1-nitro-phenanthro[2,3-*d*][1,3]dioxol-5-carbonsäuremethylester (**5 b**)

86 mg **1 d** wurden in 3 ml heißem Eisessig gelöst und durch rasches Abkühlen in feiner Verteilung ausgeschieden. Nach Zugabe von 2 ml  $\text{HNO}_3$  wurde 30 Min. bei  $20^\circ$  gerührt, wobei der Niederschlag sich langsam gelb verfärbte. Nach Eingießen in Eiswasser wurde er abfiltriert und aus Eisessig umkristallisiert; 75 mg hellgelbe Nadeln, Schmp.  $258\text{--}261^\circ\text{C}$ .

$\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{NO}_7$ . *MS* Ber. 355,0692, Gef. 355,0695, 355,0690.

Ber. N 3,95. Gef. N 4,32.

5-Nitro-phenanthro[2,3-*d*][1,3]dioxol-6-carbonsäure (**6 c**)

7,5 g **6 a** wurden in 400 ml Eisessig unter Rühren aufgekocht und auf  $0^\circ$  abgekühlt. Nach Zugabe von 300 ml  $\text{HNO}_3$  ( $d = 1,40$ ) wurde 2 Stdn. bei  $0^\circ$  und 2 Stdn. bei  $20^\circ$  gerührt. Der Niederschlag färbte sich langsam gelb. Anschließend wurde mit Wasser auf 1,5 l verdünnt, abgesaugt, mit Wasser gewaschen und bei  $100^\circ/12$  mm getrocknet (7,6 g). Nach Aufkochen in Eisessig, wobei die Nitrosäure in Lösung geht, während nicht umgesetztes Ausgangsprodukt ungelöst bleibt, wurde heiß abgesaugt. Aus der Mutterlauge fielen schöne, gelbe Kristalle (**6 c**), Schmp.  $246\text{--}248^\circ\text{C}$ , aus.

$\text{C}_{16}\text{H}_9\text{NO}_6$ . *MS* Ber. 311,0430, Gef. 311,0430, 311,0427.

Ber. N 4,50. Gef. N 4,31.

*5-Nitro-phenanthro[2,3-d][1,3]dioxol-6-carbonsäuremethylester (6d)*

Der Ester wird aus **6 c** und  $\text{CH}_2\text{N}_2$  erhalten, Schmp. 216—218 °C.

*5-Nitro-phenanthro[2,3-d][1,3]dioxol (2b)*

232 mg **6 c** und 235 mg Cu-Pulver wurden unter  $\text{N}_2$  in 15 ml frisch destill. Chinolin 1 Stde. unter Rückfluß gekocht. Nach Abkühlen wurde mit Äther verdünnt, filtriert, die Lösung 4mal mit  $\text{HCl}$  (1 : 1), 2mal mit 1*n*- $\text{NaOH}$  und mit gesätt.  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen und mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach Abdampfen des Äthers wurde der Rückstand im Kugelrohr sublimiert (140—160°/0,001 m). Nach Umkristallisieren aus  $\text{CHCl}_3$ /Petroläther erhielten wir 100 mg eines gelben Pulvers, Schmp. 182—183 °C.

$\text{C}_{15}\text{H}_9\text{NO}_4$ . Ber. N 5,25. Gef. N 5,04.

*5-Nitro-phenanthro[3,4-d]-1,3-dioxol-6-carbonsäure (7c)*

227 mg **7 a** wurden in 10 ml Eisessig durch Lösen und rasches Abkühlen fein suspendiert und mit 4 ml  $\text{HNO}_3$  5 Min. bei 0° und 30 Min. bei 20° gerührt. Nach Aufarbeitung und Umkristallisieren aus Eisessig erhielt man 192 mg schöne gelbe Nadeln, Schmp. 253—256 °C (Zers.).

$\text{C}_{16}\text{H}_9\text{NO}_6$ . Ber. N 4,50. Gef. N 4,34.

*5-Nitro-phenanthro[3,4-d]-1,3-dioxol-6-carbonsäuremethylester (7d)*

a) *Durch Nitrierung von 7 b.* 122 mg **7 b** wurden in 2,5 ml  $\text{Ac}_2\text{O}$  heiß gelöst und die Lösung auf 20° abgekühlt. Unter Kühlung wurden 0,28 ml eines Gemisches von  $\text{HNO}_3$  ( $d = 1,4$ )/ $\text{Ac}_2\text{O}$  (1 : 5, *v/v*) unter Rühren zugegeben (gelber Niederschlag). Nach 30 Min. bei Raumtemp. wurde auf Eiswasser gegossen, abgesaugt und aus  $\text{CHCl}_3$ /Äthanol umkristallisiert. Gelbes Pulver, Schmp. 192—194 °C.

$\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{NO}_6$ . Ber. N 4,32. Gef. N 4,12.

b) *Durch Veresterung von 7 c.* 73 mg **7 c** wurden wie bei **1 d** methyliert. Man erhält ein Produkt, das im Schmp., Mischschmp. und  $R_f$ -Wert mit dem nach a) erhaltenen Ester identisch ist.

*10-Methoxy-5-nitro-phenanthro[3,4-d]-1,3-dioxol-6-carbonsäuremethylester (8d)*

a) *Durch Nitrieren von 8 a und Veresterung.* 110 mg **8 a** wurden in 12 ml  $\text{Ac}_2\text{O}$  durch Lösen und Abkühlen auf — 5 °C fein suspendiert. Nach Zugabe von 0,32 ml  $\text{HNO}_3$ / $\text{Ac}_2\text{O}$  (1 : 9, *v/v*) wurde 10 Min. bei — 5° und 5 Min. bei Raumtemp. gerührt, in Eiswasser gegossen und (nach Zersetzen des  $\text{Ac}_2\text{O}$ ) abgesaugt und der Niederschlag bei 100°/12 mm getrocknet.

Das so erhaltene Rohprodukt wurde mit  $\text{CH}_2\text{N}_2$  methyliert. Im Dünnschichtchromatogramm (KG HF, Benzol) findet man neben verharzten Produkten, die am Start bleiben, eine gelbe Bande ( $R_f = 0,15$ ) und eine blau fluoreszierende Bande ( $R_f = 0,5$ ). Trennung mittels präparativer DC und Umkristallisieren aus Äthanol ergab aus der rascher laufenden Zone weiße Kristalle, Schmp. 162—164 °C, die mit einem durch Methylierung der Säure **8 a** erhaltenen Produkt (**8 b**) in Schmp. und  $R_f$ -Wert übereinstimmen.

Die gelbe Bande ergab nach Umkristallisieren aus Äthanol orange Kristalle, Schmp. 216—218 °C.



b) *Durch Nitrierung von 8 b.* 90 mg **8 b** wurden in 2 ml  $Ac_2O$  fein suspendiert und mit 0,24 ml  $HNO_3$  3 Stdn. bei Raumtemp. nitriert. Das nach Aufarbeitung erhaltene Estergemisch, das noch **8 b** enthielt, wurde wie oben durch präp. *DC* getrennt. Nach Umkristallisieren der gelben Zone aus Äthanol/ $CH_2Cl_2$  erhielten wir 59 mg orangefarbene Kristalle, Schmp. 219—220°, die mit dem nach a) erhaltenen Produkt keine Schmelzpunkt-Depression ergaben und den gleichen  $R_f$ -Wert besaßen.

$C_{18}H_{13}NO_7$ . Ber. N 3,93. Gef. N 3,69.

*5-Nitro-phenanthro[3,4-d]-1,3-dioxol-7-carbonsäure (9c)*

a) *Durch Nitrierung von 9 a.* 1,1 g **9 a** werden in 13 ml  $Ac_2O$  gelöst und unter Rühren rasch unterkühlt. Nach Zugabe von 2 ml  $HNO_3$  wird 10 Min. bei 20° gerührt; aus dem gelben Niederschlag erhält man nach Aufarbeitung und Umkristallisieren (*DMF*/Eisessig) 680 mg eines gelben Pulvers, das sich ab 310° zersetzt und bis 350° nicht durchschmilzt.

$C_{16}H_9NO_6$ . Ber. N 4,50. Gef. N 4,66.

b) *Durch Verseifung von 9 d.* 20 mg **9 d** wurden unter  $N_2$  mit 5 ml 5proz. methanol. KOH 15 Min. unter Rückfluß gekocht; die tiefrote Lösung wurde nach Verdünnen mit Wasser mehrmals mit Äther und  $CH_2Cl_2$  gewaschen, die alkal. Lösung angesäuert und die ausgefallenen Flocken aus Eisessig umkristallisiert. Gelbes Pulver, das sich ab 310° zersetzt und bis 350° nicht schmilzt.

*5-Nitro-phenanthro[3,4-d]-1,3-dioxol-7-carbonsäuremethylester (9d)*

a) *Durch Nitrierung von 9 b.* 100 mg **9 b** wurden in 1 ml  $Ac_2O$  fein suspendiert, und bei 0° C 0,2 ml eines Gemisches von  $HNO_3$  ( $d = 1,40$ )/ $Ac_2O$  (1 : 4, *v/v*) zugegeben. Nach 30 Min. bei 0° C und 30 Min. bei 20° wurde der gelbe Niederschlag aufgearbeitet; aus Eisessig gelbe Kristalle, Schmp. 224—226° C.

$C_{17}H_{11}NO_6$ . Ber. N 4,31. Gef. N 4,24.

b) *Durch Verestern von 9 c.* Je 15 mg der nach a) oder b) erhaltenen Säure **9 c** wurden wie bei **1 d** mit  $CH_2N_2$  methyliert. Die erhaltenen Ester waren nach Schmp., Mischschmp. und  $R_f$ -Wert untereinander und mit dem nach a) durch Nitrierung des Esters erhaltenen Produkt identisch.

*3,4-Dimethoxy-1-nitro-phenanthren-9-carbonsäure (10c)*

210 mg **10 a** wurden in 10 ml Eisessig fein suspendiert und bei + 5° C mit 4 ml  $HNO_3$  versetzt. Es wurde 30 Min. bei 20° gerührt und in Eiswasser gegossen. Der Niederschlag wurde (nach Trocknen) durch präparative *DC* (Kieselgel PF, 1 mm; Benzol/Äthanol/Eisessig 80:8:2) aufgetrennt. Es wanderte eine schmale gelbe Bande vor einer breiten braunen Bande, die bis zum Start reicht. Die gelbe Bande wurde eluiert, der eingedampfte Rückstand in 1*n*-KOH aufgenommen und nach Filtrieren mit 2*n*-HCl angesäuert. Nach Umkristallisieren aus Äthanol 16 mg gelbe Kristalle, Schmp. 293—299° C.

$C_{17}H_{13}NO_6$ . Ber. N 4,28. Gef. N 4,74.

*3,4-Dimethoxy-1-nitro-phenanthren-9-carbonsäuremethylester (10d)*

Der Methylester wurde aus **10 c** mit  $CH_2N_2$  (wie bei **1 d**) hergestellt.

# Literatur

- <sup>1</sup> *W. Pilarczyk*, *Planta Medica* **6**, 258 (1958), **7**, 73 (1959).
- <sup>2</sup> *J. Deufel* und *H. Gänsehirt*, *Pharmazie* **8**, 679 (1953).
- <sup>3</sup> *J. R. Möse* und *G. Lucas*, *Arzneimittelforsch.* **11**, 33 (1961).
- <sup>4</sup> *J. R. Möse*, *Planta Medica* **11**, 72 (1963).
- <sup>5</sup> *M. Pailer*, *L. Belohlav* und *E. Simonitsch*, *Mh. Chem.* **86**, 676 (1955).
- <sup>6</sup> *M. Pailer*, *L. Belohlav* und *E. Simonitsch*, *Mh. Chem.* **87**, 249 (1956).
- <sup>7</sup> *J. R. Möse*, *Langenbecks Archiv u. Dtsch. Zt. Chirurgie* **304**, 657 (1963).
- <sup>8</sup> *J. R. Möse*, *Arzneimittel-Forsch.* **16**, 118 (1966).
- <sup>9</sup> *M. Rotter*, *H. Denk* und *G. Wiedermann*, *Wien. Klin. Wschr.* **79**, 35 (1967).
- <sup>10</sup> *G. Wiedermann*, *H. Denk* und *M. Rotter*, *Z. Immunforsch.* **135**, 481 (1968).
- <sup>11</sup> *C. V. Henrikson*, *H. Pietschmann*, *M. Rotter* und *G. Wiedermann*, *Z. Immunforsch.* **140**, 429 (1970).
- <sup>12</sup> *H. Denk*, *M. Rotter* und *G. Wiedermann*, *Z. Immunforsch.* **131**, 317 (1966).
- <sup>13</sup> *W. Schunack*, *E. Mutschler* und *H. Rochelmeyer*, *Arzneimittel-Forsch.* **17**, 1215 (1967).
- <sup>14</sup> *J. R. Möse*, *W. Schunack*, *E. Mutschler* und *H. Rochelmeyer*, *Arzneimittel-Forsch.* **17**, 1218 (1967).
- <sup>15</sup> *K. Norpoth* und *H. D. Deppe*, *Z. Hyg. Infektionskrankh.* **151**, 55 (1963); *Chem. Abstr.* **63**, 17000e (1965).
- <sup>16</sup> *H. Siering* und *K. Abendroth*, *Tagungsber. Ges. Innere Medizin, DDR*, **1969**, 155.
- <sup>17</sup> *H. Mosh*, *Chirurgenkongreß, München* 1963.
- <sup>18</sup> *G. Orzechowsky*, *Med. Monatsschr.* **17**, 572 (1963).
- <sup>19</sup> *F. Jummel*, *Therap. Gegenw.* **1964**, 1020.
- <sup>20</sup> *D. Baetgen*, *Med. Mschr.* **20**, 474 (1966).
- <sup>21</sup> *O. Reiners*, *Med. heute* **14**, 165 (1965).
- <sup>22</sup> *G. Lukas*, *Sci. Pharm.* **32**, 158 (1964).
- <sup>23</sup> *M. Pailer* und *A. Schleppnik*, *Mh. Chem.* **88**, 307 (1957).
- <sup>24</sup> *M. Pailer* und *P. Bergthaller*, *Mh. Chem.* **97**, 484 (1966); **98**, 579 (1967).
- <sup>25</sup> *E. A. Ruveda*, *S. M. Albonico*, *H. A. Pristap*, *V. Deulofer*, *M. Pailer*, *E. Gössinger* und *P. Bergthaller*, *Mh. Chem.* **99**, 2349 (1968).
- <sup>26</sup> *E. Mosettig* und *A. Burger*, *J. Amer. Chem. Soc.* **52**, 2988 (1930).
- <sup>27</sup> *M. Pailer* und *A. Schleppnik*, *Mh. Chem.* **89**, 175 (1957).
- <sup>28</sup> *A. Schleppnik*, *Dissertation Univ. Wien*, 1958.
- <sup>29</sup> *M. Pailer*, *A. Schleppnik* und *A. Meller*, *Mh. Chem.* **89**, 211 (1958).
- <sup>30</sup> *R. Pschorr* und *C. Sumuleanu*, *Ber. dtsh. chem. Ges.* **33**, 1810 (1900).
- <sup>31</sup> *G. Zieritz*, *Dissertation Univ. Wien*, 1968.
- <sup>32</sup> *J. B. Ekeley* und *M. S. Klemme*, *J. Amer. Chem. Soc.* **50**, 2711 (1928).
- <sup>33</sup> *M. Pailer*, *P. Bergthaller* und *G. Schaden*, *Mh. Chem.* **96**, 863 (1965).
- <sup>34</sup> *J. Harley-Mason*, *T. P. Toubé* und *H. D. Williams*, *J. Chem. Soc. B* **1966**, 396.
- <sup>35</sup> *R. Hirschhorn* und *G. Weissmann*, *Proc. Soc. exper. Biol.* **119**, 36 (1965).